

Oponentský posudek na dizertační práci

Identifikační údaje

K oponentskému posudku byla předložena práce **MUDr. Jaroslava Michálka**

Práce má název:

Prognostické faktory nádorů hlavy a krku se zaměřením na kostní invazi

Práce byla vypracovaná v roce 2019 a je podkladem pro doktorandské řízení v oboru patologie

Původnost habilitační práce

Doktorandská dizertační práce je původní. Vznikla na základě získaných výsledků nemocných v rámci činnosti autora na Ústavu klinické a molekulární patologie LF a FN v Olomouci se spoluprací s dalšími odbornými zařízeními těchto institucí.

Rozbor práce a dokumentace

Práce sestává z textové části, která má 67 stran, obsahuje 10 obrazů, 13 tabulek a 9 grafů.

Literárních citací je uvedeno 156.

Je napsána v českém jazyce, formou počítačové kopie a opatřená pevnou vazbou.

Je členěna do 9 kapitol včetně literatury, je vzorně upravena, bez větších chyb a překlepů, přehledně a správně označena. Vyskytuje se však několik špatně oddělených slov a částí vět.

Obecná část

Úvodní kapitola je věnována obecným poznatkům o etiologii spinaliomu, prekancerózám dutiny ústní a orofaryngu a histopatologickým prognostickým faktorům jako jsou velikost nádoru, hloubka invaze, nádorový grading, perineurální a vaskulární invaze, nebo histopatologický podtyp spinaliomu. resekční okraje nádoru, uzlinové metastázy a samotná invaze do skeletu.

V této kapitole autor rovněž význam molekulárních prognostických faktorů (p53, faktory související s angiogenezí, Ki-67, EGFR, Cytokeratin 8/18, HPV)

Obecná část je popsána správně a přehledně, uvedené informace jsou uvedeny dostatečně srozumitelně, není k nim žádných připomínek.

Vlastní práce

Cílem práce je jednak srovnání typu kostní invaze ve vztahu k histopatologickým (stupeň diferenciacie nádoru, velikost nádoru, postižení regionálních lymfatických uzlin) a klinicko-patologickým faktorům (výskyt pooperačních recidiv, 5leté přežití nemocných). Dále autor porovnává typ kostní invaze, nádorový grading a stupně postižení lymfatických uzlin ve vztahu k molekulárním prognostickým faktorům detekovaným imunohistochemicky – p53, Ki-67, CD34 (mikrovaskulární denzité).

Metodika

V dizertační práci jsou zpracována klinická data 49 nemocných léčených v letech 2005-2014 se spinocelulárními karcinomy dutiny ústní a orofaryngu s propagací do čelistních kostí ve stádiích onemocnění II-IV, u kterých bylo na Klinice ústní, čelistní a obličejové chirurgie LF UP a FNOL provedeno radikální chirurgické odstranění nádoru doplněné částečnou resekci horní nebo dolní čelisti. Preparáty byly odvápňeny pomocí standardních dekalcificačních roztoků (DC1, Krutsey) a následně retrospektivně vyhodnoceny jedním patologem. Vyhodnocené histopatologické parametry byly následně srovnávány s expresí vybraných imunohistochemických prognostických markerů. Pro stanovení exprese sledovaných znaků byla použita nepřímá imunohistochemická metoda s využitím protilátek anti CD34, Ki-67, p53. V případě CD34 byla hodnocena mikrovaskulární denzita peritumorózně na hranici s nenádorovou tkání v oblasti invazivního čela nádoru a dále v nádorovém stromatu intratumorózně. Hodnocen byl průměrný počet CD34 pozitivních cév na 1 velké zorné pole (HPF) v místech tzv. „hot spots“. Ki-67 bylo hodnoceno jako procentuální zastoupení pozitivních nádorových buněk ze všech nádorových buněk, p53 jako mutovaný nebo „wild type“.

V této kapitole autor přehledně popisuje náročnost vlastního zpracování kostních preparátů, včetně významu precizního blokování kosti a její přípravy na vlastní vyhodnocení z hlediska histopatologického a molekulárního.

