

Oponentský posudek na disertační práci RNDr. Kataríny Babiarové

„Rekombinantní vakcíny proti solidním a hematologickým nádorům: vývoj a stanovení jejich účinnosti“

Disertační práce je v podstatě souhrnem čtyř publikací v dobrých časopisech z let 2009 (dvě), 2011 a 2012 (J Immunotherapy, IF = 3, 463; Int J of Oncology, IF = 2,657; Neoplasma, IF = 1, 574; Oncology Reports, IF = 2, 297). RNDr. Katarína Babiarová je v jedné z nich první autorkou (práce z roku 2012), u ostatních je členkou poměrně početného pracovního týmu. Zcela správně však u všech publikací uvádí, jaký je její podíl na publikaci a co v rámci publikovaných výsledků udělala ona sama. Práce, tak jako dlouholetá a uznávaná práce celého týmu vedeného RNDr. Šárkou Němečkovou, DrSc je zaměřena na vývoj několika typů vakcín s použitím moderních molekulárně-biologických metod. V první práci byly připraveny DNA, rVACV a peptidové vakcíny obsahující peptidy z myšního Wilms tumor 1 (WT1) proteinu (WT₁₂₂₋₁₄₀ a WT₁₂₆₋₁₃₄). Bylo zjištěno, že genetické vakcíny (plasmidová DNA a rVACV) jsou méně účinné než i.d. tetování peptidovými vakcínami (podávané společně s CpG oligodeoxynukleotidy). Ty ale byly dobře účinné proti TRAMP-C2 nádoru u myši pouze tehdy, pokud byl monoklonálními protilátkami neutralizován TGF β , který uvedené nádorové buňky produkují ve vysokém kvantu. Druhá práce, a to s použitím partikulí podobných myšimu polyomaviru (MPyV-VLP), v podstatě potvrzuje celkem známý fakt, a to že zlomová oblast fúzního proteinu BCR-ABL je slabým imunogenem. Ve třetí práci se autoři zabývají zvýšením imunogenosti a protinádorové účinnosti rVACV vakcín (vakcíny na bázi rekombinantního viru vakcinie). Ty jsou vyvíjeny jako ochrana před onkogenním účinkem lidských papilomavirů kmene 16. Jako antigen byl využíván onkoprotein SigE7LAMP. Bylo zjištěno, že ko-produkce TGF β pod kontrolou H5 promotoru VACV významně zvýší účinnost rVACV vakcíny testované u TC-1 nádorů u myši. Práce zcela logicky uzavírá, že neutralizace TGF- β spolu se zajištěním specifické T buněčné odpovědi proti E7 by mohla zvýšit terapeutický efekt vakcíny u HPV asociovaných nádorů. Vliv na růst nádoru byl v některých případech velmi významný (obr.3, podobně jako to dokumentuje obr. 4 v poslední publikaci). Ta se věnuje možnému zvýšení účinnosti tj. imunogenosti rVACV vakcín namířených proti HPV16-E7+ nádorům, ale testuje vliv ko-exprese Flt3L (Fms related tyrosine kinase 3 Ligand). Expres byla, podobně jako v případě ko-exprese TGF β RII, regulovaná pod časným H5 nebo syntetickým časně/pozdním E/L promotorem rVACV. Účinek byl sledován u HPV16-E6+ a HPV16-E7+ nádorových buněk TC-1. Vakcína měla pozitivní efekt, byl prokázán vliv na růst nádoru a na přežití myši s nádorem, byla prokázána inhibice expanze myších MDSC (CD11b+Gr-1+) a prokázán nárůst dendritických buněk (CD11b+ CD11c+) ve slezině imunizovaných myši.

Komentář:

Str. 18...makrofágy neadsorbují, ale pohlcují antigeny

Str. 24...„zvýšená exprese jeho genu“ je špatná formulace. Správně je „zvýšená exprese tohoto genu“. Takových špatných formulací je v práci bohužel více. Kromě toho bývá zvykem označovat gen kurzivou.

Str. 33: formulace, že „při imunogenní apoptotické smrti je CRT prezentován“ není věcně správná. CRT je translokován (spolu s ERp57) z EPR na povrch nádorové buňky, kde slouží, mimo jiné, jako liganda pro TLR4.

Str. 34: pokud se zmiňují přenosy aktivovaných TIL (LAK) při imunoterapii, je třeba na prvním místě jmenovat prof. Rosenberga z USA, který metodu zavedl v polovině osmdesátých let minulého století pro léčbu melanomů.

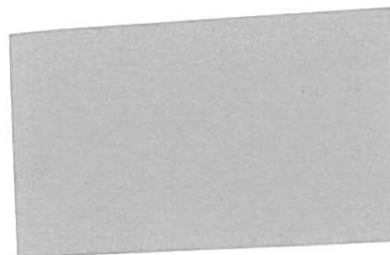
Str. 55: Obrázky 3.1.1, 3.1.2, 3.2.2 atd. jsou přebrány z literatury! Je zcela nepřijatelné neuvést zdroj. Nutno v disertaci opravit!

V celé práci jsou špatně označeny tabulky a obrázky. Nelze tabulku uvést jako „Tabulka 3.5.4“, protože to je název kapitoly. Tabulky musí mít svá samostatná značení. Totéž platí o obrázcích. Domnívám se, že je to třeba opravit.

K autorce mám následující otázky: a) práce o nízké imunogenicitě zlomové oblasti fúzního proteinu BCR-ABL, která je součástí disertace, vyšla v roce 2009. Ale tento fakt byl již publikován někdy kolem roku 2006. Na základě čeho se autorský tým domníval, že jeho přístup bude úspěšnější?, b) věk myši, na kterých byly pokusy prováděny, je uveden pouze u třetí publikace. Jedná se o šestitýdenní, tedy velmi mladé myši. Protože se ale vyvíjí terapeutická, nikoliv protektivní vakcína, která by měla mít uplatnění spíše u střední a starší generace žen, bylo by určitě zajímavé srovnání s reakcí myši starších. Neudělali jste nebo neplánujete takové pokusy u TC-1 nádoru udělat?, c) pro imunizaci byla často volena i.p. aplikace. Proč, když to zcela jistě není způsob použitelný v praxi. Nebylo provedeno srovnání s s.c. nebo i.d. podáním?, d) interval mezi podáním nádorových buněk a terapeutickou vakcínou byl různý u různých vakcín - 1 den, 9 dní, dva týdny apod. Jaký k tomu byl důvod? Byl to nějak optimalizovaný interval vytvořený na základě přechozích pokusů?, e) pro ujasnění toho jak je terapeutická vakcína je účinná by bylo vhodné mít nejenom údaje o růstu nádoru, ale především o přežití myši tj. počtech tzv. Long Term Survivors (LTS). To je k dispozici jen u poslední publikace. Proč není tento důležitý údaj i u dalších publikací ?, e) nepokoušeli jste se opakovat podání nádoru vyléčeným myším (publikace 4), a to bez dalšího podání terapeutické vakcíny?

Závěrem konstatuji, že se jedná o kvalitní disertační práci, kterou RNDr. Katarína Babiarová prokázala schopnost samostatného tvůrčího myšlení a schopnost kriticky hodnotit výsledky

vlastního vědeckého bádání. S obratností se pohybuje v poměrně složité problematice a složitých interpretacích použité literatury. Má předpoklady pro samostatnou tvůrčí činnost, a proto s plnou odpovědností doporučuji odborné komisi, aby jí byl na základě předložené disertace udělen vědecký titul PhD.



6. září 2013

Prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc.