

PhD THESIS: REVIEW

PhD thesis Title:

Molecular markers of drug resistant non-small cells lung cancer

Mariam Gachechiladze, MD

Evaluation of the significance of the thesis:

The thesis deal with very contemporary problematics of non-small cell lung carcinoma, which is the leading cause of cancer mortality worldwide.

Used methods and fulfilling the aims:

Methods used included immunohistochemical analysis of expression of BRCA1 by using five different antibodies, furthermore, expression of RAD51, filaminA, SphK1 and S1P lyase was assessed. Studies were performed on formalin-fixed, paraffin embedded (FFPE) material with tissue microarray (TMA) construction. The expression was evaluated in the three different treatment groups. The aims of the study seems to be fulfilled.

Results of the thesis and specific scientific significance:

Results are comparable with results published in world's scientific literature. Results show new data possibly important in development of medical science and, moreover, possibly applicable to medical practice. The results will possibly enable application of more individually tailored therapy in the treatment of NSCLC, namely, overexpression of BRCA1 and RAD51 seems to be protective in the early stages of the malignancy. Moreover, expression of cytoskeletal protein filamin A has been shown to have statistically significant independent negative prognostic and predictive significance.

Formal design and language quality:

The work has appropriate formal design. It has 96 pages (including Title page, Declaration, Acknowledgements and Contents. Pages 6-32 describe Introduction, the Aims of the study are on page 33, Material and methods on

pages 34-44, Results on pages 45-68 and Discussion is on pages 69-75. The rest shows Summary, Abbreviations, publications and References. The language quality of the work is good.

Publication activity of the author:

To date databasis PubMed shows 7 publications, four with impact factor. Three publications with impact factor are first authored by the applicant. Database Web of Science shows four publications, 9 citations and h-index 1. There are two publications related to the thesis, one accepted publication (*Neoplasma*) and two publications submitted to Histopathology.

Recommendation:

Dr. Mariam Gachachiladze 's thesis show the ability of systematic scientific work. I recommend earning of PhD title after succesful process.

Questions:

1. Did you have any cases with borderline immunohistochemical reactivity?
If yes, how did you solve this/these cases?



Leos Kren, Assoc. Prof., M.D., PhD.

Department of Pathology FN Brno/LF MU Brno, The Head

Brno 24. 7. 2015

MAJÁNKOVÁ UNIVERZITA
Lékařská fakulta
602 00 Brno, Kamenice 5
34



**THOMAYEROVA NEMOCNICE
140 59 PRAHA 4 – KRČ, VÍDEŇSKÁ 800**

NÁZEV PRACOVISTĚ: Oddělení patologie a molekulární medicíny
Národní referenční laboratoř lidských prionových chorob
ODBORNOST: 807
OBOR: Neuropatologie
IČP: 04005071

V Praze 20.7. 2015

Univerzita Palackého v Olomouci
Lékařská fakulta
Děkanát - Referát vědy a výzkumu
Třída Svobody 8
771 26 Olomouc

Oponentský posudek disertační práce.

Název práce: Molecular markers of drug resistant non-small-cell lung cancer.

Autor: MUDr. Mariam Gachechiladze

Pracoviště: Laboratoř molekulární patologie, Ústav klinické a molekulární patologie, Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého

Školitel: MUDr. et MVDr. Jozef Škarda, Ph.D.

Předložená práce psaná v AJ se zabývá studiem molekulárně patologických mechanismů kancerogeneze a možného prognostického významu skupiny vybraných proteinů u souboru tzv. nemalobuněčného plicního karcinomu (NSCLC).

V úvodu je stručně popsána současná úroveň poznatků o patofyziologických aspektech diagnostiky, prognózy a léčby NSCLC včetně části o molekulární patologii nádorového onemocnění. Rovněž je shrnut soubor poznatků o vybraných markerech, které byly následně analyzovány. Vlastní práce se pak sestává z hodnocení imunohistochemické exprese BRCA1, RAD51, filaminu-A, sfingosin kinázy-1 a S1P v souboru pacientů postižených NSCLC a léčených různými modalitami protinádorové terapie. Výsledky byly publikovány v odborných časopisech s rozeznatelným IF a prezentovány na odborných konferencích a kongresech.

Formální úprava a členění

Formálně dobře zpracovaná práce o 96 stranách je členěna na Úvod obsahující na 27 stranách poznatky o diagnostice a patofyziologii NSCLC a současnou úroveň poznatků o vybraných markerech, které byly následně hodnoceny v práci. Následuje význam studie rozdělený do 4 podoblastí, vlastní Experimentální část, jež se sestává

z Metodiky, Výsledků a Diskuze. Nechybí obrazová dokumentace, seznam zkratk a literární přehled čítající 142 citované publikace.

Součástí práce je kompletní seznam prací aspirantky související s tématem disertace (2 publikace s IF – z toho 1x jako první autor; 1 publikace přijatá k tisku v časopise s IF a 2 práce zaslané do časopisů s IF) 2 práce v odborných časopisech s IF, které bezprostředně s tématem práce nesouvisí, 6 publikovaných abstrakt odborných sdělení – z toho 5x jako první autor).

