



Children's National®

111 Michigan Ave NW
Washington, DC 20010-2916
ChildrensNational.org

Oponentsky posudek na diplomovou práci Bc. Andrey Frejlachove “Imunoterapie pankreatického adenokarcinomu a jeho metastaz”.

Diplomova práce Bc. Andrey Frejlachove s názvem “Imunoterapie pankreatického adenokarcinomu a jeho metastaz” je další ze série prací z laboratoru Dr. Zenky zaměřené na nalezení efektivní léčby nádorových onemocnění. V předložené práci se Bc. Frejlachova konkrétně zabývá hledáním způsobu zesílení účinku MBTA terapie (Mannan-BAM + TLR ligandy + anti-CD40) u pankreatického adenokarcinomu a jeho metastaz a to pomocí anti-CTLA-4, HKLM, chemoablace ethanolu a DON. V práci také najdeme snahu vyřešit problém s nadměrným umíráním SCID myši po podání MBTA terapie a analýzu imunitní infiltrace v nádorech léčených MBTA terapií v kombinaci s DON.

Diplomova práce má klasické členění zahrnující úvod, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuzi, závěr, seznam použitých zkratk a literaturu. Celá práce je psána velmi dobrou cestinou, po formální stránce považují diplomovou práci za velmi zdařilou. Celá práce se vyznačuje pečlivostí, přesností a přehledností.

Úvod má logické členění a obsahuje přehledně zpracovanou problematiku nádoru, imunitního systému a imunoterapie. Rozsah této části doklady autorčinu velmi dobrou znalost dané problematiky a schopnost pracovat s literárními zdroji. K úvodu mám několik připomínek. Doporučila bych autorce sjednotit používanou terminologii, v některých částech textu autorka používá T bunky/T lymfocyty, CD8+ cytotoxické lymfocyty/ CD8+ T lymfocyty, pankreatický adenokarcinom/ adenokarcinom slinivky břišní. Dale autorka nepřesně uvádí, že Panc02 je myším modelem ductálního pankreatického adenokarcinomu, ale ve skutečnosti se jedná o myši nádorovou buněčnou linii.

Cíle práce jsou jasné a srozumitelně definovány. Přesně bych se rádeji přiklátila k více specifickému popisu. Současná forma cílů práce je až moc obecná.

V části **Materiál a metody** velmi oceňuji způsob, jakým autorka zdárlé znázornila časové osy terapie u jednotlivých experimentů. Tento způsob zpracování napomohl přehlednosti dané kapitoly. Také zde bych ale chtěla upozornit na několik nepřesností, kterých se autorka v textu dopouští. Autorka by se měla vyvarovat nevědeckým výrazům jako například “dostatečná kultivace” nebo “správné usmrcení buněk”. Dale by autorka měla sjednotit jednotku pro rychlost centrifugace g vs RPM.

Výsledky jsou rozděleny na podkapitoly jasné reflektující jednotlivé experimenty. K výsledkům mám následující připomínky. (1) Autorka používá identickou kontrolní skupinu (PBS skupinu/12xMBTA) u experimentu 4.1, 4.2, 4.3, a 4.5. Autorka by měla tuto skutečnost v práci



Children's National

111 Michigan Ave NW
Washington, DC 20010-2916
ChildrensNational.org

vysvetlit a okomentovat. Byly tyto experimenty delany zaroven v jednom hromadnem experimentu a jsou rozdeleny pouze pro ucely prehlednejsi prezentace? V poslednim experimentu (nadorova infiltrace) autorka uvadi, ze den 0 kontrola je prevzata z jineho experimentu. Toto neni uplne idealni a autorka by se tomuto mela v budoucnu vyvarovat. Kontrolni skupina by mela byt vzdy delana zaroven s experimentalnimi skupinami. (2) V experimentech 4.1, 4.2, a 4.3 bych doporucila zahrnout dalsi kontrolni skupinu kde je MBTA terapie aplikovana do praveho nadoru a zaroven PBS aplikovano do leveho nadoru. (3) Dale mam vyhrady k experimentu 4.4 kde autorka pouzila pro cely experiment pouze 4 mysi (2 mysi na skupinu), coz je absolutne nedostatecne. Autorka na zaklade techto vysledku nemuze tvrdit, ze blokace IL-12 nema vliv na umirani SCID mysi po podani MBTA terapie. Dane vysledky mohou byt diskutovany ale nemohou byt pouzity pro vyvozovani zaveru. (4) Forma prezentace statistickych vyznamnosti u jednotlivych grafu nebyla vhodne zvolena. Konkretne na Obr. 25, 27, 28, 29 je z duvodu velkeho mnozstvi statistickych vyznamnosti velmi tezke se v nich orientovat. (4) Autorka by se mela take v sekci vysledku vyvarovat nevedeckych vyrazu jako napriklad "aplikace MBTA dopadla o poznani lepe", "napadlo nas vyzkouset", "aby terapie dopadla co nejlepe".

