

Oponentský posudek doktorské disertační práce

(Čj.: UKLFP/123149/2019-1)

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

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

Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta v Plzni – Šiklův ústav patologie;

Oponent: Prof. MUDr. Jaroslava Dušková, CSc, FIAC.
Ústav patologie 1.LFUK a VFN Praha;

Doktorská disertační práce MUDr. Markéty Horákové, k získání vědecké hodnosti Ph.D., ve studijním oboru Patologie, byla vypracována v prezenční formě studia na Šiklově ústavu patologie LF v Plzni v rámci vědecké přípravy.

Disertantka pracovala pod vedením školitelky prof. MUDr. Aleny Skálové, CSc.

Disertační práce je sepsána v českém jazyce na celkem 169 stranách standardní textové úpravy (vlastní text čítá 104 strany), dalších 27 stran představují přetištěné a komentované publikace k tématu. Dvě strany obsahují citace 8 dalších autorčiných publikací - není zde však uvedena v textu zmíněná a do tisku přijatá publikace cytologická s autorčím prvním autorstvím. 31 stran tvoří seznam použité literatury. Tři závěrečné strany tvoří příloha se seznamem všech dvoustupňovým procesem nalezených genových aberací u 109 nádorů celkem, z toho u 32 nádorů slinných žláz.

Název práce vystihuje výstižně téma.

Abstrakta v českém a anglickém jazyce mají charakter anotace, výsledky neuvádějí.

Seznam použitých zkratk na necelých třech stranách některé následně v textu uvedené i vysvětlené zkratky jak diagnostické, tak názvy protilátek a enzymů neobsahuje – např.: PAC, PLGA, CAMSG, NTRK chybí, uvedeny jsou však ACC, ADC., CCC a mnohé další. V oblasti protilátek MGA, DOG1, MYB, SOX10, GATA uvedeny nejsou, jsou však uvedeny CK, MIB, SMA...

Disertační práce je členěná obvyklým způsobem do sedmi celků – Cíl práce, Úvod, Obecná specifikace nádorů slinných žláz, Vlastní výzkum včetně komentovaných prací k řešenému tématu, Další publikované práce, Použitá literatura, Příloha.

Cíle práce (s. 9) jsou přehledně a jasně formulovány a jejich **splnění** je v dalším textu přehledně popsáno.

Úvod (str. 10-13) definuje a vymezuje zkoumanou skupinu nádorů v obecné rovině se zmínkami o současné znalosti etiologie, rizikových faktorů, incidence, ale také reálných diagnostických obtíží v klinické i patologické praxi, které dokládají **aktuálnost zvoleného výzkumného tématu**.

Obecná specifikace nádorů slinných žláz (s. 14-58) je uvedena epidemiologickými daty národními i mezinárodními, klinickými příznaky a metodami klinické diagnostiky.

Morfologická diagnostika je logicky zahájena vyšetřením cytologickým.

Autorka správně uvádí limity v hodnocení low grade maligních lézí, tak jak se promítly i do aktuálního sjednoceného mezinárodního Milánského systému hlášení cytopatologií slinných žláz kategorií SUMP.

Těžiště této části textu práce představuje oddíl *histologické diagnostiky*.

Jedná se o velmi dobře zpracovaný úplný přehled nosologických jednotek v souladu s poslední verzí WHO klasifikace, s návazností na předchozí terminologii tam, kde došlo ke změnám a u některých jednotek s doplněním informací i za rámec textu recentní WHO klasifikace.

Drobné jazykové a stylistické chyby, zjištěné v elektronické verzi zaslané mi v předstihu, se sice prosadily i do tištěné podoby disertace, nesnižují však informační hodnotu textu, který má potenciál být užitečným studijním textem postgraduálním. Autorce předám konkrétní návrhy pro korekci zaznamenané pozorným čtením pro případ dalšího množení textu.

Vynikající didaktickou úroveň má obrazová dokumentace.

Text je v souladu s názvem a cíli průběžně veden vedle linie morfologické i po linii molekulárně- genetiké. Tento oddíl uzavírá přehledná kapitola o stagingu a *léčbě*, která představuje logický úvod k oddílu

Vlastní výzkum.

