

OPONENTSKÝ POSUDEK DIZERTAČNÍ PRÁCE

Autor: **MUDr. Markéta Horáková (roz. Miesbauerová)**

Pracoviště: Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Šiklův ústav patologie

Studijní obor: Patologie

Název práce: **Korelace imunohistochemických a molekulárně biologických metod v diagnostice nádorů slinných žláz**

Školitelka: prof. MUDr. Alena Skálová, CSc.

Předkládaná doktorská dizertační práce byla vypracována na Šiklově ústavu patologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni pod vedením školitelky prof. MUDr. Aleny Skálové, CSc. Mnohaleté zaměření tohoto univerzitního ústavu na problematiku nádorů oblasti hlavy a krku, resp. slinných žláz bylo dostatečnou zárukou všestranné připravenosti zvolené téma úspěšně řešit.

Téma dizertační práce

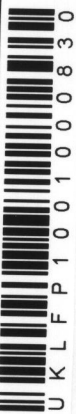
Doktorská dizertační práce se zabývá korelací imunohistochemických a molekulárně biologických metod v diagnostice maligních nádorů slinných žláz. Zatímco v první části práce jsou detailně shrnuty současné poznatky týkající se salivárních zhoubných nádorů, tak ve druhé části je prezentován vlastní výzkum, který je rozdělen do tří tematických okruhů.

Prvním tématem je analýza metody dvoustupňového skrínungu maligních nádorů (slinných žláz), jejímž cílem je identifikovat terapeuticky ovlivnitelné a/nebo zatím nepopsané genové aberace. Tato metoda probíhá ve dvou krocích; materiál je nejdříve vyšetřen imunohistochemicky směsí protilátek nespecificky detekující aberace v genech *NTRK1-3*, *ALK* a *ROSI* a pozitivní případy jsou dále vyšetřovány metodou masivního paralelního sekvenování.

Druhým tématem je popis diagnostiky sekrečního karcinomu slinných žláz pomocí tenkojehlové aspirační cytologie. V této části je popsána cytomorfologie tohoto nádoru, spolu s návrhem panelu protilátek, jejichž detekci lze využít v diferenciální diagnostice.

Třetím tématem je komentovaný soubor jednoho prvoautorského článku a dvou spoluautorských publikací, popisujících a) Milánský systém reportování cytologických nálezů ve slinných žlázách, b) prognostický význam delece 1p36 u adenoidně cystického karcinomu a c) tři případy světlobuněčného karcinomu s nově objevenou translokací *EWSR1-CREM*.

6412	Obor	Zprac.
Univerzita Karlova		
Přijato: 21.05.2019 v 11:33:20		
Č.j.: UKLFP/123149/2019-3		
Č.dop.: RR028971283CZ		
Listů: 4 Příloh: 1		
Druh: písemné		



Zaměření výzkumu na morfologické, imunohistochemické a molekulárně genetické charakteristiky zhoubných nádorů slinných žláz je mimořádně vhodné a velmi aktuální. Z tohoto hlediska je volbu tématu dizertační práce nutné jednoznačně ocenit.

Formální úprava dizertační práce

Dizertační práce má celkem 169 stran oboustranně psaného textu, včetně obsáhlého výčtu použité literatury zahrnujícího celkem 209 recentních citací, což ukazuje na výbornou orientaci uchazečky v dané problematice. Součástí práce je rovněž 19 přehledných tabulek, 38 obrázků umístěných přímo do vlastního textu a plnotextové verze pěti publikovaných prací. Na konec spisu je kromě seznamu použité literatury zařazen seznam dalších publikovaných prací a příloha obsahující tabulku 19 s popisem molekulárně genetických aberací u 109 nádorů.

Práce je členěna standardním způsobem do pěti logicky navazujících kapitol a je velmi čtivě napsána jazykem vysoké úrovně s ojedinělými překlepy. Jako samostatnou kapitolu bylo možné zařadit seznam tabulek a obrázků, spolu s odkazem na příslušnou stránku. Celkové grafické uspořádání práce je zdařilé.

V dizertační práci se vyskytují ojedinělé překlepy, drobné formální nedostatky či odborné nepřesnosti:

- a) u obr. 2, 3, 7, 8 a 9 chybí zdroj,
- b) správný název nádoru je „bazocelulární adenokarcinom“ a nikoli „basocelulární karcinom“ (tab. 4),
- c) u mikroskopických obrázků chybí údaj o zvětšení,
- d) obr. 14 není v tištěné podobě dostatečně kvalitní,
- e) u tab. 11a je chybný odkaz na obrázek (je uveden obr. 22, ale pod tabulkou je obr. 24),
- f) tab. 11b je chybná – součástí 8. vydání TNM klasifikace je u uzlinového parametru hodnocení extranodálního šíření, které zde není zmíněno.

