

Oponentský posudek dizertační práce: Doc.MUDr.Petra Tesařová,Csc

Mgr. Vladimíra Koudeláková:

Cytogenetické změny u nemocných se solidními nádory

Detekce prognostických parametrů nádorového onemocnění zpřesňujících odhad prognózy a umožňujících lepší zacílení adjuvantní onkologické léčby, tvoří značnou část náplně onkologického výzkumu. Počet pacientů se solidními zhoubnými nádory celosvětově stoupá. Přes všechny pokroky v onkologické léčbě je protinádorová terapie, zvláště v adjuvantní indikaci, stále málo individualizovaná. Jedinou možností, jak se vymanit z léčebné konfekce v onkologii, je možnost detekce biomarkerů na molekulárně biologické úrovni. U těch nádorů, kde je možné využít zacílení terapie, jako je například HER2 pozitivní karcinom prsu, jsou léčebné výsledky, i u této prognosticky nepříznivé skupiny nemocných, výrazně lepší.

Práce má 152 stran, je rozdělená do sedmi kapitol, které se v rámci logického členění věnují nejprve teoretickým informacím o karcinomu prsu a dalších nádorech se známými prediktivními markery, potom údajům o cílech experimentu a jeho výsledcích v jednotlivých podskupinách. Následuje podrobný rozbor výsledků s diskuzí v rámci souhrnu. Vlastní studii doplňuje bohatá literatura a také seznam vlastních publikací autorky. Práce je zakončena přílohami 3 klíčových publikací, dotýkajících se v práci studovaného tématu..

Vlastní výzkumná práce má jasně stanovené cíle, dobře zpracovanou metodiku, výběr pacientů, proces odběru klinického materiálu a jeho zpracování i statistické metody. Přehledně uvedené výsledky výzkumu jsou široce diskutovány s použitím nejnovějších literárních informací, týkajících se problematiky cytogenetických změn u solidních nádorů. Výsledky jsou dále dokumentovány grafy a tabulkami v kopiích originálních publikací. Text je doplněn citacemi 96 recentních publikací k tématu i seznamem bohaté publikační aktivity autorky v průběhu postgraduálního studia. Práce je napsaná přehledně, logicky členěná, hezkou češtinou, téměř bez překlepů a gramatických chyb.

Autorka prokázala, že je možné zpřesnit molekulárně biologickou detekci u HER2 pozitivních karcinomů prsu. U nemocných, u kterých selhala metoda FISH při vyšetření HER2 overexprese, zavedla metodiku real-time PCR, srovnávající počet kopií genu HER2 a tří kontrolních referenčních genů (GSC1, DCK a EPN2). Senzitivita a specificita metody byla ověřena na souboru 223 pacientek s invazivním karcinomem prsu a dále využita u 198 vzorků, u kterých selhala metoda FISH. Další zavedenou metodou bylo stanovení polysomie chromozomu 17, na základě určení počtu kopií chromozomu 17, pomocí 17p11.2 sondy. Touto metodou byl HER2 status reklasifikován u 20% původně HER2 negativních nebo hraničních nemocných, což změnilo jejich možnosti léčby a tedy také prognózu. U triple negativních nemocných se ukázala vysoká exprese bcl2 proteinu jako nezávislý prediktor špatné odpovědi na antracykliny.

Hodnocení oponenta:

- a) Zvolené téma je vysoce aktuální a je zcela v souladu s moderními trendy onkologického výzkumu, jehož výstupy mají zlepšit individualizaci léčby zhoubných nádorů jednotlivých pacientů.

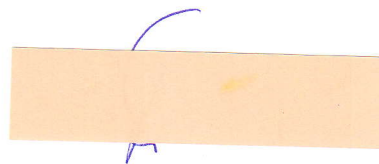
- b) Práce měla jasně vytyčené cíle, které beze zbytku splnila
- c) Metody zpracování využívané v rámci výzkumu odpovídaly moderním výzkumným technikám. Zárukou kvality výzkumu bylo i pracoviště kandidátky s dlouholetou výzkumnou tradicí, podpořenou vysoce kvalitní publikační aktivitou školitele i spolupracovníků
- d) Autorka v nově zavedených metodách rozšiřuje a zpřesňuje prediktivní a prognostickou diagnostiku u karcinomu prsu-
- e) Výsledky klinického výzkumu magistry Koudelákové, mají bezprostřední praktický klinický výstup . Přesnější informace o přítomnosti prediktoru umožňuje lépe zacílit léčbu a zajišťuje, že nedojde k opomenutí využití účinné léčby u nemocné s karcinomem prsu, nebo naopak, v případě triple negativních nádorů, nebudou pacientky zbytečně léčeny neúčinnou a toxickou léčbou..

f) Dotazy na dizertantku:

- 1) U HER2 pozitivního karcinomu prsu došlo v diagnostice v posledních letech k obrovskému vývoji. Je možné, že se diagnostika postupně rozšíří i na možnost detekce rezistence k léčbě anti HER2 terapií u HER2+ karcinomů, nebo diskriminaci pravděpodobné účinnosti podle typu a míry genetických změn?
- 2) Cytogenetické změny u zhoubných nádorů jsou nepochybně dobrým terapeutickým cílem. V současné době nabízí řada soukromých subjektů nemocným za úplatu vytvoření cytogenetického profilu nádoru. Je taková investice pro nemocného smysluplná?

g) Závěr oponentského posudku:

Vzhledem k nesporné kvalitě předložené práce i soustavné publikační aktivitě dizertantky **jednoznačně doporučuji práci k obhajobě podle § 47 VŠ zákona 111/98.** Magistra Koudeláková splňuje všechny požadavky kladené na dizertanta a jeho výzkumnou aktivitu v oboru klinická onkologie.



