



Prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc.
předsedkyně Učené společnosti ČR
Videňská 1083
142 20 Praha 4

Posudek na dizertační práci Mgr. Lenky Quaiserové (Kašíkové)

„Identifikace prognostických ukazatelů pro imunoterapii karcinomu ovaria“

Je mimořádně potěšující sledovat vývoj naší přední laboratoře, která se věnuje otázkám imunity a jejímu vztahu k chorobám, převážně nádorovým. Je to jistě spjato s vynikajícími zakladateli, profesorem Spiškem, profesorkou Bartůňkovou a dnes s docentkou Fučíkovou. Kdysi jsem napsala do jednoho posudku, že vědec její kvality se rodí jednou za čas a to platí. Stává se občas, že vynikající vědci se soustředí jen na svou práci a nevěnují dost pozornosti výchově nové generace. To ale není případ paní docentky Fučíkové. Prostředí kolem ní bych nazvala líhni talentů. Měla jsem možnost oponovat řadu dizertačních prací z této líhny a všechny mají společné jedno. Jsou vynikající vědecky, a nesou všechny znaky profesionálního přístupu k řešenému tématu. S radostí jsem konstatovala, že tomuto trendu odpovídá i dizertační práce paní magistry Quaiserové rozené Kašíkové.

Již úvod je osvěžující čtení, v tom smyslu že oponentovi osvěžuje všechny informace týkající se protinádorové imunitní odpovědi. Obrázky převzaté z původních publikací jsou graficky na úrovni a dokonale doplňují výborný text. Dizertace vychází z předpokladu, že složení, lokalizace a funkční orientace imunitního infiltrátu nádorového mikroprostředí se u lidských solidních nádorů zásadním způsobem podílí na průběhu a prognóze maligního onemocnění.

První práce analyzuje vzorky pacientek s primárním a metastatickým high-grade serozním karcinomem ovaria (HGSC) které buď nebyly léčeny, nebo podstoupily neoadjuvantní chemoterapii. Pozornost byla věnována jedné z nejdůležitějších DAMP molekul, kalretikulinu. Není překvapující, že jeho zastoupení jak v primární tak i v metastatické tkáni je velmi heterogenní a závisí na intenzitě stresu, kterému je vystaveno endoplasmatické retikulum. Translokace vnitrobuněčného kalretikulinu z ER a jeho exprese na buněčném povrchu maligních buněk je považována za pozitivní prognostický faktor korelující s lepší prognózou onemocnění. Kromě exprese na buněčném povrchu je pro prognózu důležitá i hladina intratumorální *CALR mRNA*. Také její hladina koreluje se stresem endoplasmatického retikula. Platí proto závěr, zjištěný už i u jiných maligních onemocnění, že exprese CALR na maligních buňkách je významným prognostickým biomarkerem. Optimistické je konstatování, že pacientky s HGSC by mohly být s výhodou léčeny neoadjuvantní nebo adjuvantní chemoterapií protože při ní dochází k robustnímu stresu ER.

Druhá práce analyzuje úlohu a prognostický význam aktivovaných dendritických buněk (DC) v imunitní protinádorové reakci. Aktivované DC byly v nádorovém mikroprostředí sledovány pomocí znaku DC-LAMP. Bez ohledu na velkou interindividuální variabilitu bylo zjištěno, že jak jejich přítomnost, tak zastoupení CD20⁺ B lymfocytů ovlivňuje výslednou cytotoxickou odpověď CD8⁺ T lymfocytů a NK buněk. Většina zralých DC nebyla v přímém kontaktu se skupinami maligních buněk.

Třetí práce sleduje přítomnost koinhibičních receptorů na T lymfocytech, které zásadním způsobem ovlivňují ustavení klinicky důležitého imunosupresivního prostředí a ovlivňují tím prognózu pacientů. Velmi významné je zjištění, že negativní signalizace PD-1/PD-L1 není hlavní inhibiční dráha lymfocytů infiltrujících do ovariálních nádorů. Klíčová úloha je přisuzována blokační molekule TIM-3. CD8⁺ T lymfocyty s povrchovou molekulou TIM-3 jsou funkčně vyčerpané buňky, jejichž zvýšená frekvence koreluje s horší prognózou onemocnění. U neléčených pacientek jich může být v TME až jedna třetina. Závěr je důležitý v tom smyslu, že TIM-3 je další, u HGSC hlavní, biomarker suprimované spontánní imunity a vhodný cíl pro terapii.