Cíle dizertační práce

Cíle dizertační práce jsou jednoznačně stanoveny. Výsledky uvedené ve vlastní dizertační práci i ve formě velmi kvalitních publikací dokazují, že tyto cíle byly beze zbytku splněny.

Úvod a obecná specifikace nádorů slinných žláz

V těchto kapitolách autorka seznamuje čtenáře se základní charakteristikou nádorů slinných žláz, včetně epidemiologie, klinických příznaků, diagnostiky a léčby. Celkové zpracování těchto kapitol je koncisé a uvádí čtenáře srozumitelným způsobem do řešeného tématu.

Materiál a metodika

Materiál a metodika je podrobně zmíněna u prvních dvou tematických okruhů přímo v dizertační práci, u třetího tematického okruhu potom přímo v publikacích. Použité metody jsou adekvátní.

Výsledky

První část výzkumu byla věnována možnosti využití dvoustupňového skríningu při pátrání po genetických aberacích u maligních nádorů slinných žláz. Bylo zjištěno, že samostatné imunohistochemické vyšetření je nespecifické, a proto je nezbytné, aby všechny imunoreaktivní vzorky byly následně vyšetřeny molekulárně geneticky. Výsledky této části výzkumu byly publikovány ve dvou článcích: „*Mammary Analog Secretory Carcinoma of the Nasal Cavity: Characterization of 2 Cases and Their Distinction From Other Low-grade Sinonasal Adenocarcinomas*“ a „*Molecular Profiling of Salivary Gland Intraductal Carcinoma Revealed a Subset of Tumors Harboring NCOA4-RET and Novel TRIM27-RET Fusions: A Report of 17 cases*“.

Ve druhé části výzkumu bylo zjištěno, že cytomorfologické znaky sekrečního karcinomu slinných žláz jsou nespecifické a pro přesnou diagnózu jsou nezbytná doplňková vyšetření, tj. imunohistochemie nebo molekulárně genetické metody, pro jejichž provedení je však nutná tkáň zpracovaná formou cytobloku.

Otázky pro uchazečku

1. Na základě jakých poznatků byl vytvořen skórovací systém použitý pro hodnocení imunoreaktivity Pan-Trk, ALK, ROS1?
2. Jaká byla senzitivita, specifita, pozitivní prediktivní hodnota, negativní prediktivní hodnota a diagnostická přesnost jednotlivých skríningových protilátek Pan-Trk, ALK a ROS1 pro detekci aberací příslušných genů?
3. Jaké tkáně byly použity jako „vhodné pozitivní vnější kontroly“ při detekci Pan-Trk, ALK a ROS1?

4. Kolik pacientů bylo na základě nálezů terapeuticky ovlivnitelné aberace skutečně zařazeno do klinické studie s entrectinibem? Jaký byl u těchto pacientů reálný výsledek této léčby?

Celkové zhodnocení

MUDr. Markéta Horáková (roz. Miesbauerová) předložila velmi kvalitní dizertační práci, která navazuje na recentní výzkum maligních nádorů slinných žláz a která významně přispívá k hlubšímu pochopení jejich molekulárně genetických charakteristik. Zvláště je třeba ocenit prioritní objev translokace *TRIM27-RET* u intraduktálního karcinomu.

Studentka prokázala hluboké znalosti zkoumané problematiky a osvědčila své schopnosti samostatně vědecky pracovat a kriticky hodnotit dosažené výsledky. Lze předpokládat, že bude v započaté vědecko-výzkumné práci nadále úspěšně pokračovat.

MUDr. Markéta Horáková (roz. Miesbauerová) jednoznačně splnila všechny požadavky kladené na dizertační práci stanovené podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. a doporučuji ji k obhajobě.

~~prof.~~ MUDr. Jan Laco, Ph.D.

Fingerlandův ústav patologie

Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové

Fakultní nemocnice Hradec Králové

V Hradci Králové, 20. května 2019

61	Fakultní nemocnice Hradec Králové
004	Sokolská tř. 581, 500 05 Hradec Králové
776	Fingerlandův ústav patologie
	prof. MUDr. Jan Laco, Ph.D.
	tel. 495 833 235