V Praze dne 24.8.2015

Doc. MUDr.Petra Tesařová, Csc
Onkologická klinika 1.LF UK a VFN
Praha

Posudek disertační práce Mgr. Vladimíry Koudelákové

Disertační práce **“Cytogenetické změny u nemocných se solidními nádory“** o celkovém rozsahu 141 stran je standardně členěna: 1. úvod, 2. experimentální část s cílem, komentářem k výsledkům a výsledky formou přiložených publikací, 3. souhrn/summary, 4. seznam použité literatury, 5. přehled publikací autora- původní a přehledové práce, kapitoly v knihách a publikovaná abstrakta, 6. přílohy, na začátku práce autorka uvádí seznam použitých zkratk.

I když název práce zahrnuje cytogenetické změny u solidních nádorů, práce je zaměřena především na problematiku karcinomu prsu. Nádorové prediktivní márkry v současné době vyšetřované u ostatních solidních nádorů (karcinomu žaludku, nemalobuněčného karcinomu plic, kolorektálního karcinomu, maligního melanomu a GiSTu) autorka rozebírá v teoretické části a neřeší je na úrovni experimentální.

Disertační práce se soustřeďuje na klinicky významné onkologické téma, jak z hlediska četnosti mamárních karcinomů, tak z hlediska hledání cílené efektivní terapie na základě molekulárních znaků jednotlivých typů mamárních karcinomů.

Cíle práce byly formulovány jednoznačně, týkaly se: 1. optimalizace metodiky vyšetření kopií HER2 genu, kde selhala in situ hybridizace, 2. objasnění výskytu polysomie chromozomu 17, 3. hledání biomarkerů pro predikci účinné terapie u pacientek s TNBC.

Cíle byly splněny, viz. doložené publikace s komentářem. 1. byla otestována triple duplex qPCR metoda pro stanovení kopií HER2 v tkáňových vzorcích fixovaných formalínem a zalitým do parafínu jako alternativní metoda pro vzorky, kde selhala ISH. 2. bylo stanoveno několik márkřů pro analýzu chromozomu 17 ISH, které mohou zhodnotit polysomii 17, přičemž pravá polysomie je vzácná – autorka detekovala pod 1% karcinomů prsu. 3. byla imunohistochemicky vyšetřena exprese 5 márkřů (BCL-2, EGFR, MYC, TOP2A a Ki-67), stanoven počet kopií genu EGFR, MYC, TOP2A a chromozomů 7, 8 a 17 pomocí FISH. BCL-2 proteinová exprese byla nelezena jako jediný nezávislý prediktor špatné odpovědi pacientek s TNBC léčených adjuvantní antracyklinovou terapií. Pro potvrzení a zavedení BCL2 jako prediktivního márkru do praxe je však zapotřebí velké validační studie. Autorka prokázala zkušenosti s řadou molekulárně-genetických metod, použité metody jsou adekvátní. Práce je přehledně uspořádána, jazyková a formální úprava je dobrá. Drobná poznámka k doplnění zvětšení u doložených mikrofotografií a malá velikost písma (větší velikost písma/formátu práce by zpříjemnily její čitelnost). Také by bylo vhodné doplnit v rámci komentovaných výsledků, zda statickou analýzu prováděla autorka sama nebo ve spolupráci se statistikem, rovněž se to týká analýzy imunohistochemických dat.

Autorka předkládá několik publikovaných původních prací v časopisech s IF a další odeslané do časopisu s IF. Následuje vysoký počet publikovaných abstrakt přednášek a posterů.

Na autorku mám dva dotazy: 1. v klinické praxi se setkáváme s případy nízce diferencovaného tumoru žaludku nebo jeho metastáz nesoucí nejednoznačné charakteristiky karcinomu a zároveň stromálního tumoru (imunohistochemické vyšetření je v df. dg. nekonkluzivní). Genetické vyšetření prokáže mutaci c-kit genu, tedy márkru v současné době považovaného za specifický pro dg. GiSTu. Je známo, zda c-kit mutace se mohou vyskytnout i u nádoru epitelového původu, tedy karcinomu? Je publikována práce analyzující mutaci c-kit u GiSTu versus karcinomů gastrointestinálního traktu?

2. Jedna skupina TNBC dle „Lehman klasifikace“ je označována jako LAR, tedy charakterizovaná expresí androgenového receptoru, z literárních údajů jsou zatím výsledky antiandrogenní terapie u této skupiny nevýrazné, má autorka k dispozici předběžné informace ze souboru pacientek s TNBC FN Olomouc ohledně zvažované antiandrogenní terapie pro tuto malou skupinu, případně předběžné výsledky?

Předloženou disertační práci doporučuji k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby udělení akademického titulu doktor ve zkratce PhD, dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Posudek vypracovala:

MUDr. A. Hlobilková, PhD.
Odd. onkologické patologie MÓÚ
Žlutý Kopec 7
656 53 Brno

18. 8. 2015, v Brně