Výsledky a závěry

Z výsledků vyplývá, že paralelně se vzrůstajícím stadiem nádorového onemocnění narůstá četnost negativních histopatologických prognostických znaků, jako jsou maximální hloubka invaze, nádorový grading, vzdálenost od resekčního okraje, perineurální šíření, postižení regionálních lymfatických uzlin včetně ECS. V této části práce autor posuzuje vztah vybraných imunohistochemických prognostických markerů (CD34, Ki-67, p53) s typem kostní invaze a s dalšími klinicko-patologickými znaky.

Mikrovaskulární denzita (MVD) stanovená pomocí markeru CD34 byla hodnocena jak peritumorózně, tak intratumorózně. Aktivita **peritumorózní** MVD byla konstantní nejen u karcinomů s/bez kostní invaze, ale také u jednotlivých typů kostní invaze. Naopak aktivita

intratumorózní MVD byla jednoznačně zvýšená u spinaliomů s infiltrativním růstem v porovnání se spinaliomy propagujícími se do kosti erozivním či smíšeným typem.

Nebyla dále prokázána zvýšená proliferální aktivita Ki-67 a četnost mutovaného p53 u spinaliomů dutiny ústní a orofaryngu propagujících se do kosti.

Naopak byla prokázána korelace mezi nádorovým gradem a peri/intratumorózní mikrovaskulární denzitou (MVD). Dále se prokázala zvýšená četnost mutovaného p53 a Ki-67 se zvyšující diferenciací nádoru.

U nemocných s pozitivními metastatickými uzlinami byla prokázána zvýšená aktivita MVD a Ki-67 a zvýšená frekvence mutovaného p53.

Vědecký přínos dizertační práce

V úspěšnosti přežití nemocných s nádory dutiny ústní a orofaryngu hraje významnou roli nejen včasnost a dostatečná radikalita výkonu, ale také správně a precizně stanovený histopatologický staging.

Autor těmito poznatky jasně dokazuje důležitost podrobně odečteného histologického preparátu, který předurčuje nejen vlastní radikalitu chirurgického výkonu, ale také podává důležité poklady potřebné v následné terapeutické rozvaze, jejím režimu a délce.

Uvedené poznatky podávající klinikovi informace o celkové povaze nádoru a jsou proto rovněž důležité k vlastní dispenzarizaci nemocného.

Autorovy znalosti a celkovou orientaci v onkologii nádorů dutiny ústní a orofaryngu považují za velmi dobré, svou trpělivou prací významně přispívá do rozběhlé mezioborové spolupráce.

Citovanost literárních pramenů je dostatečná, nedošlo k opomenutí žádného významného sdělení.

Celkové hodnocení práce

Předloženou práci považují pro závažnost a aktuálnost onemocnění za velmi potřebnou a přínosnou, zvláště v době, kdy se frekvence výskytu spinaliomů dutiny ústní a orofaryngu zvyšuje zejména u jedinců v mladších věkových skupinách. Tato problematika vyžaduje komplexní terapeutický přístup a vysokou kvalifikaci lékařského týmu na všech úrovních komplexní onkologické léčby. Výsledky dokumentované a předložené v dizertační práci plně mají vysokou výpovědní hodnotu a jsou srovnatelné s výsledky jiných zahraničních pracovišť.

Dotazy na autora

1. Považujete za perspektivní určení exprese EGFR jako molekulárního prognostického faktoru předurčujícího citlivost nádoru na radioterapii?
2. Je možné stanovit **intratumorózní** aktivitu (MVD) u spinaliomů s infiltrativním růstem do kostí orofaciálního skeletu již na základě biopsie?

Závěr

Doktorandská dizertační práce MUDr. Jaroslava Michálka odpovídá svým rozsahem a obsahem ustanovením Zákona o vysokých školách (č.111/1998) a podle článku 3 odstavce 7b Řádu habilitačního řízení na Univerzitě Palackého v Olomouci nárokům na doktorandskou dizertační práci.

Doporučuji proto, aby tato doktorandská dizertační práce MUDr. Jaroslava Michálka byla přijata k obhajobě a v případě úspěšné obhajoby mu byl udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D.

