



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta
BIOCEV
Průmyslová 595, 252 50 Vestec

Oponentský posudek disertační práce

Autor: Mgr. Martin Štach

Název: Zvyšování protinádorové účinnosti a zlepšování výrobních postupů T-lymfocytů nesoucích chimerické antigenní receptory.

Školitel: doc. MUDr. Pavel Otáhal, Ph.D.

Pracoviště: Ústav hematologie a krevní transfuze, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova

Cíle práce a hypotézy

Cíle práce se zaměřují na výrobní procesy T lymfocytů nesoucích chimerické antigenní receptory (chimeric antigen receptor – CAR) a na to, jak jejich imunofenotyp ovlivňuje protinádorovou efektivitu.

Jednotlivé cíle zahrnují 1) testování, jak specifické kombinace interleukinů (IL-4 + IL-7 + IL-21) v průběhu kultivace ovlivňují imunofenotyp CAR T-lymfocytů, 2) studium čtvrté generace CAR s indukibilní sekrecí IL-21, 3) testování výroby CAR T lymfocytů pomocí spojení transpozonového systému a elektroporace lineární DNA a mRNA, a 4) hodnocení imunofenotypu CAR T lymfocytů u léčených pacientů.

Formální hodnocení práce

Práce obsahuje rozsáhlý teoretický úvod. Metody a výsledky jsou nahrazeny publikovanými pracemi autora. Práce je pak doplněna diskusí výsledků. Vzhledem k počtu a kvalitě publikací se jedná o vhodné řešení struktury práce. V rámci výsledků bych pouze zahrnul samostatný komentář shrnující hlavní výsledky jednotlivých prací. Výsledky jednotlivých publikací jsou však shrnuty v rámci diskuse, což na druhé straně umožnilo hezké propojení výsledků s jejich komentářem a diskusí vzhledem k jiným dosud publikovaným studiím.

Formálně je práce na dobré úrovni. Vzhledem k využití umělé inteligence ke zlepšení gramatiky a čitelnosti práce není možné toto hodnotit. V rámci práce bych uvítal přesný popis toho, jakou formou, nástrojem, či programem a jakým přesně způsobem a u kterých pasáží práce byla umělá inteligence použita. Práce obsahuje množství převzatých ilustrací s jejich řádným citováním. Naprostá většina obrázků umožňuje toto převzetí dané formou jejich licence, avšak u některých toto není zřejmé (např. obr. 4, 7, 9, 17). Využití vlastních ilustrací by tak bylo výhodou, i když to naprosto není podmínkou kvalitní disertační práce.

Hodnocení jednotlivých částí práce

1. Literární přehled

Literární přehled je jak svou strukturou, tak obsahem velmi dobrý a poskytuje komplexní a plný přehled studované problematiky od principů a evoluce technologie T lymfocytů nesoucích chimerické antigenní receptory, přes detailní popis možností jejich produkce, až po přehled komerčně dostupných produktů. Velmi oceňuji i sekce týkající se nových možností kam studovanou technologií posunout.



2 Materiál a metody

Materiál a metody jsou součástí práce ve formě přiložených publikací, kde jsou zpracovány standardní formou.

3 Výsledky

Výsledky jsou součástí práce ve formě přiložených publikací, kde jsou zpracovány standardní formou.

4 Diskuse

Součástí diskuse je představení výsledků prezentovaných studií s jejich velmi relevantní a kvalitní diskusí ve vztahu k současným znalostem a technologiím.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení

Téma disertační práce je důležité a relevantní pro kontinuální rozvoj efektivní buněčné imunoterapie. Vytčené cíle práce považuji za splněné.

Autor ukázal, že 1) použití transpozonového systému ve spojení s elektroporací a kultivací CAR T lymfocytů za přítomnosti IL-4 + IL-7 + IL-21 umožňuje jejich dostatečnou produkci v účinném imunofenotypu, 2) CAR T lymfocyty s indukibilní expresí IL-21 mají lepší efektorovou funkci než srovnatelné bez této exprese, 3) CAR T lymfocyty vytvořené technologií s využitím linearizované DNA a mRNA transpozonového systému (jedná se o postup s jednodušším procesem schvalování pro klinické použití) jsou stejně účinné jako vyrobené standardním postupem s využitím plazmidové DNA, a 4) u reálných pacientů léčených CAR T lymfocyty jsou nižší expanze CAR T lymfocytů a nízké zastoupení „early-memory“ fenotypu T lymfocytů v aferetickém materiálu spojené s nižší účinností léčby.

Celkově je práce hezky zpracována a jako velmi zdařilou hodnotím i obsahovou a rozsahovou formu literárního úvodu a diskuse. Autor práce prokázal, že je schopen úspěšně provádět komplexní a technicky náročné experimenty a jejich výsledky dobře a relevantně interpretovat a diskutovat ve vztahu k biologii a dostupným studiím. **Práci tak jednoznačně doporučuji k obhajobě.**

Dílicí připomínky k práci a otázky do diskuse

1. Jakým způsobem a s pomocí jakých nástrojů byla v rámci přípravy práce použita umělá inteligence? Kterých sekcí práce se to týká?
1. V rámci publikace Štach et al., 2020 jsou studovány CAR T lymfocyty s indukibilní expresí IL-21 po jejich aktivaci. Byly zkoušeny CAR T lymfocyty se stabilní expresí IL-21?
2. V rámci publikace Štach et al., 2023 autor ukázal, že vyšší zastoupení „early memory“ T lymfocytů v aferetickém materiálu koreluje s dobrou odpovědí na léčbu. Zároveň však nebyla nalezena korelace imunofenotypu vytvořených CAR T lymfocytů. Jak si toto autor vysvětluje?
3. Který z nejnovějších typů CAR se jeví jako nejslibnější pro léčbu hematologických malignit?
4. Je *in vivo* produkce CAR T lymfocytů klinicky testována?

Ve Vestci 12.11.2024



doc. MUDr. Ondřej Havránek Ph.D.



Tel.:
+420-2-2496 5901

Fax:
+420-2-2491 2834

VAT No.:
001-00216208

E-mail:
biocev@lf1.cuni.cz