

Oponentský posudek k bakalářské práci

Jméno posuzovatele: Mgr. Oldřich Zahradníček, PhD.

Autorka bakalářské práce: Natálie Bublová

Název práce: Studium účinku terapeutických radionuklidů v terapii onkologických onemocnění.

Předložená bakalářská práce je literární rešerší, která obsahuje i vlastní výsledky.

Cíle práce:

Cílem bakalářské práce bylo sepsat literární rešerší na téma radionuklidy v nukleární medicíně s akcentem na cílenou alfa částicovou terapii, beta terapii a terapii Augerovými elektrony. Cílem praktické části bakalářské práce bylo ověřit potenciální terapeutický účinek ^{161}Tb , a porovnat ho s účinkem ^{177}Lu na modelu nádorové buněčné linie U251.

Členění práce:

Práce je vhodně členěna na kapitoly a podkapitoly a doplněna o seznam použitých zkratk. V úvodní kapitole autorka shrnuje incidenci nádorových onemocnění a mortalitu způsobenou nádorovými onemocněním v ČR i ve světě, a zároveň zde zmiňuje cíl bakalářské práce porovnat účinky radionuklidů ^{161}Tb a ^{177}Lu na buňkách U251. V kapitole 2 Teoretická část autorka popisuje a rozděluje principy diagnostiky a terapie v nukleární medicíně. Zde se v podkapitole Terapie detailněji zabývá cílenou alfa částicovou terapií, beta terapií a terapií Augerovskými zářiči. V podkapitolách Lutecium-177 a Terbium-161 se pak detailně věnuje těmto radionuklidům, jejich účinnosti na biologické systémy a použití v nádorové terapii. V podkapitole o buněčné smrti se autorka zabývá klasifikací a biologickými principy buněčné smrti, která je základním cílem v radioterapii. Zde také autorka rozebírá biologické účinky záření. V poslední podkapitole teoretické části se autorka zabývá glioblastomy, tedy nejčastějšími a nejagresivnějšími mozkovými nádory, jejich incidencí a léčbou. Následující kapitoly se týkají vlastní experimentální práce a zahrnují popis použité metodiky a materiálu, výsledky a diskuzi. V závěru pak autorka intelektuálně zhodnotila výsledky svých experimentů a nastínila kudy by se v budoucnu mohly ubírat její pokusy s ^{161}Tb a ^{177}Lu . Poslední kapitolu bakalářské práce pak tvoří přehledný seznam literatury.

Literární zdroje:

Autorka použila 75 literárních zdrojů včetně nejnovějších z roku 2022, a prokázala svou schopnost pracovat s anglickou literaturou. Literární zdroje jsou citovány v textu jednotně a v seznamu literatury jsou uvedeny ve stejném formátu. V rešerši autorka použila relevantní údaje z uvedených literárních zdrojů.

Formální úroveň práce:

Formální úroveň práce až na výše zmíněnou diskuzi je velmi dobrá. Jazyková úroveň práce a kvalita textu je na vysoké úrovni. Obrazová dokumentace a grafy vhodně doplňují výsledky.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Vytyčené cíle bakalářské práce byly splněny, a celkově i přes níže uvedené výtky hodnotím tuto práci jako kvalitní.

Připomínky:

Co se týče rešerše, tak bych očekával v kapitole o buněčné smrti, která je základním cílem

v radioterapii, větší množství citované primární literatury. Zde v podkapitole 2.4.1 Biologické účinky záření autorka cituje pouze tři literární zdroje, a to knihy. Citace z primárních zdrojů chybí zcela.

Na straně 11 v podkapitole Nukleární medicína použila autorka zkratky IP, PET, SPECT, CT, MRI bez předchozího vysvětlení v textu.

Na straně 17. v podkapitole Diagnostika autorka píše: Dalším příkladem je preklinické ověření toxických účinků apoptických buněk, ke kterému je používáno radiofarmakum ^{99m}Tc -Annexin. Apoptotické buňky nemají toxické účinky. Autorka tím myslela toxické účinky zmíněného radiofarmaka a jejich schopnost spustit apoptózu.

