

Oponentský posudek na diplomovou práci

Jméno posuzovatele: RNDr. Michaela Hájková, Ph.D.

Autor: Bc. Tereza Hnízdilová

Název práce: Antitumor activity of IL-2 and IL-7 immunocomplexes in combination with α CTLA-4 and α PD-1 mAbs

Cíle práce: Cílem diplomové práce bylo studovat vliv imunokomplexů IL-2/S4B6, IL-2/JES6-1 a IL-7/M25 na CD4⁺ a CD8⁺ T lymfocyty a ověřit jejich možný terapeutický protinádorový potenciál v kombinaci s checkpoint inhibitory α CTLA-4 a α PD-1.

Struktura (členění práce): Práce je napsána kvalitní angličtinou, je klasicky členěna a obsahuje všechny náležité části odborného textu.

Literární přehled: Literární přehled odpovídá tématu, je napsán srozumitelně a přehledně. Autorka použila dostatečný počet literárních zdrojů (133 původních prací a review).

Materiál a metody: Použité metody odpovídají experimentální kapitole. Drobnou připomínku mám jen k tomu, že u protilátek na FACS chybí použité ředění a klon. Dále upozorňuji, že bývá zvykem (stejně jako v odborných publikacích) uvádět u každé chemikálie nejen firmu, ale při prvním výskytu také město a stát sídla. To samé platí pro použité plasty, kde autorka neuvádí žádnou z těchto informací.

Experimentální část: Experimentální část obsahuje rozsáhlý soubor výsledků z průtokové cytometrie, proliferace lymfocytů, ELISA a měření terapeutického efektu léčby. Získané výsledky jsou přehledně dokumentovány. Oceňuji zařazení gatovací strategie a schémata adoptivního transferu pro každý relevantní obrázek. Některé informace, které autorka někdy i opakovaně uvádí v kapitole výsledky (přidávání thymidinu str. 54, 55) nebo informace o využitých myších modelech (OT-I, OT-II) by se podrobněji hodily vysvětlit spíše v kapitole Materiál a metody.

Diskuse a závěry: Je patrné, že autorka přečetla velké množství studií, které souvisí s tématem její práce. Výsledky jsou kvalitně diskutovány včetně zdůvodnění toho, proč některé experimenty nepřinesly očekávaný výsledek, a je navrženo případné alternativní metodické řešení. Zejména oceňuji pečlivou diskuzi pozorovaného fenoménu, kdy imunokomplex IL7/M25 zhoršoval protinádorovu aktivitu α CTLA-4 a α PD-1. Závěry jsou přehledné a korespondují se zadanými cíli.

Formální úroveň práce: Text má velmi dobrou formální úroveň, obsahuje minimum překlepů a chyb, je vhodně doplněn několika obrázky a grafy.

Připomínky:

1. Velmi oceňuji, že se autorka rozhodla napsat práci v angličtině. Je jen trochu škoda, že česká verze abstraktu připomíná slovosledem angličtinu.
2. Na straně 62 a 66 uvádíte výsledky porovnání různých kombinací léčby. Podle mého názoru pro úplné porovnání trochu chybí použití samotného MAB407. Podobně pro grafy strana 46-49 - jaký efekt mají samotné mAb na sledované markery?

Otázky:

1. V literárním přehledu popisujete terapeutické účinky IL-2, IL-7 a jejich imunokomplexů. Jak je to s jejich distribucí v těle? Dostávají se do krve? Jak dlouho v ní vydrží? Za jak dlouho se vyloučí?
2. V jednotlivých kapitolách popisujete negativní účinky léčby pomocí volného IL-2, IL-7 a checkpoint inhibitorů. Mají imunokomplexy podobné negativní účinky? O jak závažné a časté vedlejší účinky by se pak mohlo jednat při kombinaci imunokomplexů a checkpoint inhibitorů?
3. Používáte model adoptivního transferu splenocytů, kdy je intravenózně aplikováno $7,5 \times 10^5$ CD8⁺ a $1,5 \times 10^6$ CD4⁺ T lymfocytů na myš. Jaká je distribuce těchto buněk v den odběru (6. den?) Je možné je najít pouze ve slezině a kolik jich lze detekovat?
4. U všech grafů / dotplotů uvádíte procentuální zastoupení buněk. U některých výsledků by ale bylo vhodné zvážit i znázornění absolutních počtů buněk – obzvláště pokud měly jednotlivé skupiny myši různě velké sleziny. Například str. 63. grafy C, D a E. Pokud uvádíte rozdíly v CD4⁺ a CD8⁺ buňkách gatovaných z CD3⁺ populace, není jasné, jestli je nárůst jedné z nich (skupina IL-7/M25 CD8⁺) způsoben opravdu zvětšením jejich absolutního počtu nebo je to jen důsledek toho, že se změnilo zastoupení CD4⁺ lymfocytů? To samé platí pro B lymfocyty (graf C), snížil se u skupin M25 a IL-7/25 pouze poměr B lymfocytů vůči ostatním populacím nebo se snížil i jejich absolutní počet?

Splnění cílů a celkové hodnocení:

Tereza Hnízdilová předložila k obhajobě celkově velmi kvalitní diplomovou práci s aktuálním a zajímavým tématem. Práci doporučuji k obhajobě s kladným ohodnocením

V Praze dne 5. 9. 2019

RNDr. Michaela Hájková, Ph.D.