Aktuálnost

Práce řeší vysoce aktuální problematiku molekulární patofyziologie a diagnostiky NSCLC včetně využití potenciálních biomarkerů pro odhad prognózy onemocnění a odpovědi na protinádorovou léčbu.

Stanovené cíle

Cíle disertace jsou formulované – jde o 4 projekty:

1. Využití BRCA1 jako prognostického a prediktivního markeru u pacientů s NSCLC.
2. Možné využití exprese RAD51 coby prognostického a prediktivního markeru u pacientů s NSCLC léčených neoadjuvantní a/nebo adjuvantní chemoterapií platinovými deriváty.
3. Vztah exprese RAD51 coby prognostického a prediktivního markeru u pacientů s NSCLC léčených neoadjuvantní a/nebo adjuvantní chemoterapií platinovými deriváty
4. Prognostická a prediktivní hodnota exprese SphK1 a S1P lyázy u pacientů s NSCLC léčených neoadjuvantní a/nebo adjuvantní chemoterapií platinovými deriváty

Zvolené metody

Práce se metodicky opírá o nepřímou imunohistochemii hodnocenou na tkáňových „microarrays“, semikvantitativní hodnocení exprese a statistickou analýzu dosažených výsledků při porovnání se souborem pacientů.

Výsledky, diskuse, splnění stanovených cílů

Práce přinesla několik výstupů:

- Pozitivita BRCA1 byla statisticky signifikantně spojena s nižším rizikem úmrtí a relapsu u pacientů s NSCLC ve stádiu I a II, zatímco ve stádiu III byla naopak asociována s vyšším rizikem.
- Nadměrná exprese RAD51 byla spojena s delším přežitím u pacientů léčených chirurgicky nebo po prodělané adjuvantní chemoterapii, avšak medián přežití byl nižší u pacientů s adjuvantní chemoterapií carboplatinou a navelbinem.
- Nadměrná exprese filaminu A souvisí se špatnou prognózou zejména v asociaci s pokročilejším stadiem onemocnění.
- Vysoký stupeň exprese SphK1 byl u pacientů s NSCLC s adjuvantní chemoterapií spojen s nižším celkovým přežitím a se zvýšeným rizikem relapsu společně s expresí S1P lyázy.

Diskuse je aktuální, jsou obecně nastíněny perspektivní směry dalšího potenciálního výzkumu v této oblasti a možností jejich využití v klinické praxi. V některých ohledech je však diskuse spíše obecná a zejména celkem

protichůdné výsledky exprese BRCA1 a by jistě zasluhovaly diskutovat více do hloubky molekulárně patologických mechanismů.

Kritické poznámky

- V teoretickém úvodu vychází aspirantka z již poněkud zastaralé WHO klasifikace plicních nádorů, na aktuálnosti by jistě přispělo srovnání s novou verzí z letošního roku.
- Cíle práce jsou definovány a zpracovány, práci však chybí předem formulované hypotézy. Zejména by bylo vhodné podrobněji diskutovat výběr hodnocených markerů.
- Expres studovaných markerů by vzhledem k výrazné heterogenitě NSCLC určitě byla zajímavější pro jednotlivé subtypy nádorů.
- Zajímavost výsledků exprese studovaných markerů by významně zvýšily i jiné metodické principy než čistě imunohistochemická studie.
- V charakteristice souboru pacientů postrádám status „standardních“ prediktivních markerů (EGFR, ALK atp).
- Chybí potvrzení o přijetí práce v časopise Neoplasma (není ani na PubMed).

Otázky pro aspiranta

1. Poněkud méně obvyklá antagonistická exprese BRCA1 u pacientů v rozdílných stádiích pokročilosti NSCLC byla již diskutována v disertační práci, nicméně spíše obecně. Má aspirantka nějakou teorii, proč tomu tak je? Je známa nějaká asociace s patogenními somatickými mutacemi či germinálními mutacemi genu BRCA1?
2. V jakém ohledu vidí aspirantka možnost dalšího využití expresního profilu zvolených markerů u pacientů s NSCLC?
3. Nezkoumala aspirantka expresi vybraných markerů taky jinou metodikou (např. na úrovni mRNA)?
4. Byly výsledky studie rovněž korelovány se standardně vyšetřovanými prediktivními markery u NSCLC? A pokud ano, pak s jakým výsledkem?

Závěr

Disertační práce splňuje podmínky stanovené zákonem (§ 47 VŠ zákona 111/98 Sb.) a požadavky standardně kladené na disertační práci v doktorském studijním programu. Aspirant prokázal tvůrčí schopnosti, zvládl metodické aspekty samostatné vědecko-výzkumné činnosti a přinesl nové poznatky.

Doporučuji k úspěšnému obhájení a získání titulu Ph.D.


doc. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.
Oddělení patologie a molekulární medicíny
Thomayerova nemocnice
Václavská 800
14059 Praha 4 - Krč
e-mail: radoslav.matej@ftn.cz
tel.: +420 261083741
fax.: +420 234333742