

Oponentský posudek

diplomové práce Bc. Jany Rakové **”Prognostická role kontrolních bodů imunitních reakcí u pacientek s ovariálním karcinomem”**

Vedoucí práce: PharmDr. Jitka Palich Fučíková, Ph.D.

Předložená diplomová práce obsahuje 103 stran včetně 6 tabulek a 38 obrázků. Je rozdělena klasicky na teoretickou část, cíle práce, použité metodiky, výsledky práce, diskuzi a závěr spolu s rozsáhlým souborem citovaných referencí.

Teoretická část popisuje úlohu kontrolních bodů imunitní reakce v regulaci T-buněčné odpovědi a věnuje se také úloze vybraných molekul v regulaci imunitní odpovědi (CTLA-4, osa PD-1 / PD-L1 a LAG-3) a jejich prognostické roli u onkologických indikací. V další části se pak věnuje inhibitorům kontrolních bodů imunitní reakce schválených do klinické praxe a velmi podrobně popisuje klinická data, která vedla ke schválení jednotlivých molekul u jednotlivých nádorů. V této části si dovoluji upozornit na drobnou nepřesnost na straně 25 ve 2. odstavci, kde se v první větě mluví o studii O37 s předlěčenými pacienty (jedná se o studii *Weber et al z Lancet Oncol 2015*), ale v další větě jsou pak popisovány výsledky jiné studie (*Robert et al 2014 z NEJM*) u neléčených pacientů. Citována je u tohoto odstavce souhrnná práce (53), ale u klinických studií bývá spíše zvykem citovat primární zdroj dat, kde byla studie poprvé uveřejněna. Jinak je teoretická část perfektně a přehledně zpracována a obsahuje většinu klíčových dat a prací.

V praktické části jsou cíle práce popsány jasně a věnují se velmi důležité a klinicky diskutované otázce: prognostické roli kontrolních bodů imunitní reakce (PD-1, PD-L1, CTLA-4 a LAG-3) u pacientek s ovariálním karcinomem, včetně vlivu imunitního infiltrátu a jeho složení na prognózu onemocnění. Následující kapitola Materiál a metodiky je přehledná a mám k ní jen drobnou připomínku v části 3.1.1., kde jsou ve 2. větě zřejmě přehozené počty pacientek bez adjuvantní chemoterapie (nemá být 76?) a s neoadjuvantní chemoterapií (nemá být 40?). Tato chyba se opakuje i na str. 84 ve 2. odstavci. Drobný komentář do budoucna si pak dovoluji k protilátce použité k detekci PD-L1 (klon SP142) – tato protilátka (v porovnání s dalšími 3 protilátkami používanými v rámci klinických studií (klony 22C3, 28.8., SP263) měla nejslabší značení a horší výsledky při posuzování exprese PD-L1 na nádorových buňkách (*The Blueprint Project: Comparing PD-L1 IHC Diagnostics For Immune Checkpoint Inhibitors; German harmonization Trial on PD-L1*).

Kapitola výsledků je velmi rozsáhlá, s velkým množstvím zajímavých dat, která by možná odpovídala spíše postgraduální práci. Obsahuje řadu nových poznatků, které by nepochybně stálo za to opublikovat, protože se jedná o velmi “sexy” téma v řadě klinických publikací např. onkologickými indikacemi (melanoma, NSCLC, RCC, nádory hlavy a krku či urotheliální karcinom). Právě ovariální karcinom ale byl spíše opomíjenou Popelkou a výsledky předkládané práce začínají zaplňovat tuto mezeru v prognostické roli některých biomarkerů. Autorka v této části zcela jednoznačně prokázala schopnost samostatné práce, zpracování a vyhodnocení nasbíraných dat a srozumitelné interpretace výsledků. Pozor na drobné překlepy (např. str. 83 je *Hodkinov lymfom* a má být *Hodgkinov lymfom*). K sepsání diplomové práce plně pracovala velmi pečlivě s literárními daty, splnila formální požadavky na strukturu diplomové práce, vyhledala a použila vhodné citace a výsledky dostatečně a přehledně konfrontovala s již publikovanou literaturou. I v této části si však dovoluji upozornit na několik drobností a vznáším take několik dotazů k případné diskuzi.

