



Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Barbory Pokrývkové „Fenotyp a funkce buněk infiltrujících spinocelulární karcinomy hlavy a krku různé etiologie“

Barbora Pokrývková se ve své dizertační práci věnuje charakterizaci imunitního mikroprostředí nádorů hlavy a krku. Autorka v rámci práce využívala pokročilé metody jako je multispektrální imunohistochemie či hmotnostní cytometrie. Jednotlivé parametry byly hodnoceny se snahou nalezení potenciálních terapeutických cílů. Vzhledem k narůstající prevalenci pevných nádorů je toto téma v současnosti velmi aktuální.

Formální úroveň práce je velmi pěkná, včetně grafické a jazykové úrovně. V teoretické části autorka přehledně shrnuje charakteristiky nádorů hlavy a krku, základní znalosti o lidském papilomaviru, jako významném induktoru těchto nádorů. Část o mikroprostředí nádorů hlavy a krku shrnuje vliv jednotlivých imunitních buněk a také mechanismy působení hypoxie na progresi nádorů. Vzhledem k tomu, že významnou část projektu Barbory Pokrývkové tvořila optimalizace pokročilých metod studia nádorového mikroprostředí, jsou v dizertační práci tyto metody přehledně shrnuty. Text je jasný, kompaktně shrnuje současné znalosti, informace jsou čtenáři předkládány přehledně a jasně.

Hypotéza i cíle práce jsou definovány jednoznačně a detailně formulovány. V metodické části autorka popisuje metodické přístupy, nejsou zahrnuty v přiložených publikacích. Oceňuji i zahrnutí nepublikovaných výsledků, které se vzhledem k technickým obtížím nepodařilo dotáhnout do publikovatelného závěru. Přesto, nebo právě proto je tato část napsána méně přehledně a je zapotřebí většího soustředění, aby čtenář využitý metodický přístup pochopil. Použitá literatura zahrnuje dostatečný počet citací, které jsou ve správném formátu. Autorčina práce je založena na pokročilých metodických přístupech, jejichž kombinace umožňuje charakterizaci nádorového mikroprostředí především z hlediska zastoupení a lokalizace různých populací buněk. Optimalizaci těchto metod považuji za velký přínos práce.

Dizertační práce je založena na čtyřech článcích v odborných časopisech s IF. Ve dvou článcích je Barbora Pokrývková první autorkou (Diagnostics, 2021, IF = 3,992 a Biomedicines, 2022, IF = 4,7), ve dvou spoluautorkou (Journal of Immunology Research, IF=3.327 a Infectious Agents and Cancer, 2024; IF = 3,7), což je dobrým základem pro kvalitní dizertační práci. Dále je první autorkou

a spoluautorkou u dvou článků, které se nevztahují k tématu dizertační práce. Výsledky jednotlivých článků jsou v dizertační práci krátce shrnuty, včetně přesně definovaného podílu Barbory Pokrývkové.

K práci mám následující dotazy:

1. Autorka uvádí, že vzhledem k potřebě živých Treg pro potřeby supresivních esejí nebylo možné použít intracelulární znak Foxp3. Existují povrchové znaky, které by se ke zpřesnění izolace Treg daly použít?
2. Podobně je problém u makrofágů, u nichž je klasifikace do různých subtypů spíše umělá a pravděpodobně existuje spíše spektrum fenotypů, blížící se více či méně definovaným subtypům. Důležité jsou spíše funkční vlastnosti makrofágů nacházejících se v nádorovém mikroprostředí. Můžete navrhnout studie funkčních vlastností makrofágů ve vašich vzorcích?
3. V článku Pokrývková et al. 2022 autorka ukazuje na obr. 1, že ve vzorcích HPV-pozitivních nádorů je více T lymfocytů. Zároveň na obr. 2 ukazuje, v těchto nádorech je více PD-1 pozitivních T lymfocytů. Výsledky jsou ukázány jako počty buněk, kde větší počet PD-1 pozitivních T lymfocytů na obr. 2 není tak překvapivý vzhledem k vyššímu celkovému počtu T lymfocytů. Vyšší počet PD-1 pozitivních buněk je jistě důležité kritérium pro terapie, zajímavé by však bylo ukázat také procento CD4, nebo CD8 T lymfocytů pozitivních na PD-1, případně CTLA4. Vzhledem k rozdílům v celkovém počtu daných populací T lymfocytů by výsledné poměry by mohly vypadat jinak.
4. Liší se u pacientů s nádory hlavy a krku s etiologií HPV produkce cytokinů spojených s virovou infekcí, například interferonů?
5. Velmi zajímavé jsou výsledky získané studiem znaků hypoxie v nádorovém mikroprostředí. Je možné získané znalosti využít pro nastavení terapeutických postupů?
6. Na základě vašich znalostí v oboru, jaké parametry byste v ideálním personalizovaném případě považovala za vhodné sledovat pro nastavení nejvhodnější léčby nádorů hlavy a krku?

Celkově je posuzovaná práce kvalitní, splňuje všechny požadavky na dizertační práci. Mgr. Barbora Pokrývková předloženou prací prokázala, že se orientuje ve studované problematice a má

předpoklady k samostatné vědecké práci a schopnost kriticky zhodnotit získané výsledky. Proto doporučuji přijetí předložené dizertační práce a plně ji doporučuji k obhajobě.

V Praze 23.8.2024

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'K. Krulová', with a stylized flourish at the end.

Doc. RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.

Katedra buněčné biologie, Přf UK