



## Oponentský posudek magisterské diplomové práce

**Autorka:** Bc. Andrea Frejlichová

**Název:** Imunoterapie pankreatického adenokarcinómu a jeho metastáz

**Vedoucí práce:** RNDr. Jan Ženka, CSc.

**Oponentský posudek vypracovala:** Mgr. Jaroslava Lieskovská PhD.,

Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Předložená diplomová práce se zabývá imunoterapii pankreatického adenokarcinomu pomocí terapeutické směsi MBTA, která využívá synergii TLR agonistů s ligandy stimulujícími fagocytózu v aktivaci imunitního systému a byla již úspěšně optimalizována na melanomu B16. Jako model byla použita buněčná linie PancO2. Úlohou autorky bylo testovat účinnost MBTA terapie v kombinaci s různými přísadkami. Výrazného zlepšení bylo dosaženo kombinací MBTA terapie s inhibítorem glutamátového metabolismu (DON). Kromě toho bylo předmětem zájmu i stanovení infiltrace imunitních buněk do sekundárního nádoru a testování kombinované terapie. Celkově práce zapadá do dlouhodobého výzkumného záměru Dr. Ženky orientovaného na imunoterapii nádorů.

Předložená práce má rozsah 88 stran a dle zvyklostí je členěná na literární úvod, cíle, práce, materiál a metody, výsledky, diskuzi, závěr a seznam literatury. Rozsah a vzájemný poměr jednotlivých částí je přiměřený a logická struktura práce vyhovující.

Literární úvod čítá 17 stran. Autorka nás v první části uvádí do problematiky nádorového onemocnění s detailnějším zaměřením na pankreatické nádory. Úloha vrozené a adaptivní části imunity, jako i mechanismy úniku nádorových buněk před imunitním dozorem, je výstižně a jasně zpracována v další kapitole. Následuje kapitola popisující jednotlivé složky MBTA terapie, předpokládaný mechanismus působení a popis látek, nebo složek, kterými byla MBTA terapie obohacena. Tato část je výborně zpracovaná, po formální a obsahové stránce se podařilo autorce čtivou formou shrnout důležitá fakta, nezbytná k pochopení následujících kapitol.

Cílů je hodně a jsou jasně formulovány.

Kapitola Materiál a metody je sepsána na 17 stranách. Autorka celkem provedla 10 rozsáhlých experimentů. Každý experiment je srozumitelně popsán a odůvodněn. Text je doplněn tabulkami s informacemi o jednotlivých testovacích skupinách myší. I když se metodicky experimenty moc neliší, způsob prezentace každého jednotlivého experimentu je správně zvolen. Velice zdařilé je grafické znázornění pokusu, ze kterého lze vyčíst čím, kam a kdy byla terapeutická směs aplikována.



Kapitola výsledků je logicky členěná dle cílů a odpovídajících pokusů, které byly provedeny. Celkem je obsažena na 18 stranách a doplněna 17 obrázky. Popisky k obrázkům jsou přehledné a výstižné. Opět musím vyzdvihnout, že prezentace výsledků je velice profesionální, hezká grafická úprava, barevné rozlišení jednotlivých testovaných skupin usnadňují orientaci a samozřejmě nechybí statistické vyhodnocení dat. Co se týče objemu výsledků, je tato práce rovněž nadstandardní. Úspěšnost terapie byla vyhodnocována na základě velikosti nádoru a doby přežití. Poslední experiment se liší od předchozích o doplnění analýzy infiltrace sekundárního nádoru imunitními buňkami. Tady bych uvítala i příklad tzv. surových dat, např. dotplotů, ze kterých byly procenta stanovovány. Nicméně, jejich absence nijak nesnižuje kvalitu této obsáhlé práce.

Diskuse čítá 4 strany. Autorka zdůvodňuje, proč byly experimenty prováděny a vhodně komentuje výsledky, či už pozitivní nebo negativní. Své výsledky diskutuje s podobně zaměřenými pracemi z laboratoře s Panc02, co oceňuji, protože tím je možné nahlížet na problematiku komplexněji. V diskusi naopak postrádám srovnání výsledků s podobně zaměřenými pracemi s melanomem B16, hlavně výsledky posledního experimentu týkajícího se infiltrace imunitních buněk. Vcelku je ovšem i tato část práce vydařená.

Závěrečná část shrnuje získaná data a více méně chronologicky odpovídá na stanovené cíle.

Seznam literatury je psán jednotným stylem na 12 stranách.

### Otázky:

1. Jaký je rozdíl mezi skupinou C a D v 7. experimentu v tabulce VII?
2. V 9. experimentu jste kombinovala MBTA terapii s DON inhibitorem a vakcinací. Vakcinace nádorovými buňkami mě zaujala. Je tento přístup aplikován v humánní medicíně? Když ano, uveďte příklad.
3. V posledním experimentu jste vyhodnocovala infiltraci imunitních buněk do sekundárního tumoru. Víte jaká je infiltrace buněk do primárního tumoru, který na léčbu MBTA reagoval zjevně líp? Pokud ano, srovnajte prosím.
4. Imunitní reakce vůči patogenu je do značné míry daná místem, kde se patogen vyskytuje. Jak je to s protinádorovou imunitou, může se lišit v závislosti od místa vzniku nádoru, případně místa metastáz?
5. Pokud si dobře vzpomínám, melanom B16 vytváří metastázy v plicích. Jak je to s pankreatickým adenokarcinomem?
6. Na str. 63 uvádíte, že existují nějaké rozdíly mezi účinkem inhibitoru glutaminového metabolismu DON na nádorové a imunitní buňky. Jaké jsou to rozdíly?
7. Z posledního experimentu se zdá, že přidání DON inhibitoru k MBTA nevedla ke změně počtu infiltrujících imunitních buněk do sekundárního nádoru v porovnání se samotnou MBTA terapií. Na druhou stranu, výrazně ovlivnila jeho objem. Jak si to vysvětlujete? Pomohla by detailnější charakterizace infiltrujících buněk?



8. Cílem MBTA terapie je vyvolat akutní zánět, který je doprovázen produkcí IL-1, IL-6 a TNF. Zároveň nechcete vyvolat cytokinovou bouři. V diskusi na str. 57 naznačujete váš záměr v rámci terapie ovlivnit IL-6. V jakém směru? Mate již konkrétní plány?

Závěrem konstatuji, že autorka předložila velmi kvalitní diplomovou práci, která je po formální aj obsahové stránce na vysoké úrovni. Profesionální prezentace výsledků dobrý dojem z předložené práce ještě víc umocňuje. Autorka nejen zvládla velké množství experimentální práce, ale prokázala i schopnost kriticky vyhodnocovat své výsledky a pracovat s literaturou, co se ukázalo hlavně v literárním úvodu. Práce splňuje všechny předpoklady kladené na magisterskou diplomovou práci na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity, a proto ji bez nejmenších pochybností doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 26. 6. 2020.

Mgr. Jaroslava Liesková, Ph.D.

.....  
podpis