V Olomouci 14. července 2019

doc. MUDr. et MUDr. Richard Pink, Ph.D.

OPONENTSKÝ POSUDEK DIZERTAČNÍ PRÁCE

Autor: **MUDr. Jaroslav Michálek**

Pracoviště: Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta, Ústav klinické a molekulární patologie

Studijní obor: Patologická anatomie a soudní lékařství

Název práce: **Prognostické faktory nádorů hlavy a krku se zaměřením na kostní invazi**

Školitelka: doc. MUDr. Svetlana Brychtová, Ph.D

Předkládaná dizertační práce byla vypracována na Ústavu klinické a molekulární patologie v kooperaci s kolegy z Kliniky ústní, čelistní a obličejové chirurgie LF UP a Ústavu biofyziky LF UP v Olomouci. Práce tedy byla pojata jako mezioborová, což lze jen ocenit.

Volba a aktuálnost tématu

Dizertační práce zahrnuje dva hlavní tematické okruhy: 1) posouzení vlivu typu kostní invaze u orálních spinocelulárních karcinomů na výskyt recidiv, 5-leté přežití, postižení regionálních lymfatických uzlin a další klinicko-patologické faktory a 2) vztah vybraných imunohistochemických markerů (p53, Ki-67 a CD34) k dalším klinicko-patologickým znakům, jako je nádorový grade, postižení regionálních lymfatických uzlin, a k typu kostní invaze.

Zaměření výzkumu na klinicko-patologické a prognostické znaky spinocelulárního karcinomu dutiny ústní, tohoto mimořádně agresivního a terapeuticky obtížně ovlivnitelného zhoubného onemocnění, je vhodné a velmi aktuální. Z tohoto hlediska je volbu tématu dizertační práce nutné jednoznačně ocenit.

Formální úprava disertační práce

Dizertační práce má celkem 103 stran textu, včetně obsáhlého výčtu použité literatury zahrnujícího 156 převážně recentních citací, což ukazuje na výbornou orientaci uchazeče v dané problematice. Na konec spisu je zařazen seznam 10 původní vědeckých publikací, 2 článků přehledových a 3 posterů. Součástí práce je rovněž 13 přehledných tabulek, 9 grafů a 9 obrázků umístěných přímo do vlastního textu. Z nepochopitelného důvodu jsou na konec spisu zařazeny

fotokopie 5 publikací, které nesouvisejí s tématem dizertace a v nichž není dizertant prvním autorem. Z pohledu oponentky by bylo vhodnější zařadit kopie vlastních prvoautorských článků vztahujících se přímo k tématu dizertačního spisu.

Práce je členěna standardním způsobem do pěti logicky navazujících kapitol a je velmi čtivě napsána jazykem vysoké úrovně s nečetnými překlepy, kterých bylo lze se v době možnosti automatických oprav v textových editorech snadno vyvarovat.

Úvod

V úvodní kapitole autor seznamuje čtenáře s dosud známými poznatky o studované problematice. Celkové zpracování této kapitoly je velmi detailní a uvádí čtenáře srozumitelným způsobem do řešeného tématu.

Cíle studie

Deklarovanými cíly dizertační práce je 1) posouzení vybraných prognostických histologických znaků orálních spinocelulárních karcinomů a prognostického vlivu typu kostní invaze a 2) srovnání typu kostní invaze, nádorového gradu a postižení lymfatických uzlin ve vztahu k molekulárním prognostickým znakům definovaným imunohistochemickou expresí markerů p53, Ki-67 a CD34.

Klinicko-patologická analýza vlastního souboru 49 nemocných se spinocelulárními karcinomy dutiny ústní je jasně definovaná a výsledky dokazují, že stanovené cíle byly splněny a že celá dizertace splnila svůj účel.

