

Oponentský posudek na disertační práci

Tamar Jamaspishvili, MD.

Biomarkers and models for differentiating prostate cancer from non-cancerous diseases

Disertační práce psaná v angličtině je standardně rozdělena na úvod, cíl, materiál a metodiky, výsledky, diskuse, souhrn doplněný českým překladem, přehled nejpoužívanějších zkratk, seznam publikací, přednáškových, posterových sdělení a seznam použité literatury. Úvodní kapitola je rozsáhlá, zahrnuje informace o histologii, embryologii a funkci prostaty, současný stav poznatků o predispozičních a rizikových faktorech vývoje karcinomu prostaty, hormonální regulaci a mechanismech vzniku hormonální rezistence, přehled v současnosti používaných a potenciálně zajímavých markerů pro časnou diagnózu karcinomu prostaty a monitorování jeho progresu, včetně markerů detekovaných z močového sedimentu.

Cíle: 1. identifikace exprese kallikreinů KLK7 a 11 v ložiscích karcinomu a benigní prostatické hyperplazie (BPH), asociace s klinicko-patologickými parametry, 2. validace diagnostické schopnosti PCA3 pro pacienty s širokým rozptylem hodnot PSA a hodnot v „šedé zóně“ (3-15 ng/ml), 3. testování potenciálně zajímavých markerů z moči u pacientů s hraničními hodnotami PSA. Cíle jsou definovány jasně, reflektují aktuální nedostatečně specifickou diagnostiku počínajícího karcinomu a jsou splněny. Kapitola „Materiál a metodika“ je přehledná, zahrnuje imunohistochemickou techniku, izolaci RNA a kvantitativní RT-PCR analýzu z močového sedimentu. Statistické zpracování dat využívá řady testů a tvoří podstatný díl výsledkové části práce. K imunohistochemickému hodnocení by bylo vhodné doplnit z kolika zorných polí a při jakém zvětšení byla detekce hodnocena, případně kolik buněk bylo minimálně odečteno. Kapitola „Výsledky“ je napsána srozumitelně, doplněna grafy, tabulkami a mikrofotografiemi, u kterých postrádám použité zvětšení a korelující řez s hematoxylin-eosinovým barvením. Vzhledem k pozitivitě značení použitých protilátek mimo nádorové či benigní epitelie, tj. mesenchymální tkáň včetně neovaskularizace, by bylo vhodné rovněž přiložit mikrofotografii negativní kontroly detekce. V „Diskusi“ jsou podrobně rozebírány dosažené výsledky a srovnávány s řadou poměrně kontraverzních výsledků dalších autorů. Práce je celkově zpracovaná na dobré odborné i grafické úrovni. Text je dostatečně doplněn odkazy na recentní literaturu. Publikáční aktivita autorky obsahuje 2 původní vědecké práce, 1 přehledovou publikaci v impaktovaných časopisech a 7 konferenčních sdělení.

Výsledky imunohistochemické analýzy přes heterogenitu mezi jednotlivými nádorovými fokusy ukazují na význam poklesu exprese KLK7 a 11 v ložiscích karcinomu oproti BPH, zvýšení exprese PSMA v karcinomu a pozitivní korelaci s agresivní morfologií, Gleason skóre a pT. Ze sedmi márkřů analyzovaných z močového sedimentu pomocí kvantitativní RT-PCR, hodnocení čtyřech z nich, tzv. „kvadruPLEXní model“ (PCA3, AMACR, MSMB a TRPM8) vykazoval optimální kombinaci specifity a senzitivity dosažené multiplexní regrese analýzou. V rámci korelace studovaných márkřů s klinicko-patologickými znaky považují za významnou zvýšenou expresi AMACR a EZH2 u lokálně pokročilého karcinomu vs. lokalizovaného, pozitivní korelaci EZH2 a inverzní korelaci PCA3 s nádorovou progresí. Mákr PCA3 se ukázal jako nezávislý prediktor karcinomu prostaty bez omezení hodnot PSA, v šedé zóně hodnot PSA tato funkce nebyla potvrzena. Disertační práce se podílí na řešení aktuálního onkologického tématu, přináší výsledky imunohistochemické analýzy márkřů KLK7, 11, PSMA a kvadruPLEXní model (PCA3, AMACR, MSMB a TRPM8) neinvazivního hodnocení z močového sedimentu, obojí upřesňující dg. počínajícího karcinomu. Hodnocení močových márkřů by rovněž mohlo přispět k rozhodování o dalším vyšetřovacím postupu před biopsií.

Autorka prokázala odpovídající odbornou úroveň molekulárně biologické výzkumné práce a schopnost analyzovat dosažené výsledky s perspektivou jejich dalšího klinického využití. Po celkovém hodnocení s přihlédnutím k minimálním připomínkám **Tamar Jamaspishvili, MD.** splnila všechny požadavky pro získání hodnosti PhD., práci **doporučuji** k obhajobě a po úspěšném obhájení udělení akademického titulu PhD. dle § 47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb.