Čtvrtá práce, která porovnává 24 párových vzorků primárního TME a metastatického TME pacientek s HGSC zjišťuje, že mezi primárním a metastatickým nádorem je rozdílně exprimováno až 1468 genů. V metastatické TME (M-TME) je vyšší infiltrace CD8⁺ T buněk, CD20⁺ B buněk, DC-LAMP⁺ DC a NKp46⁺ buněk oproti primární TME (P-TME). Funkční inhibice T lymfocytů v M-TME, není důsledkem zvýšené exprese inhibičních molekul, ale imunosupresivního cytokinového prostředí způsobeného zvýšenou infiltrací tumor asociovaných M2 makrofágů.

Pátá práce poskytuje detailní protokol pro detekci CRT pomocí imunohistochemické a cytometrické analýzy. Uzavírá, že výhodou imunohistochemické metody je možnost retrospektivní analýzy rozsáhlých souborů, nevýhodou rozlišení mezi povrchovou a intracelulární expresí. Cytometrická analýza umožňuje kvantifikovat povrchově exprimovaný CRT na populaci časně apoptotických buněk. Apoptotické a nekrotické buňky lze rozlišit kombinovaným barvením.

Dizertace je vzorným příkladem úspěšné domácí a mezinárodní spolupráce. Účastní se jí Oddělení imunologie a Oddělení patologie a molekulární medicíny 2. lékařské fakulty Karlovy Univerzity v Motole, Praha; Sotio, Praha; Fingerlandovo oddělení patologie a Porodnické a gynekologické oddělení, Fakultní nemocnice Univerzity Karlovy, Hradec Králové; Porodnické a gynekologické oddělení 3. lékařské fakulty, Královské Vinohrady, Praha; Porodnické a gynekologické oddělení Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty, Plzeň; INSERM, Paříž, Francie; Sorbonne Université, Paříž, Francie; Université Paris Descartes, Paříž, Francie; Metabolomic and Cell Biology Platforms, Institut Gustave Roussy, Villejuif, Francie; Pôle de Biologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paříž, Francie; Suzhou Institute for Systems Biology, Chinese Academy of Sciences, Suzhou, Čína; Karolinska Institute, Karolinska University Hospital, Stockholm, Švédsko; Department of Radiation Oncology, Well Cornell Medical College, New York, USA; Sandra and Edward Meyer Cancer Center, New York, USA; Department of Dermatology, Yale School of Medicine, New Haven, USA. I když výčet není úplný, je impozantní! Koordinovat práci takového množství vynikajících pracovišť a v nich neméně vynikajících vědeckých pracovníků není vůbec jednoduché. Svědčí to o vzájemné důvěře a profesionální odpovědnosti.

Hodnocená dizertace působí naprosto uceleným a promyšleným dojmem. Hlavní myšlenkou je analýza aktivace a suprese imunitní reakce proti jedné z nejzákeřnějších onkologických diagnóz, HGSC. Je zřejmé, že psaní věnovala dizertantka velkou pozornost. Je to napsáno pečlivě, velmi přehledně a jasně a svědčí to o její dokonalé profesionální orientaci. Je jen velká škoda, že to není v angličtině, z práce by se mohla poučit velká řada našich zahraničních doktorandů. Součástí práce je již zmíněných pět publikací. Jedná se o typicky klinické práce, které mají velké množství autorů, a proto je důležité, že autorka u každé publikace definuje hypotézu, pro kterou byla práce vypracována a vymezuje podíl své práce. O velké péči svědčí i to, že Mgr. Quaiserová je kromě toho autorkou jedné přehledové práce a spoluautorkou na dalších čtyřech publikacích.

K autorce mám několik dotazů. 1) Prognostický význam některých znaků v TME je jistě důležitý, ale spoléhá na biopsie. Máme v současnosti podobné prognostické neinvazivní metody pro HGSC? 2) Co

je známo o vzniku onemocnění? Je tam vztah k genotypu (HLA), kouření, životnímu prostředí apod.? 3) Jak se uplatňují poznatky týmu, v kterém autorka dizertaci vypracovala v praxi? Jsou nejenom součástí výuky ale i postgraduálního vzdělávání lékařů? Jak v klinice? 4) Jaká terapie je v současné době k léčbě HGSC používána? 5) Jakou má další blokační molekula, LAG-3, úlohu při vývoji HGSC? 6) Je možné, kromě chemoterapie, pozitivně ovlivnit expresi CARL?

Závěr: Dizertace Mgr. Quaiserové je mimořádně kvalitní a splňuje všechny nároky na ní kladené. Nemám pochyb o tom, že kandidátka je talentovanou vědeckou pracovnící se schopností samostatně řešit tvůrčí vědecké otázky. Doporučuji proto práci k obhajobě a k udělení vědeckého titulu Ph.D.

Praha 17. 7. 2020

Prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc.