

OPONENTSKÝ POSUDEK

Disertační práce Mgr. Aleny Burdové,
studentky kombinované formy doktorského studijního programu na LF UP Olomouc, zpracované
na téma:

Stanovení fúzního genu *TMPRSS2-ERG* u nádoru prostaty, jeho význam a souvislosti s dalšími sledovanými faktory

Posudek vypracovala doc. MUDr. Jana Dvořáčková Ph.D, MIAC
Přednosta Ústavu patologie LF Ostrava

Olomouc 2018

Obsah posudku:

1. Zhodnocení významu disertace pro příslušný obor
2. Vyjádření k postupu řešení problému, použitým metodám a splnění stanoveného cíle
3. Stanovisko k výsledkům disertační práce a k původnímu konkrétnímu přínosu předkladatele disertační práce
4. Vyjádření k uspořádanosti, přehlednosti, formální úpravě a jazykové úrovni disertační práce, vyjádření k publikacím studenta doktorského studia
5. Jednoznačné vyjádření, zda předloženou disertační práci doporučuji či nedoporučuji k obhajobě a zda á být na základě úspěšné obhajoby udělen akademický titul Ph.D. dle §47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb.

Ad.1. Zhodnocení významu disertace pro příslušný obor

Téma disertační práce je vysoce aktuální a má značný význam pro obor a to zvl. díky atraktivnosti zvoleného tématu, rozsahu zpracování, použitých metodik a využití mezioborové spolupráce. Disertační práce je zaměřena na aktuální problematiku karcinomu prostaty (CaP) jakožto heterogenního onemocnění, pro které v současné době neexistují spolehlivé diagnostické a prediktivní markery. Proto jedním z hlavních cílů současného výzkumu CaP je hledání a prověřování nových biomarkerů. Jedním z nich je i autorkou disertační práce zmiňovaná fúze genu *TMPRSS2-ERG*. Současné studie odhalují, že více než

70% prostatických karcinomů nese přestavbu genů rodiny ETS, které fúzí s genem *TMPRSS2*. Tyto vlastnosti by bylo možné potencionálně využít k cílené onkologické terapii pacientů s prostatickým karcinomem, podobně, jako je využívána cílená terapie u gastrointestinálních stromálních tumorů s mutacemi *c-kit*. Přes velmi slibné výsledky základního výzkumu si tyto markery zatím nenašly cestu do klinického použití a určitě zůstávají i zajímavým cílem pro genetickou léčbu. Běžná diagnostika totiž vyžaduje nejenom spolehlivý marker, ale i dostupnou laboratorní metodu na jeho zjištění a dobrou korelaci mezi stavem onemocnění a výsledky. A právě o to šlo doktorandce v disertační práci. Je otázkou, zda si některý z uvedených markerů najde cestu do rutinní praxe. Nicméně poznatky specifikované v disertační práci jsou dalším krokem k tomuto úspěchu.

2. Vyjádření k postupu řešení problému, použitým metodám a stanoveného cíle

Disertační práce „Stanovení fúzního genu *TMPRSS2-ERG* u nádoru prostaty, jeho význam a souvislosti s dalšími sledovanými faktory“ vykazuje pečlivé zpracování a logický postup i přístup k řešení vytýčeného problému. Na škodu je jen to, že z vybraných metod je v práci popsána v kapitole Metody pouze jedna z nich a to metoda FISH, další jsou zmíněny pouze odkazem do literatury, což nebývá běžné, ale nesnižuje to kvalitu díla. Vytýčené cíle jsou definovány takto:

1. Zmapovat prevalenci *TMPRSS2-ERG* genové fúze v našem souboru pacientů
2. Získané výsledky zhodnotit ve vztahu ke klinicko-patologickým parametrům karcinomu prostaty
3. Analyzovat vztah *TMPRSS2-ERG* přestavby k vybraným proteinům (TOP2B, ERG a PTEN)
4. Ověřit, zda přítomnost genové přestavby *TMPRSS2-ERG* může souviset se zánětlivou infiltrací patologických lézí v prostatě

Výsledky, které jsou ilustrativně zdokumentovány v obrázcích 1 -13, (jejich součástí jsou nezvykle i různé typy grafů, schémata a pouze jedna fotodokumentace metody FISH) dále ve 2 tabulkách, a jsou shrnuty na 8 stranách a na dalších 7 stranách je podle jednotlivých fází cílů rozebrána diskuse.

Z uvedených výsledků, stručných závěrů a diskuse lze konstatovat, že cíle disertační práce byly splněny. Veškeré výsledky vytýčených cílů byly statisticky zpracovány.

**ad. 3. Stanovisko k výsledkům disertační práce a k původnímu
konkrétnímu přínosu předkladatele disertační práce**

Doktorandka se rozhodla pro zpracování velmi aktuální problematiky, která je v recentní literatuře často probírána.

