

Posudek školitele

Jakub Tomala vypracoval svou diplomovou práci na téma „BCL1 leukémie jako experimentální model *in vivo*“ v Laboratoři humorální imunity, která je součástí Sektoru imunologie a gnotobiologie Mikrobiologického ústavu AV ČR. Úkolem bylo objasnit některé otázky týkající se patologie BCL1 myší leukémie, výskytu nádorových buněk, schopnosti zvoleného nádorového modelu osazovat další lymfatické orgány a časové posloupnosti celého patologického procesu. Tyto otázky byly řešeny proto, že myší BCL1 leukémie je jeden z několika experimentálních modelů využívaných při testování účinnosti makromolekulárních terapeutik *in vitro* a *in vivo*. Diplomová práce využívala jak klasické, tak t.zv. hvězdicovité konjugáty, lišící se strukturou. Ve všech případech byla pro vazbu léčiva, doxorubicinu, zvolena kovalentní proteolyticky štěpitelná vazba. Testované vzorky byly buď nesměrované (PK1) nebo směrované dvěma různými monoklonálními protilátkami, a to IgG1 B1 monoklonální protilátkou proti idiotypu IgM myší BCL1 leukémie a IgG2a monoklonální protilátkou proti CD71 receptoru (receptor pro transferin). Práce se věnovala kinetice spontánního odbourávání idiotypu IgM BCL1 leukémie v periferní krvi a odbourávání po podání B1 protilátky. Cílem bylo nalézt časově optimální podávání směrovaného makromolekulárního terapeutika a zjistit možnosti terapie v pozdních fázích již generalizovaného onemocnění. V předchozích pokusech byla totiž RNDr. M. Kovářem, PhD. zaznamenána rychlá, pro řadu experimentálních zvířat fatální reakce, pokud jim byl podán konjugát směrovaný B1 monoklonální protilátkou. Možné vysvětlení bylo, že v periférii dochází k interakci směrovaného konjugátu s velkým množstvím idiotypického IgM, uvolněného z rozpadlých leukemických buněk. Proto byla v práci věnována pozornost možnosti použít v této fázi onemocnění kombinovanou léčbu dvěma konjugáty směrovanými dvěma různými monoklonálními protilátkami. Jako první intervence byl použit konjugát směrovaný anti-CD71 protilátkou, který měl odstranit značnou část leukemických buněk. Druhou intervencí byl konjugát směrovaný monoklonální protilátkou B1 proti IgM idiotypu Bcr leukemických buněk. Pokus byl náročný jak technicky, tak finančně a poskytl jen omezenou informaci. Tento přístup by bylo žádoucí dále testovat, ale vyžadovalo by to podrobnou analýzu jak kvantitativní tak i kvalitativní. V poslední části diplomové práce se Jakub Tomala věnoval vlivu germ-free prostředí na rozvoj nádorového onemocnění typu leukémie. Podobných pokusů je, vzhledem k dostupnosti modelu, velmi málo. Pokud vůbec existují, věnují se celkem logicky vlivu střevní mikroflóry na kolorektální karcinom. Diplomová práce si kladla za cíl zjistit, zda se určité vlivy nedají vystopovat i u leukemického modelu s ohledem na jiný vývoj Treg u konvenčních a germ-free zvířat. Technologicky relativně složité problémy se podařilo za expertní spolupráce s pracovníky na Novém Hrádku vyřešit. Výsledek jednoznačně ukázal výhodu germ-free prostředí s tím, že eliminace infekce, která leukémií trpící konvenční zvířata může oslabovat, ale není pravděpodobně jediným vysvětlením signifikantně delšího přežití germ-free zvířat.

Jakub Tomala vypracoval svou diplomovou práci samostatně, s velkým zaujetím pro věc. O své práci je schopen jasně a srozumitelně referovat, a to dokonce v anglickém jazyce jak prokázal na semináři, který organizovala University of Edinburgh a kterého se, jako člen laboratoře a host skotské univerzity, zúčastnil. Během vypracovávání diplomové práce si osvojil řadu technik, od prosté propagace nádorových linií *in vitro*, přes cytotoxické testy a

analýzu na FACS, ELISA techniku, přípravu a izolaci monoklonálních protilátek produkovaných zvoleným hybridomem a techniky *in vivo* včetně práce na bezmikrobním modelu BCL1 leukémie. Seznámil se s histologickými technikami. Předložená diplomová práce tvoří dobrý základ pro jeho případné další vzdělávání ve vědecké experimentální práci.

Doporučuji proto, aby diplomová práce Jakuba Tomaly byla přijata k oponentnímu řízení.

Praha 10. května 2006

Prof. RNDr. Blanka Říhová, Drsc.