Metodika:

Specifický dvoustupňový screening rekurentních translokací karcinomů slinných žláz představuje vrcholnou metodickou úroveň přístupu. Byly využity technologické možnosti pracoviště a zároveň rozsáhlý archiv z bohaté diagnostické činnosti. Cílem je identifikace nádorů ovlivnitelných léčbou Entrectinibem- selektivním tyrozinkinázovým inhibitorem. Zvolený postup činí vyhledání ekonomicky únosným, zároveň je zajištěno dokonalé ověření přítomnosti mutace. To je nezbytné i ve vztahu k uvedené skutečnosti, že u imunoreaktivních tumorů byla následně genová aberace prokázána pouze v 8%.

Otázka oponenta (1):

Nespecifické imunopozitivity jsou v prekurzorických vyšetřeních před uplatněním molekulárně patologických postupů známy, nicméně 92% falešných pozitivit se mi jeví při použití koktejlu protilátek jako velmi vysoký podíl. Může se autorka vyjádřit k tomuto jevu?

Výsledky disertace:

Část I.

Nalezení 44 případů terapeuticky relevantních mutací je jednoznačně významným přínosem práce. Okolnost, že se jedná o 3 % testovaných nádorů, je současným faktem. Lze předpokládat, že dalších 5 % zjištěných mutací se v budoucnu rovněž stane terapeutickým cílem. Dovolila bych si zde pouze podotknout, že vyjádření čísel výrazně menších než 100 v procentech je statisticky nepřijatelnou extrapolací a potenciálním zdrojem velké chyby –

v tab. č. 14 je v procentech vyjádřen i jeden ze dvou nálezů... poslední sloupec bych doporučila vypustit.

Nic to nemění na skutečnosti, že genetické mapování nádorových procesů je nepochybně zásadně přínosné.

Otázka oponenta (2): Zůstává mutace ETV6-NTRK3 stále jedinečná (patognomonická) pro sekreční karcinom?

Část II.

V této části disertace se autorka zhostila nelehké úlohy v posilování role cytodiagnostiky salivárních lézí jakožto prvního morfologického diagnostického kroku. Nakolik je tato oblast potřebná rozvoje ukazuje i fakt, že pět ze šesti testovaných případů pochází z partnerského pracoviště v Tampere. Přínosem je propagace nově vzniklého mezinárodního standardu – Milánské klasifikace i praktická demonstrace použití kategorií tohoto systému v závislosti na dostupnosti materiálu a metodik pro upřesňující vyšetření.

Otázka oponenta (3):

Vzhledem ke kvalitativnímu posunu danému publikací Milánské klasifikace i dlouhodobé superkonziliární úrovni pracoviště autorky na poli salivární nádorové diagnostiky bych se ráda zeptala, zda byla dojednána těsnější spolupráce na poli cytodiagnostiky s klinickými specialisty? (Z naší zkušenosti je právě tento osobní mezioborový přístup nezbytnou podmínkou v zajištění reprezentativních vzorků)

Význam disertace (pro praxi a další rozvoj vědy):

Předložená disertace je inovativním a pečlivě zpracovaným spisem, který přináší nové poznatky pro implementaci metod molekulární biologie do diagnostiky nádorů slinných žláz. Zavedení metod molekulární biologie spojených s využitím molekulárně genetických znaků v případech salivárních karcinomů precizuje diagnostiku nádorů, slouží i k obohacení léčebných postupů.

Závěr: Disertantka zvolila jako téma své disertační práce aktuální a z medicínského hlediska důležitý problém - stanovení molekulárně genetických znaků karcinomů slinných žláz a jejich využití v diagnostice cytologické i bioptické. Metodika zpracování tématu je inovativní. Autorka přesvědčila, že ovládá metody badatelské práce, že je schopna samostatné vědecké práce. Svou disertační prací přináší nové poznatky pro diagnostiku a léčbu nádorů slinných žláz.

Disertační doktorská práce MUDr. Markéty Horákové splňuje veškeré legislativní podmínky v udělování vědeckých hodností a doporučuji proto disertační spis - Korelace imunohistochemických a molekulárně biologických metod v diagnostice nádorů slinných žláz - k obhajobě.

V Praze, dne 29. května 2019

Prof. MUDr. Jaroslava Dušková, CSc.