

## **Posudek dizertační práce MUDr. Markéty Kolečkové k získání titulu Ph.D. Nové markery diagnostiky a progresu „triple“ negativních karcinomů prsu.**

### **Charakteristika práce:**

Dizertační práce přiměřeného rozsahu (bez příloh 117 stran), zahrnuje kvalitně zpracovaný a rozsáhlý teoretický úvod obsahující nejen diagnostické, léčebné a histopatologicko-diagnostické přístupy, ale i nejnovější klasifikace, definující hlavní molekulární subtypy mammárního karcinomu a z nich vyplývající terapeutické postupy.

Práce obsahuje vytyčení cílů, popis použitých metodik, *in extenso* podané výsledky a závěrečnou diskuzi včetně seznamu citované literatury (více než 300 prací). Přílohy obsahují publikace v recenzovaných časopisech.

### **Zvolené téma, jeho aktuálnost a význam pro obor:**

Karcinom mléčné žlázy zůstává v popředí onkologického výzkumu. Zkoumání molekulárních mechanismů spojených s progresí, prognózou a léčebným ovlivněním tohoto onemocnění je v současné době mimořádně intenzivní. Pro uchazečkou vybranou skupinu triple negativních karcinomů prsu (TNBC) to platí dvojnásobně – absence molekulárních cílů pro moderní terapii je palčivou otázkou dneška.

### **Splnění vytčených cílů:**

Dizertační práce předloženými výsledky zcela naplnila sledované cíle. Publikační výstupy v recenzovaných časopisech (včetně časopisů s IF) jsou toho dokladem.

### **Metodiky a postup řešení problému:**

Zvolena je široká paleta metodik od klasické histomorfologie přes imunohistochemii až k čipovým analýzám nekódujících RNA a následným *in situ* hybridizacím vybraných slibných miRNA. Výsledky práce jsou hodnoceny standardními metodami biomedicínského výzkumu, statistické zpracování a zhodnocení výstupů je správné.

### **Výsledky a význam práce, konkrétní přínos předkladatele:**

Zpracování souboru terapií neovlivněných TNBC metodami klasickými i zcela inovativními přináší nové poznatky o charakteristice těchto méně častých nádorů, diskutuje jejich možné prognostické a terapeutické dopady. Jde o práci, přispívající k novému poznání v této oblasti onkologie a onkopatologie.

Přínos předkladatelky při realizaci těchto výzkumných aktivit je, soudě podle prvoautorství zásadních publikačních výstupů, stěžejní.

### **Vyjádření k formální úpravě a jazykové úrovni:**

Jazyková úroveň je velmi dobrá, práce je psána srozumitelnou češtinou, v některých částech textu jsou bohužel četné typografické chyby. Kvalita ilustrací je kolísající, histologické obrázky s velkým zvětšením by měly mít vyšší rozlišení. Některé grafy jsou málo přehledné, zkrácené barevné podání při tisku snižuje výpovědní hodnotu grafického výstupu.

### **Kritické poznámky:**

Teoretický úvod - jak v části obecné, tak v části věnované TNBC - je místy obsahově nevyvážený, některým kapitolám je věnován velký prostor (např. p53), jiným naopak velmi skromný (např. miRNA). Návaznost na dědičné dispozice ke vzniku karcinomu prsu je u jednotlivých molekul / změn pojednána nesystematicky.

V metodikách je ve druhé tabulce použitých imunohistochemických reagensů ve sloupci 2 promíšen typ použitého DAB substrátu a typ použitého demaskování antigenu.

Metodika hodnocení intenzity tumor infiltrujících lymfocytů (TIL) je popsána nejasně, nelze jednoznačně pochopit, jaký postup autoři zvolili, konkrétně zda hodnotili souhrnně všechny TIL v nádoru i v jeho okolí, či zda tyto kompartmenty hodnotili separovaně. Ve výsledcích se toto rozdělení objevuje pouze v jediném místě.

V kapitole výsledků mně osobně velmi chybí přehledná tabelární prezentace získaných dat, kontingenční tabulky apod.

Ve studii prakticky nejsou použita žádná klinická data. Menopauzální status je pouze odhadován na základě věku pod / nad 50 let, nejsou získána žádná data o přežití. Absence multioborového přístupu k tématu je bohužel slabým místem předkládané práce.

Ojediněle se vyskytují nelogické aplikace statistiky (např. v části věnované rozdělení konsekutivního souboru karcinomů prsu do molekulárních subtypů jsou učiněny statistické analýzy korelace subtypů s ER a Her-2 stavem či proliferačním indexem Ki 67, což jsou ale parametry, které právě rozdělení do subtypů definují).