Materiál a metodika

V rámci řešení prvních dvou cílů dizertační práce, tedy přehledové zpracování klinicko-patologických a prognostických znaků spinocelulárních karcinomů dutiny ústní a posouzení prognostického vlivu typu kostní invaze, chybí detailní popis vyhledávání literárních zdrojů. Např. ze kterých databází byly publikace čerpány nebo zda byla nějaká omezení pro zařazení publikace jako citačního zdroje (design studie, počet vyšetřovaných případů/nemocných, rok zveřejnění publikace apod.). Práce s referencemi není v předkládaném spisu optimální, např. kumulované reference 38-52 (str. 12) se přímo nevztahují k hypotéze, „že vztah mezi perineurální invazí a prognózou je nezávislý na průměru nervu“. Podobně nepřesné užití citací nacházím na

str. 13 předkládaného spisu, kde by bylo vhodnější kumulovanou citaci 55-69 rozdělit podle podtypu karcinomu. Dále na str. 18 chybí v textu číselný odkaz ke studii Shibihara et al (2005). Podobně, citace chybí za větou „nedávné studie dále potvrdily, že rakovinové buňky....“ str. 18 spisu.

Metodika klinicko-patologické analýzy vlastního souboru nemocných se spinocelulárními karcinomy dutiny ústní je adekvátní.

Kriticky se musím vyjádřit ke kvalitě mikrofotografií, i když připouštím, že to je okolnost dizertačního spisu, kterou pravděpodobně nemohl dizertant přímo ovlivnit.

Výsledky, diskuze a závěr

V této části dizertační práce jsou koncisně uvedeny histologické a klinicko-patologické prognostické znaky, které byly sledovány ve vztahu ke stadiu nádorového onemocnění. Vlastní výsledky se především týkají prognostických faktorů u pacientů léčených ve IV. stadiu, a to porovnání s typem kostní invaze.

Z klinického hlediska lze vyzvednout především nález statisticky významně signifikantního vztahu mezi typem kostní invaze a nádorovým gradem a průkaz významného rozdílu v přežití pacientů ve vztahu k typu kostní invaze. Z klinického pohledu je zásadní závěr, že infiltrativní typ kostní invaze je spojen s velice špatnou prognózou, a měl by být popisován rutinně jako podklad pro stratifikaci pacientů s dopadem na léčebnou strategii.

Otázky pro uchazeče

V souvislosti s předloženou prací mám na autora následující dotazy:

1. Do sledovaných patologických parametrů bylo však možné zařadit „budding“, (ref. Mäkitie AA et al. *Head Neck*, 2019 Jul 22. doi: 10.1002/hed.25872) nebo tumor infiltrující lymfocyty (ref. Heikkinen I, et al. *Am J Surg Pathol*, 2019 Jul 8. doi: 10.1097/PAS.0000000000001323). Jaký má autor předložené dizertační práce názor na eventuelní prognostický význam výše uvedených znaků?
2. Z jakého zdroje vycházel autor při definici vaskulární invaze (str. 12 dizertačního spisu) ? Podle některých autorů (např. Mete et al, *Mod Pathol* 2011;24:1545-1552 nebo Skalova

et al, *Am J Surg Pathol*; 2012;36:1674-1682) není vždy pouhá přítomnost nádorových buněk dostatečná pro definici vaskulární invaze.

Celkové zhodnocení

MUDr. Jaroslav Michálek předložil pečlivě vypracovanou dizertační práci. Autor prokázal hluboké teoretické znalosti studované problematiky a jím vytčené cíle dizertační práce byly splněny. Autor osvědčil své schopnosti samostatně vědecky pracovat a kriticky hodnotit dosažené výsledky. Lze předpokládat, že uchazeč bude v započaté vědecko-výzkumné práci nadále úspěšně pokračovat.

Dizertant uvedl v přehledu vlastní literatury pouze dva prvoautorské články, oba s poznámkou „přijato k publikaci“, pouze jeden z nich má **IF 1,087**. Další prvoautorskou publikaci jsem na Medline neobjevila. Nicméně, posouzení splnění publikačních kritérií patří do kompetence oborové rady a komise pro obhajoby, nikoli oponenta.

MUDr. Jaroslav Michálek splnil všechny požadavky kladené na dizertační práci stanovené a doporučuji ji k obhajobě. Na základě úspěšné obhajoby, navrhuji aby mu byl udělen titul doktor ve zkratce Ph.D. podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Plzni 28.7.2019