

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **Bc. Michal Plodík**

Název práce:

STUDIUM ÚČINKŮ BLINATUMOMABU A INHIBITORŮ TYROZINOVÝCH
KINÁZ NA ADHEZNÍ SIGNALIZACI BUNĚK AKUTNÍ B-LYMFYOBLASTICKÉ
LEUKÉMIE

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah DP a její členění	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
<input type="checkbox"/>	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
<input type="checkbox"/>	N – nedostatečné

2. Odborná správnost	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - výborná, bez závažnějších připomínek
<input type="checkbox"/>	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivá, s čtenějšími drobnými závadami
<input type="checkbox"/>	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
<input type="checkbox"/>	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
<input type="checkbox"/>	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
<input type="checkbox"/>	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
<input type="checkbox"/>	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
<input type="checkbox"/>	C - upokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
<input type="checkbox"/>	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
x	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo čtenějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Ad 1.

Předkládaná diplomová práce je v adekvátním rozsahu, členění je klasické a obsahuje části teoretickou, metodickou, výsledkovou a nakonec diskusi.

Ad 2.

Předkládaná diplomová práce se zabývá vlivem blinatumomabu a inhibitorů tyrosinových kináz (TKI) na buňky odvozené od akutní B-lymfoblastické leukémie.

Již podle teoretického úvodu je zřejmé, že předkladatel práce ovládá danou problematiku týkající se leukémií, jejich léčby a metabolických drah zapojených do vývoje a průběhu onemocnění. Dále si osvojil různé metodiky potřebné k pěstování buněk, jejich zpracování a plánovaným analýzám.

V současné době léčba leukémií pokročila, přesto je stále komplikovaná a její průběh se musí přizpůsobit typu onemocnění, přítomnosti různých aberací a odpovědi na léčbu. Jak je v práci uvedeno, některé kombinace léků by při léčbě B-ALL mohly být potenciálně účinnější, ale je nutné zjistit způsob jejich účinku na leukemickou buňku. Je potřeba ověřit, které dráhy v buňce jsou zasaženy, aby bylo možné leukemické buňky lépe zacílit.

Práce se zaměřuje na efekt výše zmíněných léčiv na růst a viabilitu buněk a na kinázy zapojené v adhezi buněk, konkrétně na kinázy rodiny Src a Erk a Akt, na jejich fosforylaci. Experimenty byly prováděny na třech různých buněčných liniích odvozených od B-ALL (včetně buněčné linie RAJI, která představuje agresivní formu B-ALL).

Zatímco se ukázalo, že sledované agens výrazně neovlivnily růst ani viabilitu leukemických buněk, v některých případech měly vliv na fosforylaci testovaných proteinů. Největší změny ve fosforylaci proteinů vyvolal dasatinib, podobně i snížil cytotoxicitu T-lymfocytů v přítomnosti blinatumomabu.

Cíle práce byly splněny, na základě jejích výsledků vyplynulo několik dalších problémů, které je potřeba prozkoumat a ve kterých bude možné pokračovat.

Práce přispěje k lepšímu pochopení působení léků na leukemickou buňku, a tím i k možnosti lépe leukemickou buňku zacílit.

Ad 3.

Veškeré převzaté údaje jsou řádně citovány, ve správném formátu.

Ad 4.

Podobně jazyk je výborný, práce je napsána odborným jazykem bez překlepů a gramatických chyb.

Ad 5.

Také grafická úroveň práce je zdařilá, formátování je ve většině případů shodné. Jedinou připomínkou je možné sjednocení znázornění grafu v obrázku 14 s předchozími obrázky.

Podobně u ukázkových obrázků je přehlednější vybrat příklady znázorňující změny v rámci jedné linie.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

- 1) V experimentech jste využili Ph⁻ buněčné linie, proč jste nepoužili Ph⁺ linii jako „kontrolu“, příp. plánujete provést experimenty i na Ph⁺ buněčné linii?
- 2) Grafy na obrázcích č. 13 – 15 ukazují změny ve viabilitě buněk po působení inhibitorů až po dobu 72 h. Je překvapivé, že trend je stoupající. Čím si to vysvětlujete?
- 3) Efekt blinatumomabu a TKI na růst buněk nemá výrazný vliv. Růstové křivky bez a s inhibitorem jsou víceméně stejné. Zvažovali jste snížení množství FBS, pro možný hlubší efekt inhibitorů? Případně testovali jste jinou koncentraci buněk?
- 4) Jedny z kináz zapojených do důležitých signálních drah jsou kinázy rodiny Src, na které se zaměřujete. Z jakého důvodu jste použili imatinib, který se za inhibitor kináz této rodiny nepovažuje?
- 5) Při testování cytotoxicity T-buněk v přítomnosti blinatumomabu, příp. jeho kombinace s TKI, bylo pozorováno výrazné snížení cytotoxicity T-lymfocytů pouze v přítomnosti blinatumomabu s dasatinibem. Čím by to mohlo být způsobeno, když v klinických studiích mají kombinace s dasatinibem nebo ponatinibem podobný efekt?
- 6) Zmiňujete rozdílné výsledky při testování kombinace TKI a blinatumomabu *in vitro* vs *in vivo*, čím by to mohlo být zapříčiněno?
- 7) V čem by mohlo být úskalí léčby blinatumomabem, do jaké míry jeho vazba na CD3 a CD19 ohrozí i jiné buňky a v důsledku toho i pacienta?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** / **NENÍ** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / NE

Navrhovaná celková klasifikace (výborně, velmi dobře, dobře, neprospěl)

Výborně

Datum vypracování posudku: **2.9.2024**

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS):

RNDr. Markéta Žáčková, PhD.