Provedla analýzu výskytu fúzního genu *TPRSS2-ERG*, imunohistochemické exprese AR, *TOPO2B* a *ERG* v souboru 155 pacientů s diagnostikovaným karcinomem prostaty (CaP) ve vztahu k jejich klinicko-patologickým charakteristikám a stavu v ložiscích benigní prostatické hyperplasie (BPH), takže dále sledovala míru infiltrace struktur BPH, PIN a CaP CD204+ makrofágy a CD3+ T-lymfocyty. V některých závěrech a v diskusi jsou zmiňovány soubory olomoucký a novojičínký odděleně, aniž by v metodice a výsledcích byly specifikovány.

Doktorandka prokázala statisticky signifikantní přímou závislost mezi procentem buněk s přítomností fúzního genu *TPRSS2-ERG* v CaP a metastazováním nádoru. Čím vyšší procento pozitivita, tím signifikantně častější výskyt metastáz ($p=0,011$). Ve výsledcích na str.29 popisuje celý soubor 155 případů, v diskusi na str.37 je se stejnou pravděpodobností uvedena jen olomoucká skupina.

Dále prokázala zvýšenou expresi *ERG* proteinu u případů s potvrzenou genovou fúzí. Stejně tak zaznamenala ko-exprese *ERG* s AR a *TOP2B*. Podařilo se jí ověřit, že přítomnost přestavby *TPRSS2-ERG* může souviset se zánětlivou infiltrací patologických lézí v prostatě. Detekovala vyšší míru infiltrace nádorových struktur CD204+ a CD3+ buňkami, která pozitivně korelovala s výskytem fúzního genu, tato asociace nebyla dosud nikým popsána.

Její výsledky potvrzují, že *TPRSS2-ERG* genová fúze zaujímá významnou roli v patogenezi karcinomu prostaty a že jeho detekce, stejně jako současné imunohistochemické vyšetření exprese tří proteinů účastnících se androgeny regulované signální dráhy může být přínosné pro odhad biologického chování nádoru i určení nejvhodnějšího způsobu léčby. K tomu však bude třeba provést další studie, které budou korelovat vztah fúzního statusu s klinickými dopady a jak uvádí v závěru doktorandka bude nutné mít k dispozici dostatečný follow up dat pacientů, které pomohou v posouzení vhodnosti těchto metodik k zavedení tohoto způsobu vyšetření jako prognostického markeru.

**ad.4. Vyjádření k uspořádanosti, přehlednosti, formální úpravě a jazykové úrovni
disertační práce, vyjádření k publikacím studenta doktorského studia**

Text disertační práce je účelně uspořádán do základních 5 kapitol – Teoretický úvod, Cíle práce, Metody, Výsledky, Diskuse. Další 4 kapitoly představují Seznam zkratk, Seznam použité literatury, Seznam publikací a konferenčních příspěvků a Přílohy. Práce je v rozsahu 67 stran, obsahuje 2 tabulky a 13 obrázků, z nichž jeden je FISH, další jsou různé typy grafů. Diskuse je obsáhlá takřka na 7 stranách, více než vyčerpávající je seznam použité literatury.

Disertační práce splnila cíle vytýčené autorem a její závěry mohou být použity jako podnět pro další metodiky pro určení individuální odpovědivosti nádorových buněk karcinomu prostaty na léčbu.

Použitá literatura velmi důkladně dokresluje zvolenou problematiku a je použita v dostatečné míře. Z předloženého seznamu publikací je zřejmé, že autor se danou problematikou zabývá již velmi dlouho.

**ad.5. Jednoznačné vyjádření, zda předloženou disertační práci doporučuji či
nedoporučuji k obhajobě a zda má být na základě úspěšné obhajoby udělen
akademický titul Ph.D. dle §47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb.**

Po prostudování práce mohu s potěšením konstatovat, že autorka si zvolila velmi aktuální téma. Výsledky disertační práce jsou pozitivní a závěry z ní vyvozené jsou společenským přínosem. Práce Mgr. Aleny Burdové otevírá možnosti dalšího zpřesnění léčby karcinomu prostaty. Kvalitní dokumentace a rozsah literárních údajů vyčerpává problematiku řešeného problému a svědčí o velmi dobré orientaci doktorandky v řešené problematice, což je podtrhnuto její publikační činností. Pečlivé zpracování a logický postup i přístup k řešení vytýčeného problému svědčí o zkušenosti autorky s vědeckou prací.

Ze všech těchto důvodů se domnívám, že předložená disertační práce Mgr. Aleny Burdové „Stanovení fúzního genu TMPRSS2-ERG u nádoru prostaty, jeho význam a souvislosti s dalšími sledovanými faktory“ splňuje podmínky stanovené v § 72 Zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb. pro udělení akademického titulu doktor ve zkratce **Ph.D.**

Dodatek

1) Připomínky:

K disertační práci nemám žádné výhrady a podstatné připomínky, vyjma těch drobných, které jsem uvedla v textu a které neovlivňují kvalitu předložené práce.