Str. 53, obr. 10: přežití pacientek v závislosti na zastoupení PD-1+ TILs v nádorovém stromatu sice vychází bez significance (A), ale není to dáno jen "malým" počtem pacientů? Tvar křivek přežití pro populace PD-L1^{low} a PD-L1^{high} je velmi podobný jako nádorového ložiska (B) a pro celé nádorové mikroprostředí (C).

Str. 54, obr. 11: Čím to je, že u pacientů s neoadjuvantní terapií nemá PD-L1 exprese vliv na přežití? Není to opět dané jen menším počtem analyzovaných pacientů po neoadjuvantní chemoterapii (40) oproti pac. bez chemoterapie (76)? Nebo větším počtem pacientek v pokročilejších stadiích ve skupině s neoadjuvancí (viz tab. na str. 38), kde je 92,5% pac. ve stadiu III./IV.? U karcinomu prsu se zdá, že efekt TIL's po neoadjuvantní terapii se projevil naprosto výrazně (*Denkert et al. Tumor-Associated Lymphocytes As an Independent Predictor of Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer; JCO 2010*), ale je pravda, že ovariální karcinom může být jiný...

Str. 57, obr. 14: Jen poznámka – vaše práce rozděluje pac. na PD-L1^{low} pod 5% a PD-L1^{high} nad 5%. Nestálo by za to (dovolí-li to počty pacientů) rozdělit spíše podle exprese používané v klinice na PD-L1 negativní (pod 1%), pak na expresi 1-49% (?) a na PD-L1^{high} (nad 50%?) a podívat se na vliv těchto hladin na OS? Někdy se uvádí, že nejvýraznější efekt na přežití je právě u PD-L1^{high} expresorů...

Str. 61, obr. 18: Velmi podobný OS pro PD-L1+ TIL's a CTLA-4+ TIL's (nad 120 měs. vs. 40 měs.). Jsou PD-L1+ T-buňky ty samé jako CTLA-4+ T-buňky?

Str. 66, první věta: Text nepopisuje obr. 22, jak je uvedeno v textu, ale obr. 23. Zde ale platí, že je signifikantně lepší přežití pro LAG-3+ TIL's ve stromatu... (obr. 23A).

Str. 67, poslední věta: Co znamená přesně kategorie "mix"? Že mohl být jakýkoliv kontrolní bod imunitní reakce low nebo high? Je rozdíl v přežití (na úrovni significance $p < 0,05$) i mezi subpopulacemi "mix" a "high", ev. mezi "mix" a "low"?

Str. 73, první odstavec pod obr. 30: Je opravdu role B-buněk tak zásadní, když jejich počet v nádoru na mm² (obr. 30A) je více než 100x nižší než počet CD8+ buňk (obr. 33)? Jaké je přežití skupiny pacientů s PD-L1^{high}/CD20^{low} a ev. PD-L1^{low}/CD20^{high}?

Str 75, poslední odstavec: Uvádí se, že "*Medián prežitia pacientok s vysokou expresiou molekuly PD-L1 a vysokou infiltráciou nádorového mikroprostredia populáciou CD8+ T lymfocytov bol 45 mesiacov...*". Podle grafu a tab. na straně 76 je ale median přežití pro tuto skupinu >120 měs. Uvedených 45 měs. zřejmě platí pro "mix" populace?

Pro případné budoucí pokračování výzkumu v této oblasti si dovoluji jen drobný komentář ke grafům na str. 81, obr. 38: bylo by zajímavé ukázat přežití populace pacientek s fenotypem CD8^{high}/PD-1^{low} vs. CD8^{high}/PD-1^{high}... Řečeno jinými slovy – musí být cytotoxické CD8+ T-buňky exhaustované (PD-1^{high}) nebo nemusí (PD-1^{low}), aby byl dosažen klinický benefit (= lepší přežití pacientek)?

Závěr: Vysoce pozitivně u diplomantky hodnotím i množství literárních pramenů, které byly účelně využity (přes 100 použitých citací vesměs cizojazyčné literatury). Po formální stránce je diplomová práce na velmi dobré úrovni. Předložená diplomová práce Bc. Jany Rakové splňuje veškeré požadavky kladené na diplomovou práci. Doporučuji alespoň některé části z ní publikovat v peer review časopisech. Práci považuji za velmi zdařilou a hodnotím klasifikačním stupněm výborně.

V Praze, 15.5. 2018,

Dr. Marek Šťastný, Ph.D.