Otázky na doktorandku:

- vzhledem k imunohistochemickému hodnocení tkání po radikální prostatektomii byly patrné rovněž fokusy s PIN, vyskytující se v blízkosti karcinomu. Přestože analýza PIN nebyla předmětem práce, pozorovala autorka změny v expresi KLK7 a 11 ve fokusech s „high grade“ PIN?
- mákr PSMA byl rovněž zastižen v novotvořené nádorové vaskularizaci, reference dokládají jeho asociaci s VEGF a účast na signalizaci zprostředkované integriny (tedy možný vliv na migraci, metastazování). Byla pozorována rozdílná exprese PSMA v ložiscích karcinomu subkapsulárně oproti místům od kapsuly vzdálených?

- je reálné v běžné klinické praxi u pacientů s hraničními hodnotami PSA vyšetřovat další 4 markry z močového sedimentu (i když se jedná o neinvazivně získaný materiál), s přihlédnutím k technické náročnosti a finanční zátěži vyšetření, které upřesňují dg. včasného karcinomu, ale zatím pravděpodobně nepřináší jednoznačné potvrzení karcinomu?

V Brně dne 7. 12. 2011

MUDr. Alice Hlobilková, Ph.D

Oddělení onkologické a experimentální patologie MOÚ

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

Posudek oponenta doktorandské práce

Název práce

Biomarkers and models for differentiating prostate cancer from non-cancerous diseases

Autor práce

MUDr. Tamar Jamaspishvili

Název studijního oboru

Patologie a soudní lékařství

Forma studia

prezenční

Vedoucí práce

MUDr. Jan Bouchal, Ph.D.

Oponent práce

MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU

Urologické oddělení, Ústřední vojenská nemocnice,

U Vojenské nemocnice 1200, 169 02 Praha 6

Akademický rok

2011/2012

Posudek

Volba tématu

Práce zpracovává velmi aktuální téma týkající se karcinomu prostaty jenž je v současnosti nejčastěji diagnostikovaným zhoubným nádorem u mužů mimo nádory kůže. Současná diagnostika onemocnění je velmi nepřesná a vzhledem k vysoké incidenci se i ve světě intenzivně hledají další cesty, jak zpřesnit rozpoznání nemoci a určit prognózu postiženého. Oblast molekulární biologie již mnoho let přináší důležité poznatky o biochemických a genetických změnách v nádoru a práce má určitě potenciál na to, aby obohatila toto poznání. Na druhou stranu pořád existuje mnoho nejasností, čemuž odpovídá i nutnost současného hodnocení několika faktorů, použití více metod detekce a korelace s jinými klinickými nálezy. Vše uvedené z tohoto hlediska práce splňuje.

Teoretická část

Struktura práce odpovídá zvolenému tématu a má logické členění. Abstrakt a klíčová slova odpovídají obsahu práce a zpracování literárních a dalších informačních zdrojů je vyhovující. Vlastní myšlenky a doplnění již známých skutečností či jejich ověření je na potřebné úrovni. Zpracování v anglickém jazyce přináší potenciál na účinnou propagaci získaných výsledků.

Empirická část

Samotná praktická část má jasně formulované výzkumné otázky a cíle. Použité metody výzkumného šetření plně odpovídají zaměření práce. Kvalita a kvantita hodnocených subjektů a zkoumaných ukazatelů je dostatečná pro komplexní hodnocení jejich významu v diagnostice karcinomu prostaty a jeho odlišení od nepostižených tkání. Zpracování jednotlivých částí má logickou návaznost a vedlo k potřebným a dobře interpretovatelným výsledkům. Komentář v textu je velmi racionálně doplněn o tabulky a grafy s přehledem dosažených výsledků a tyto jsou v diskusi velmi citlivě zařazeny do kontextu. I přes některé negativní nálezy přispívají k rozšíření poznatků a zkušeností v této oblasti.

Celkové hodnocení práce

Výběr tématu a zpracování práce odpovídá současným poznatkům v této oblasti. Významné je použití více ukazatelů a jejich korelace s jinými klinickými nálezy. Použití multifaktoriálních analýz navíc umožňuje posoudit jejich celkový význam a přispívá k jejich využití v dalším výzkumu. Práce odpovídá zákonným ustanovením a předpisům pro závěrečné práce doktorandského studia a má odpovídající stylistickou úroveň i díky přehlednosti a citlivému použití tabulek, grafů a obrázků. **Práce odpovídá požadavkům kladeným na doktorandskou práci a doporučuji ji k obhajobě.** Zároveň na základě úspěšné obhajoby doporučuji udělit studentovi akademický titul doktor, ve zkratce Ph.D., dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Práci klasifikuji stupněm výborně

Otázky a připomínky k obhajobě práce

Důležitým parametrem při diagnostice karcinomu prostaty a odlišení benigní tkáně má objem prostaty. Žádám doktoranda o krátké shrnutí výsledků týkajících se uvedeného parametru.

Významným ukazatelem při rozhodování o strategii diagnostiky a léčby je věk nemocného. Byla zjištěna v práci nebo v dostupné literatuře závislost exprese jednotlivých ukazatelů na věku?

V Praze dne 24. listopadu 2011

Podpis oponenta

