

## Oponentský posudek na disertační práci

MUDr. Magdaleny Klánové

## „Experimentální terapie B-nehodgkinských lymfomů“

MUDr. Magdalena Klánová se ve své disertační práci zabývá odvozením myších modelů agresivních B-nehodgkinských lymfomů (B-NHL) a jejich charakterizováním. Myší modely využila pro sledování citlivosti vůči studovaným látkám cílícím lymfomy. Soustředila se také na zjištění klíčových molekul, zodpovídajících za citlivost či rezistenci B-NHL vůči vybraným protilymfomovým látkám.

Předložená disertační práce je opatřena úvodem, který shrnuje současné poznání biologie a léčby B-NHL s relevancí k předloženému souboru 4 odborných publikací, kterých je MUDr. Klánová první autorkou, a jednotlivými cíli s vnesenými hypotézami. Disertační práce obsahuje diskusi a závěr k předloženým publikacím.

Všeobecný úvod je psán velmi přehledně a srozumitelně pojednává o jednotlivých tématech, kterými se studentka ve své práci zabývá na základě poměrně rozsáhlé rešerše, což dokládá přiložený seznam použité literatury. Cíle práce jsou vytyčeny jasně a dávají podklad pro řešení velmi důležitých a aktuálních témat spjatých s prohloubením poznání biologické podstaty B-NHL a zlepšení strategie léčby. Dosažené výsledky odpovídají vytyčeným cílům práce.

Dle seznamu uvedených metod, které tvořily základ pro studium vytyčených cílů a přinesly data, která byla zpracována do 4 publikací, je zřejmé, že studentka v průběhu řešení disertační práce použila, pravděpodobně ne všechny, ale řadu molekulárně biologických technik, práci s buněčnými liniemi a prováděla náročné experimenty xenotransplantace nádorových buněk a experimentální terapie s použitím imunodeficientních myší.

MUDr. Klánová je první autorkou 4 prací, které byly publikovány v časopisech *Clinical Cancer Research* (IF 8,738), *Laboratory Investigation* (IF 4,202), *Molecular Cancer* (IF 5,888) a *Neoplasma* (IF 1,961). Je spoluautorkou dalších 8 publikací.

**K disertační práci mám následující komentáře:**

1. Abstrakt předložené disertační práce působí trochu necelistvým dojmem, k čemuž pravděpodobně došlo snahou odkazovat na jednotlivé publikace. Podobně je členěna i diskuse, která je v podstatě tvořena překlady diskusí jednotlivých publikací z anglického do českého jazyka. Uvítala bych diskusi provázanou a pojatou komplexním způsobem, jelikož poznatky z publikací spolu souvisí.
2. Publikace č. 2 a 4 jsou tematicky příbuzné, jelikož se experimentálně věnují účinku ara-C u MCL. Volila bych jejich řazení za sebe a provázanost v diskusi.
3. V práci chybí přiložená suplementární data, na které odkazují výsledkové části publikací, což by čtenáři pomohlo při studiu tohoto souboru prací.
4. Pro rychlou a snadnou orientaci čtenáře, který není odborníkem na léčbu lymfomů, by bylo přínosné uvést schematické znázornění standardního léčebného postupu pro typy lymfomů, kterými se disertační práce zabývá.
5. Tabulka 3 (publikace č. 4) ukazuje míru změny exprese genu DCK měřenou u pacientů v době diagnózy v porovnání s relapsem nemoci. Data jsou znázorněna jako rozdíly mezi hodnotami  $\Delta Ct$  v době diagnózy a rezistence. Ve výsledkové části je výsledek komentován, že downregulace byla zjištěná v případě rozdílu  $\Delta Ct$  o více jak jeden cyklus, což není vhodná interpretace. Standardní a široce užívané vyjádření míry rozdílu v expresi genů je použití hodnoty vypočtené dle formule  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .
6. V úvodu na str. 40 je zmíněno, že zlepšení prognózy pacientů s B-NHL je zcela ojedinělé v rámci onkologických onemocnění. Toto tvrzení není úplně přesné. Máme tu excelentní výsledky léčby chronické myeloidní leukémie. Dokonce, u cca 40 % pacientů, kteří se po minimálně tříleté léčbě inhibitory tyrozinových kináz nacházejí v hlubokých molekulárních odpovědích, nedochází k molekulárnímu relapsu po vynechání léčby.

**Na MUDr. Klánovou mám tyto otázky:**

1. Publikace č. 1 ukazuje důležitý poznatek, že u skupiny genů s významnou změnou exprese po přihojení buněk b. linie Mino, se genová exprese zjištěná po extrakci buněk z myších tkání a kultivaci *in vitro* mění zpět na původní hladiny. Mikroprostředí myší

tkáně do značené míry navozuje molekulární reprogramování a ovlivňuje fyziologii přihojených buněk. S ohledem na znalost důležitosti mikroprostředí, ve které nádorové buňky žijí a prolifерují, do jaké míry lze poznatky o působení testovaných lékových preparátů na myších modelech transferovat na člověka?

2. Pozorovali jste rozdíly při přihojování primárních lidských buněk studovaných lymfomů v imunodeficitních myších, když zdroji primárních buněk byly odlišné tkáně (viz. publikace č. 1)?
3. V publikaci č. 2 jste zjistili, že sólová léčba ara-C není účinná v myších modelech lidského MCL a to rovněž u agresivních forem MCL (viz. klinická studie Nordické lymfomové skupiny). Je možné, že agresivní formy MCL jsou primárně rezistentní vůči ara-C kvůli vstupně snížené hladině DCK? Proč se hovoří o rezistenci vůči ara-C, když ara-C není aplikována jako monoterapie, ale v kombinaci s dalšími preparáty?
4. Jaká je exprese proteinů BCL2, BCL-XL a MCL1 v normálních zralých B buňkách a v lymfoidních progenitorových buňkách? Dle jakého standardu či měřítka určujete míru exprese jako nízkou, střední a vysokou? (viz. publikace č.3).
5. Jak byste dle výsledků vaší práce a nabitých poznatků navrhla novou léčebnou strategii pro pacienty s DLBCL nebo MCL, kterou byste ráda testovala v rámci klinické studie?

3

Závěrem konstatuji, že disertační práci považuji za vysoce kvalitní. Za zcela nadprůměrné považuji 4 prvoautorské publikace MUDr. Klánové a dalších 8 publikací, kterých je spoluautorkou.

Svou disertační prací a publikační aktivitou autorka prokazuje předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Praze dne 10.1.2018

Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Vedoucí Oddělení molekulární genetiky

Email: [katerina.machova@uhkt.cz](mailto:katerina.machova@uhkt.cz)

tel.: 221 977 305