



**Posudek na dizertační práci MUDr. Vladimíra Kouckého**

**„ Immunological aspects of head and neck cancer in relation to etiology“**

**„Imunologické aspekty maligních nádorů hlavy a krku ve vztahu k etiologii“**

Práce se věnuje vysoce moderní a nadmíru důležité problematice, a to účasti imunitního systému a jeho složek v prognóze, progresi a terapii karcinomů hlavy a krku (head and neck squamous cell carcinoma; HNSCC). Už samotný fakt, že toto souhrnné označení pokrývá velmi heterogenní skupinu nádorů, které velmi rozdílně reagují na zvolenou léčbu ospravedlňuje pečlivé a kvalitní studium podílu imunitního systému pacientů na stavu a kontrole jejich nádorového onemocnění a na možnostech cílené imuno-terapeutické onkologické léčbě, tak jak se tomu věnuje oponovaná dizertační práce MUDr. Vladimíra Kouckého. Hledání prognostických faktorů pro obtížně léčitelné nádory, ke kterým HNSCC nepochybně patří, lze v současné době považovat nejenom za moderní, ale zejména za mimořádně důležité a potřebné téma.

Dizertant vychází ze zkušeností vynikajícího zázemí prezentovaného Klinikou otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN v Motole a skvělých konzultantů. Práce má klasické dělení na úvod, mimochodem výtečně a přehledně napsaný, cíle práce, materiál a metody, vlastní výsledky, diskuzi a závěry, doplněné statistickou analýzou. Cíle práce se soustřeďují a hledají rozdíly u dvou základních typů HNSCC, a to HPV<sup>+</sup> (lidský papilloma virus) a HPV<sup>-</sup> nádorů. U HPV<sup>+</sup> pacientů se HPV 16 antigeny uplatňují jako imunostimulující agens. V důsledku toho dobrá protinádorová imunitní reakce je zřejmě jeden z důvodů, proč pacienti s tímto typem nádorů odpovídají na standartní léčbu lépe než pacienti trpící HPV<sup>-</sup> nádory.

Práce analyzuje tři podskupiny tumor-infiltrujících leukocytů. Jsou to CD8<sup>+</sup>T lymfocyty, dosud trochu opomíjené B lymfocyty a plasmacytoidní dendritické buňky. Bylo zjištěno, že CD8<sup>+</sup>tumor infiltrující T lymfocyty (TIL-T) reaktivní vůči antigenům HPV16 jsou přítomny u 73% vzorků, odebraných od pacientů s HPV<sup>+</sup> orofaryngeálními karcinomy ze skvamozních buněk (OPSCC), zatímco žádné takové nebyly pozorovány u vzorků odebraných od pacientů s HPV<sup>-</sup> nádory. Takové TIL-T lymfocyty jsou schopné po specifické stimulaci peptidy, odvozenými z HPV nádorů, nesoucími antigeny 16 produkovat prozánětlivé cytokiny IFN $\gamma$  a TNF $\alpha$ . Pokud jsou TIL-T vystaveny kombinovanému působení anti PD-1 a anti TIM-3 je produkce uvedených cytokinů ještě významně zesílena. Mimořádně zajímavé a důležité jsou výsledky

analýzy, provedené podobně u tumor-infiltrujících B lymfocytů (TIL-B). Jejich přítomnost v nádorech orofaryngu představuje znamenitou a silnou pozitivní prognostickou hodnotu. Vzhledem k tomu, že interakce T a B lymfocytů tvoří jeden ze základních pilířů imunitní odpovědi, považuji za výtečný nápad věnovat pozornost četnosti membránových interakcí CD8<sup>+</sup>TIL-T lymfocytů a TIL-B lymfocytů. Bylo na místě předpokládat, že případně prokázaná intenzivní interakce obou základních typů lymfocytů bude představovat pozitivní prognostický faktor. Neméně zajímavé jsou výsledky týkající se třetího typu leukocytů, a to plasmacytoidních dendritických buněk (pDC). Jsou to buněčné elementy uplatňující se především v protivirové imunitě. Mezi HPV<sup>+</sup> a HPV<sup>-</sup> nádory sice nebyly pozorovány výrazné rozdíly v množství pDC, ale jenom ty izolované z HPV<sup>+</sup> nádorů byly schopné produkovat po stimulaci TLR7 a TLR9 receptory vyšší množství IFN $\alpha$ . Funkce těchto buněk tak do jisté míry vysvětluje horší terapeutické výsledky u HNSCC HPV<sup>-</sup> nádorů. V těchto případech cytokinové nádorové mikroprostředí, jmenovitě IL-10 a TNF $\alpha$ , potlačuje mimo jiné produkci IFN $\alpha$  plasmacytoidními dendritickými buňkami a podporuje proliferaci regulačních T lymfocytů (Treg) se schopností protinádorovou odpověď tlumit.

Na dizertanta mám několik otázek 1) Neměl možnost pozorovat známý vliv cirkadiálních rytmů na infiltraci nádorů imunitními buňkami, respektive nebyly pozorovány rozdíly v zastoupení u vzorků odebíraných v různých denních časech? 2) Které nádory HPV<sup>+</sup> nebo HPV<sup>-</sup> jsou častější? 3) Jak se dá uplatňovat prevence u HNSCC nádorů případným sledováním prognostických markerů alespoň u ohrožené populace. Jakou obecnou prevencí by dizertant doporučoval? 4) Jakým způsobem jsou vybíráni pacienti pro imuno-terapeutickou léčbu, která bude mít žádaný efekt jen u imunologicky zdravé tj. imunitní reakce schopné populace? 5) Nakonec spíše asi teoretická otázka. Nicméně, není už vidět nějaký pozitivní vliv anti-HPV doporučené vakcinace na výskyt HNSCC u mužů? Uvědomuji si, že anti-HPV vakcinace možná asi není u starších mužů dosud nabízena/prováděna. Mělo by význam ji doporučovat zejména populaci ohrožené možným výskytem obtížně léčitelného HNSCC?

Dizertace je velmi pečlivě sepsána, nechybí kvalitní úvod do problematiky imunoterapie u karcinomů hlavy a krku, vysvětlivky a jasně stanovené cíle práce. Diskuze je zasvěcená a závěry opodstatněné. Je třeba pochvalně zmínit, že práce je sepsána velmi dobrou angličtinou a je tak dostupná široké vědecké veřejnosti. Publikací ve vztahu k předmětu dizertace je pět a jsou uveřejněny ve velmi dobrých časopisech což je zejména u klinických prací dosud trochu mimořádné.

**Závěr: Dizertace MUDr. Vladimíra Kouckého je mimořádně kvalitní a splňuje všechny nároky na ní kladené. Nemám pochyb o tom, že kandidát je talentovaným vědeckým pracovníkem se schopností samostatně řešit tvůrčí vědecké otázky. S radostí doporučuji proto práci k obhajobě a k udělení vědeckého titulu Ph.D.**

Praha 13/11/2022

  
Prof. RNDr. Blánka Říhová, DrSc.