**Dotaz na předkladatelku:**

Proveďte prosím srovnání vlastních výsledků analýzy exprese PD-L1 na nádorových a imunitních buňkách u TNBC s literárními údaji.

Jakým způsobem jste vybírali miRNA k provedení in situ hybridizací?

**Souhrnné hodnocení:**

Dizertační práci doporučuji k obhajobě. Doporučuji, aby na základě úspěšné obhajoby byl předkladatelce udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

MUDr. Pavel Fabian, Ph.D.

V Brně dne 15. 11. 2019

## **Oponentský posudek dizertační práce**

**Autor: MUDr. Markéta Kolečková**

**Studijní program: Doktorský studijní program Patologie**

**Studijní obor: Patologická anatomie a soudní lékařství**

**Ústav klinické a molekulární patologie Lékařské fakulty UP a Fakultní nemocnice**

**Olomouc**

**Školitel: prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc.**

**Název práce: Nové biomarkery diagnostiky a progresu „triple“ negativních karcinomů prsu**

### **Předmět dizertace**

Dizertační práce je věnována problematice „Triple“ negativních karcinomů prsu (TNBC) se zaměřením na morfológickou a genetickou heterogenitu a biomarkery.

### **Formální členění a úprava práce**

Dizertační práce se skládá z kvalitně zpracovaného teoretického úvodu v rozsahu 52 stran textu, který nejprve popisuje obecnou problematiku kancerogeneze, vývoj a morfogenezi, epidemiologii karcinomů prsu a v druhé polovině je pak již zaměřen na „Triple“ negativní karcinomy prsu (TNBC), zejména na jejich klasifikaci, prognostické a prediktivní znaky.

Teoretická část je podrobně popsána, dobře strukturovaná a autorka prokázala široký přehled o dané problematice. Na 45 stranách textu jsou pak prezentovány metodika a vlastní výsledky studie a 12 stran je věnováno diskuzi a závěru.

Jazyková úroveň je dobrá, práce je psána srozumitelnou češtinou. Zatížení překlady (str. 31 „tomoxifenu“, str. 32 „lumbálních“, str. 104 „nižší“...) nepřesahuje únosnou míru. Formální členění práce je standardní a přehledné.

Vše je doplněno přehlednými tabulkami, grafy a fotografiemi. Citovaná literatura představuje 303 prací se vztahem k dané problematice.

### **Rozbor práce**

Práce autorky představuje analýzu 58 případů neoadjuvantní chemoterapií neovlivněných „Triple“ negativních karcinomů prsu (TNBC) získaných z excizí/resektátů.

Při hodnocení buněk imunitního systému, imunitních markerů a nádorových kmenových buněk byla nalezena signifikantní korelace ve vztahu k některým nádorovým charakteristikám. Dále se autorce podařilo potvrdit heterogenní expresi miRNA ve vztahu k určitým buněčným typům, nádorové morfologii, množství TIL a nádorovým metastázám.

Při hodnocení věkové závislosti prognostických a prediktivních znaků výsledky práce potvrdily korelaci nižšího věku s agresivnějšími a méně diferencovanými nádory. Dosažené výsledky mohou napomoci přesnější stratifikaci pacientek z hlediska prognózy a potenciální cílené terapie. Dizertační práce předloženými výsledky naplnila sledované cíle. Výsledky práce byly publikovány v impaktovaných a recenzovaných časopisech a prezentovány na mezinárodních fórech.

### **Otázky oponenta**

1. Autorka uvádí, že při hodnocení markerů PD-1 a PD-L1 byla posuzována membránová či cytoplazmatická pozitivita. Byly při hodnocení exprese PD-L1 zaznamenány případy s pouze izolovanou cytoplazmatickou pozitivitou nádorových buněk? A pokud ano, byly tyto buňky hodnoceny jako pozitivní?
2. Zvažovala jste při hodnocení tumor infiltrujících lymfocytů využití obrazové analýzy?

## **Závěr**

Dizertační práce je zdařilá, kvalitně zpracovaná a svědčí o velmi dobré orientaci autorky v dané problematice. Výstupy autorky jsou dobře interpretované, potvrzují a zároveň rozšiřují současné poznatky o biomarkerech „Triple“ negativních karcinomů prsu, které by mohly být v budoucnu využitelné z hlediska diagnostické a terapeutické strategie. Dizertační práce prokázala předpoklady autorky k samostatné vědecké práci. Po úspěšné obhajobě doporučuji udělení titulu "Ph.D." za jménem.

Doc. MUDr. Kristýna Němejcová, Ph.D.  
Ústav patologie 1. LF UK a VFN  
Studničkova 2  
128 00 Praha 2

V Praze 10.11.2019 .....  
podpis