Diskuze komentuje jednotlivé experimenty a dava je do kontextu s publikovanou literaturou. Doporucila bych vice rozvest uvodni odstavec a ve zkratce zde vysvetlit proc se autorka snazi o zlepšení MBTA terapie u pankreatického adenocarcinoma kombinaci s dalsimi slozkami. Opet bych zde chcela upozornit na experiment 4.4 (MBTA terapie u SCID mysi), kde by mela autorka diskutovat limitaci experimentu v zavislosti na male experimentalni skupine. Bylo by take dobre, kdyby autorka v poslednim odstavci vice rozvedla jak se bude terapie na zaklade jejich vysledku vyvijet do budoucna.

Zaver je prezentovan v bodech jasne a srozumitelne.

Na autorku mam nasledujici dotazy:

1. Autorka uvadi, ze DON vykazuje toxicky efekt na gastrointestinalni trakt. Byla v prubehu experimentu s DON u mysi zaznamenana tato toxicita? Pokud ano, jak se tato toxicita specificky projevovala? Muze take autorka vysvetlit jak konkretne planuje do budoucna omezit negativni vliv DON pomoci casovani a targetingu?
2. Autorka uvadi, ze bude dulezite z klinickeho hlediska testovat ruzne stare mysi (nadorova onemocneni prevazuji u starsich pacientu). Muze autorka vysvetlit proc se



Children's National®

111 Michigan Ave NW
Washington, DC 20010-2916
ChildrensNational.org

domníva, že starší myši (pacienti) mohou reagovat na prezentovanou imunoterapii jinak než mladší jedinci?

3. V experimentu 4.3 byl myšim aplikován do nádoru EtOH. Byla při tomto experimentu pozorována nějaká bolestivá reakce nebo diskomfort u myši po podání?
4. V experimentu 3.9.9 autorka popisuje možnost kombinace MBTA terapie a DON pro účely protinádorové vakcinace. Domnívá se autorka, že bude potřeba pro přípravu vakcíny vždy využít pacientův vyoperovaný nádor nebo bude možné použít lidskou nádorovou linii odpovídající danému typu nádoru? A pokud bude vakcína připravena z primárního nádoru pacienta, jaká bude účinnost vakcíny u metastáz pokud předpokládáme, že metastázy se mohou antigenně značně lišit od primárního nádoru?
5. Jaké další teorie má autorka pro umírání SCID myši po použití MBTA terapie? Jaký je další plánovaný postup pro objasnění tohoto fenoménu?
6. V experimentech 3.9.1, 3.9.2, 3.9.3 autorka kombinuje MBTA terapii s anti-CTLA-4, HKLM a EtOH. Anti-CTLA-4, HKLM a EtOH byly aplikovány do levého nádoru 20., 27. a 34. den po započetí terapie. Může autorka vysvětlit, jaké je opodstatnění tohoto časování?

Celkové hodnocení diplomovou prací Bc. Andrey Frejlichové za velmi zdařilou. Počet experimentů zahrnutých v této práci a obsahlost této práce ukazuje na fakt, že autorka věnovala tomuto projektu hodně času a síly. Autorka prokázala schopnost samostatně experimentální práce, interpretace dosažených výsledků, kritického myšlení a velmi dobrou schopnost práce se zahraničními literárními zdroji. Tato diplomová práce splňuje všechny požadavky Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity na odevzdané diplomové práce. Proto **doporučuji** diplomovou práci Bc. Andrey Frejlichové k obhajobě a navrhuji udělit známku **vyborne** v závislosti na samotné obhajobě.

Ve Washington, DC
3. července 2020

Veronika Caisová, PhD