

Posudek na bakalářskou práci	
<input checked="" type="checkbox"/> školitelský posudek <input type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Mgr. Ondřej Novák, PhD Datum: 17. 5. 2023
Autor: Paulína Žideková	
Název práce: Translation potential of current preclinical techniques for gene therapy of neurological diseases in clinic. A critical review	
<input checked="" type="checkbox"/> Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel). <input type="checkbox"/> Práce obsahuje navíc i vlastní výsledky.	
Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...) <p>Práce si klade za cíl identifikovat nejnovější metodiky používané v preklinickém výzkumu s ohledem na jejich přenositelnost do humánní medicíny. Pracovní hypotézou je pak tvrzení, že vývoj několika klíčových metodik byl v posledních letech veden k optimalizacím, které použití těchto metodik v klinické praxi již umožňují, nebo současnou praxi dalece posouvají kupředu. Tyto metodiky lze následně s vysokou mírou synergie kombinovat pro vytvoření cenově dostupné, bezpečné a především kauzální léčby. Speciální ohled je brán na neurologická onemocnění, tedy na onemocnění obecně spojená s dráždivými buňkami, které jsou navíc od cévního prostoru odděleny hematoencefalickou bariérou (HEB).</p>	
Struktura (členění) práce: <p>Práce je strukturována dle předepsaných požadavků. Krátká úvodní kapitola uvozující smysl práce a hlavních pět metod vhodných pozornosti má dvě strany. Následuje rešerše recentní literatury týkající se zmíněných technik, která tvoří samostatné kapitoly (kapitola 2-6). Rešerše je dlouhá 25 stran. Rešerši následuje dvoustránková kapitola s úvahou nad konkrétní aplikací. Text je ukončen dvoustránkovým závěrem a dlouhým přehledem použité literatury.</p>	
Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? <p>Literární zdroje jsou více než dostatečné. Citováno je 149 článků, z čehož je 141 článků originálních prací a 8 článků typu review. Na literaturu je v článku průběžně odkazováno a její přehled je pak zpracován standardním způsobem dle formátování Nature Publishing.</p>	
Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány? <p>Práce neobsahuje vlastní výsledky.</p>	
Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): <p>Práce je na vysoké formální úrovni. Je psaná čtivou angličtinou s minimem gramatických chyb. Text je logickým způsobem dělen do odstavců. Práce obsahuje celkem 18 menších obrázků, které obohacují text v popisu. Popisky obrázků pak odpovídají standardu používané v literatuře. Obrázky mají dostatečnou kvalitu a rozlišení. Obrázky byly buď převzaty a upraveny z literatury a vždy je zdroj citován, nebo byly vytvořeny v aplikaci Biorender, což je u obrázků dle požadavků licence zmíněno.</p> <p>Práce obsahuje cca 3-5 překlepů a dvě místa, kdy se v textu objevil text „Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.“, což patrně souvisí se selháním propojení s citační databází při konverzi do pdf.</p>	

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Práce si klade poměrně originální cíl. Kriticky roztrdit moderní molekulárně biologické metodiky na ty, které lze skutečně použít v klinické praxi. Jako vědecká obec používáme spoustu metod použitelných v myších a potkanech, kteří mají zcela odlišnou imunitu od lidí, nespecifická genetická modifikace zvířete (například v onkogenu) vedoucí k jeho smrti je akceptovatelná součást preklinického protokolu a tak dále. Nežrídka mocností recentních molekulárních metod, typu optogenetiky, chemogenetiky, CRISPR/Cas, udivujeme publikum na popularizačních přednáškách, což často vede k (planým) nadějím, že se účinná léčba toho či onoho onemocnění začne praktikovat ihned v následujících dnech. Tato práce měla za cíl kriticky odlišit metody, které jsou odkázány být (velmi dobrým) preklinickým výzkumným prostředkem, a metody, které jsou kompatibilní s humánní medicínou.

Autorka se zabývá tématem, jak případný genetický defekt identifikovat a jaké jsou možnosti pro tvorbu nástroje k jeho opravě/kompenzaci. Zde je zmíněna otázka vektoru, kde je uvažován především rekombinantní adeno-asociovaný virus. U něj je rozebrán postupný výzkum, který o dva řády zvýšil efektivitu transportu přes HEB a tím snížil nezbytný titr, což znamená nejen nižší imunogenicitu ale také cenu. Stran omezené kapacity adenoasociovaných vektorů (cca 4,7 kbs) jsou diskutovány obecně komplikované a dlouhé savčí promotory. Následně jsou diskutovány přirozeně se vyskytující promotory s určitou selektivitou k typu buněk, nebo krácené formy nativních promotorů. U nástrojů pro kompenzaci genetické příčiny s využitím efektorů ovládaných světlem nebo ligandem (optogenetika/chemogenetika) je kriticky nahlíženo na imunogenicitu způsobenou přítomností cizího epitopu na vnějších membránách buněk. Z praktického hlediska je následně zhodnocen možný způsob doručení, selektivita a nezbytné množství stimulačního faktoru (světlo/ligand).

V práci mi trošku vadí předposlední a poslední kapitola. Kdy v předposlední kapitole je uvedena konkrétní aplikace závěrů z předcházejících kapitol jen na jednom konkrétním příkladu epilepsie. Podobný příklad postupu pro spinální muskulární atrofii je ještě uveden v závěrečné kapitole (z logiky by plynulo být v předposlední) namísto toho, aby byla již čistým shrnutím a obsahovala spíše závěry a diskusi předmětu do budoucna.

Práci ale celkově hodnotím výborně. Autorka se naučila psát vědecký text se správnou strukturou, kriticky hodnotit zdroje, pracovat s citačním software, třídit relevantní informace.

Otázky a připomínky oponenta:

Otázka1: Byly některé z hodnocených variant metod již použity v klinice/klinických testech? Pakliže byla použita metoda starší a eventuálně metoda novější pro danou indikaci, promítla se novější metoda do lepšího výsledku?

Otázka2: Dokázala byste odhadnout/diskutovat, kdy by mohly být některé pokročilejší verze metod, které byly nedávno vyvinuty, zavedeny do klinických testů? Například nahrazení vektoru AAV9 v léku *Zolgensma* novější variantou virové kapsidy?

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta: