

Oponentský posudek doktorské disertační práce MUDr. Alexandra Kuery:

### **Ovlivnění růstu tumoru na experimentálním zvířecím modelu**

Doktorská disertační práce MUDr. Alexandra Kuery byla vypracována na pracovištích 2. lékařské fakulty University Karlovy v Praze a je zaměřena na fascinující možnosti využití imunoterapie při nádorových onemocněních, konkrétně aplikace dendritických buněk jak pro preventivní, tak i pro terapeutické účely. Doktor Alexandr Kuera si ve své práci stanovil tři hlavní, na sebe navazující cíle, které se týkaly se těchto témat:

1. Zavedení dvou různých typů indukce nádorového bujení u modelových organismů, v tomto případě laboratorních potkanů.
2. Vypracování metodiky pro přípravu a maturaci dendritických buněk
3. Sledování vlivu aplikace těchto buněk na ochranu před vznikem nádoru a na růst nádoru již existujícího.

Disertační práce sleduje klasické členění: Literární přehled, Materiál a metody, Výsledky a konečně Diskuse. Po formální stránce je práce celkem dobře vypravena, obsahuje minimum překlepů (např. *studie s imundeficitními myši* na str. 39) a několik prohešek proti českému pravopisu, zejména v oblasti shody podmětů s přísudkem. Do českého textu se také vloudilo pár anglických slov (např. *and* a *for* na str. 26).

Literární přehled seznamuje čtenáře s teoretickým základem zkoumané problematiky, podle mého názoru je však napsán trochu nevyváženě. Domnívám se, že v práci tohoto typu není nutné zmiňovat dojmy a povod slova vakcinace, ale na druhé straně by neškodilo zmínit se trochu podrobněji o molekulárně biologických základech imunity. Literární přehled v nich kterých pasážích působí zkratkovitým dojmem, což má za následek sníženou srozumitelnost textu a pro čtenáře, ne zcela dříve seznámeného s problematikou, je poněkud obtížně sledovatelný. Myslím, že například krátké zmínky o úloze rekombinací aktivujících genů (RAG), o tom co jsou to perforiny a jak ničí cílové buňky, i co je to asialo GM1 a protilátky proti němu selektivně eliminují NK buňky, by srozumitelností úvodní části prospěla. V literární přehledu jsem také našel některé nesrovnalosti týkající se citací. Některá tvrzení nejsou podepřena citacemi, například hypotéza o protinádorovém imunitním dohledu (str. 11), i na stejné straně zmiňovaná „ada experimentálních i klinických s tudíí pokoušejících se vyvolat imunitní reakci proti nádorům...“. A právě tyto studie mi připadají v kontextu předkládané práce zásadní. Také na straně 23 se píše o předchozích studiích na dendritických buňkách, které jsou pravděpodobně klíčové, ale nejsou uvedeny. Není také

jasný p vod obrázk dendritických bun k (Obr. 1 a 2), ten druhý je nápadn podobný fotografii ze t etí autorovy publikace, potvrzeno to ale není.

ást Materiál a metody stru n popisují metodickou stránku p edkládané práce. Nebylo mi však jasných n kolik v cí. Pro byly použity dva r zné kmeny laboratorních potkan , Wistar pro indukci tumoru pomocí kancerogenních látek a Lewis pro experimenty se sarkomovou linií? Co znamená koncentrace Phenobarbitalu 500 ppm/rat (potkan) a jak byly koncentrace obou kancerogenních látek ur eny? Pokud na základ p edchozích studií, pak schází citace. V odstavci týkajícího se sarkomové linie imortalizovaných fibroblast nerozumím údaj (5 000 000 j/ml).

Výsledky jsou p ehledn shrnuty, formální výhrady mám však k velikosti a z etelnosti v tšiny obrázk . Nap íklad podle obrázku 5A se dá opravdu jen velmi obtížn sledovat morfologie nezralých dendritických bun k. V otišt né velikosti není jednoduché (alespo pro m ) rozlišit symboly jednotlivých závislostí. Také k této ásti práce mám n kolik dotaz . Na obr.7 je uvedena skupina PBS, kterou jsem však v textu nenalezl. Podle obrázku 7B mi p ípadá, že zpomalení r stu nádoru u skupiny zralé DC+K2 p etrvává až do konce experimentu, lze jen litovat nepatrné velikosti grafu. A pokud se experimentální skupiny skládaly z 5 zví at, pro nebyly stanoveny sm rodatné odchylky? O n jakém hodnocení by mohla sv d it hv zdi ka u skupiny DC+K2, jaký je její význam?

V diskusi autor shrnuje získané výsledky a dává je do kontextu s již známými fakty o nádorové imunit a možných perspektivách imunoterapie p i nádorových onemocn ních . Na základ svých výsledk usuzuje na možnosti imunoterapie u r zných typ nádor a v r zných fázích nádorového onemocn ní. I v této kapitole postrádám citace k n kterým tvrzením, nap . prací, které zpochyb ují ú inek protinádorové vakcínace.

Na záv r bych se rád zeptal na dv v ci širšího významu.

Jak si autor vysv tluje sv j neúsp ch p i indukci tumoru pomocí kancerogenních látek? Podle jeho tvrzení, že ostatní badatelé dosahují úsp šnosti 80%, soudím, že existuje pro tuto indukci zavedený, i alespo popsáný laboratorní protokol .

Zajímal by m fenomén imunogenní bun né smrti, liší se n jak výrazn od apoptózy i nekrózy? Syntéza protein teplovního šoku a jejich transport z endoplasmatického retikula totiž doprovází celou adu extra- i intracelulárních d j .

Zaujala m zmínka o produkci NO n kterými nádory a jím spoušt ná apoptóza dendritických bun k, je známo n co bližšího o tomto procesu?

Pes uvedené výhrady i kritické komentáře se domnívám, že předkládaná disertační práce představuje výsledek usilovné experimentální činnosti v atraktivním a slibném směru klinicky zaměřeného výzkumu, završené souborem povodních nálezů. Výsledky v práci uvedené prokazují, že autor přinesl svůj vlastní dílek objasnění komplikovaného procesu protinádorové imunity a k možnostem imunoterapie i komplexní a kombinované léčby nádorových onemocnění.

Podle mého názoru MUDr. Alexandr Kuera prokázal schopnost samostatně vdecky pracovat a výsledky svojí práce odpovídajícím způsobem formulovat. Doporučuji proto, aby na základě předkládané disertační práce byla MUDr. Alexandru Kuerovi udělena vdecká hodnost Ph.D.

V Praze, dne 10. 8. 2010

Doc. RNDr. Martin Kalous, CSc.