Na straně 38 v podkapitole Materiál a metody autorka píše, že sledovala lidský maligní multiformní glioblastom (buněčná kultura s označením U251). Toto tvrzení je zavádějící, autorka sledovala pouze buňky izolované z glioblastomu, které jsou komerčně dostupné pod názvem U251.

Na straně 39 autorka zmiňuje, že použila 25ml kultivační lahvičky. Nejednalo se o lahvičky s objemem 25ml, ale o lahvičky s kultivační plochou 25cm^2 .

Na stejné straně autorka píše, že vzorky byly ozářeny ^{60}Co , kdy dávková rychlost byla $31,25\text{ mGy/s}$. Nejedná se o dávkovou rychlost, ale dávkový příkon.

Dále na této stránce autorka píše, že buňky byly opláchnuty 5 ml $10\times$ zředěného fosfátového pufru $10\times$ Phosphate Buffered Saline (PBS). Toto je zbytečně komplikovaná věta, stačí napsat $1\times$ PBS.

V metodice na téže straně autorka také píše, že před počítáním buněk na cytometru buňky homogenizovala. Homogenizace, při které dojde k narušení buněčných membrán a vylití obsahu buněk do roztoku, je v tomto případě nechtěný proces, který se používá například při kvantifikaci množství určitého proteinu. Předpokládám, že autorka měla na mysli vytvoření buněčné suspenze s rovnoměrně rozptýlenými jednotlivými buňkami v roztoku.

Vlastní výsledky autorky plně odpovídají úrovni bakalářské práce. Výsledky autorka řádně interpretovala. Zde však musím ale podotknout, že došlo k zásadnímu pochybení v diskuzi výsledků, neboť je autorka nekonfrontovala s literárními zdroji.

Otázky oponenta:

1. Jako jedny z vhodných zářičů pro Augerovskou terapii jsou považovány $^{197\text{m}}\text{Hg}$ a ^{197}Hg . Jak moc jsou tyto radioizotopy rtuti toxické?
2. Poškození mitochondrií buněk bývá častým spouštěčem programované buněčné smrti. Mitochondrie jsou blíže k povrchu buňky než buněčné jádro, tedy blíže k zde použitým radioizotopům v médiu. Ví se něco o významu spouštění buněčné smrti skrze poškození mitochondrie vlivem záření z těchto radioizotopů?
3. V metodice píšete, že vzorky buněk byly ozářeny ^{60}Co , kdy dávkový příkon byl $31,25\text{ mGy/s}$. Ozařovala jste buňky v rámci jednoho dne, nebo v rámci delšího časového úseku? Je dávkový příkon u ^{60}Co v čase neměnný?
4. Na straně 41 píšete, že po vytvoření monovrstvy buněčné kultury U251 na dně kultivační lahve, byl přímo do kultivační lahve napipetován roztok s ^{161}Tb , a že buňky byly ozařovány 24 h. Jak moc bylo dno kultivačních lahví porostlé buňkami v době aplikace ^{161}Tb , a jak moc po ukončení ozařování? Mohlo toto nějakým způsobem ovlivnit výsledky experimentu?
5. Jak si vysvětlujete, že jste zejména u experimentu 1 s ^{161}Tb u dávek až do 600 kBq/ml dostala výsledky přežití buněk vysoko nad 100% ?
6. Prováděla jste experimenty s ^{177}Lu zároveň s ^{161}Tb zároveň v rámci jednoho experimentu?

7. Jaký byl důvod toho, že jste neporovnávala iontovou formu ^{161}Tb s iontovou formou ^{177}Lu ?

Návrh hodnocení:

V případě kvalitní ústní prezentace bakalářské práce a zodpovězení otázek hodnotím tuto práci kvalifikačním stupněm A.

V Praze dne 25.8. 2022

Podpis oponenta