2) Otázky:

a) V textu práce je uvedeno, cituji: „Díky své specifitě však může detekce *TMPRSS2-ERG* fúze sloužit jako rychlá a neinvazivní metoda pro potvrzení diagnózy CaP“. Chtěla bych se autorky zeptat, zda zná algoritmus histologického vyšetření karcinomu prostaty a jestli si je vědoma, že existují podstatně prozaičtější způsoby potvrzení diagnózy karcinomu prostaty, než v textu uvádí.

b) Zaujala mne informace v kapitole exprese CD 3 a CD 204 kde je popsáno, že cituji: „Není jasné, do jaké míry mohou být tyto výsledky ovlivněny „chybou malých čísel“, nebo zda znamenají, že schopnost CD3+ T lymfocytů infiltrovat maligně transformované léze se děje mechanismem nezávislým na existenci fúzního genu. Z našich výsledků tedy nelze určit, jaké kvalitativní změny ve složení T lymfocytárních subpopulací se v nádoru odehrávají a zda tyto změny mají promoční nebo inhibiční vliv na nádor.“ Hodláte se ve výzkumu exprese zánětlivých markerů v souvislosti s fúzním genem TMPRSS2-ERG dále věnovat?

V Ostravě 4.8.2018

doc. MUDr. Jana Dvořáčková Ph.D.
Přednosta Ústavu patologie LF Ostrava

Vážený pan děkan
prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.

Lékařská fakulta Univerzity Palackého v
Olomouci
Hněvotínská 3
779 00 Olomouc

Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Aleny Burdové „Stanovení fúzního genu TMPRSS2-ERG u nádoru prostaty, jeho význam a souvislosti s dalšími sledovými faktory

Předkládaná práce má 42 stran plus přílohy, je klasicky strukturována a kvalitně zpracována, asi třetinu práce zaujímá teoretický úvod, polovinu pak vlastní výzkum. Autorka cituje 150 většinou zahraničních publikací. Kapitola výsledků je rozdělena prakticky podle cílů práce. V celku se dá shrnout, že práce je dobře napsána, čtivá, ne příliš dlouhá, místy až koncizní. S minimem překlepů nebo chyb. Mírný zmatek může vyvolat použití 72 druhů zkratk na 35 stranách textu, původem z českého i anglického jazyka. I když vzhledem k zaměření práce, se bez zkratk obejít nelze.

Pokud jde o význam dizertační práce pro příslušný obor, tedy v praxi urologii, je třeba uznat, že pro karcinom prostaty existuje jen velmi málo použitelných diagnostických i prognostických faktorů a oblast genetiky je tak velkou možností budoucího zlepšení péče o tuto nejpočetnější a velmi nákladnou skupinu pacientů.

Hodnocení četnosti fúzního genu jako prognostického ukazatele, je možným řešením problému a použité metody práce jsou standardní a správné ke splnění cílů.

Výsledky práce naplňují určené cíle zmapováním prevalence fúzního genu TMPRSS2-ERG, určením vztahu k vybraným proteinům TOP2B, ERG a PTEN. Souvislost přítomnosti genové přestavby TMPRSS2-ERG se zánětlivou infiltrací pak zastupují vztahy s CD3+ T buňkami a CD204+ makrofágy.

Největší přínos disertační práce pak vidím v hodnoceném vztahu přítomnosti TMPRSS2-ERG, progresi karcinomu a jeho metastatickým potenciálem.

Poznámky:

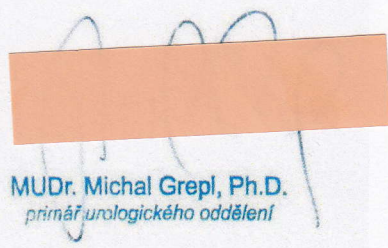
1. CD8 v seznamu zkratk neznamená „T-cell surface glycoprotein CD4“
2. V tabulce 1 ve sloupci klinicko-patologické parametry je zavádějící popis „Metastazování“ v kategorii N i M TNM klasifikace. Přestože invaze nádoru do lymfatických uzlin je technicky metastáza, pak z praktického (klinického) hlediska je pojem metastáza vyhrazen pro „vzdálenou metastázu mimo regionální uzliny“. Proto i rozlišení kategorie N a M.

Otázky:

1. Podle jakých parametrů bylo u pacientů z Nemocnice Nový Jičín definováno „biochemické selhání-relaps“? Podstoupili všichni pacienti s pooperačním nárůstem PSA v souboru adrogen-deprivační terapii?
2. Dá se teoreticky spočítat, pokud by byl použit průkaz aberace genu jako indikační kritérium nasazení adjuvantní hormon-deprivační terapie místo PSA, kolik pacientů by uniklo „zbytečné“ léčbě a naopak kolik by podstoupilo léčbu zbytečně? Případně najít kombinaci hodnoty PSA a průkazu aberace genu ke zefektivnění indikace léčby?

Předloženou disertační práci **doporučuji k obhajobě** a po jejím splnění může být udělen akademický titul doktor (ve zkratce Ph.D.) dle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č 111/98 Sb.

Ve Zlíně 6. srpna 2018


MUDr. Michal Grepl, Ph.D.
primář urologického oddělení

MUDr. Michal Grepl, Ph.D.

primář Urologického oddělení Krajské nemocnice Tomáše Bati Zlín