

Doc MUDr. Alexander Čelko CSc.

Děkanát 3.LF UK Praha

Vážený pane předsedo Oborové rady Preventivní medicína, dovoluji si poslat posudek **disertační práce MUDr. Petra Klézla**

„ Možnosti nastavení diagnostických a terapeutických algoritmů ke screeningu a efektivní léčbě nádorů ledvin jako prevenci selhání léčby“.

Práce obsahuje 61 stran srozumitelného textu v dobré typografické úpravě, psané dobrou češtinou i stejně kvalitní anglický překlad Souhrnu. Další stránky jsou věnovány obsáhlému seznamu literatury. Práce obsahuje názorné grafy, kvalitní obrázky a pečlivě sestavený seznam literatury, statistické metody jsou zvoleny racionálně.

- 1) Po **Úvodu** následuje kapitola **přehled řešené problematiky**, kde uvádí obecná i česká epidemiologická data, podrobně hodnotí problematiku karcinomu ledviny i nádorových markerů včetně problematiky cirkulujících nádorových buněk. Přehled uvádí nejen pohled na současný význam, ale i podrobné vysvětlení laboratorní detekce.
- 2) **Cíl práce** se zaměřuje na zhodnocení možnosti efektivního screeningu nádorů ledvin se srovnáním se zobrazovacími metodami, a jako druhý cíl pohled na nálezy Cytomorfologická analýzy CTC (vitální fluorescenční mikroskopie) a analýza genové exprese obohacených CTC u pacientů operovaných na urologické klinice FNKV Praha. Účelem je určit přítomnost CTC buněk v krvi pacientů s nádory ledvin, zhodnotit počty CTC dle velikosti nádoru a jednotlivých histologických typů a zhodnotit, zda může průkaz CTC napomoci k cílenému nastavení léčby v případě pokročilých stádií nádorů ledvin a zároveň jestli má vyšetření potenciál stát se vyšetřením používaným při určení stádia onemocnění renálním karcinomem a při sledování pacientů po operacích v rámci restagingu.
- 3) V kapitole **Pacienti a metody** definuje kritéria pro zařazení celkem 471 pacientů s nádorem ledviny do studie hodnocení významu diagnostických metod. Studie byla schválena Etickou komisí FNKV. V souboru pacientů s karcinomem ledviny bylo i 55 pacientů s duplicitou nádoru, u 47 byl nádor ledviny prokázán při stagingu jiného nádoru.

Zajímavá zjištění je, že i to, že v souboru detekce incidentálních nádorů ledvin, kterých bylo 347, dominovali urologové, kteří objevili nádor ledvin u 100 případů.

Další odbornost, která se významnou měrou podílela na odhalení nádoru ledvin byli onkologové s 60 záchyty nádorů ledvin, kteří diagnostikovali onemocnění v rámci pravidelného vyšetřování při sledování pro jiné onkologické onemocnění. Internisté a kardiologové odhalili 44 nádorů. Gastroenterologové a chirurgové odhalili dalších 22 nádorů ledvin.

Studie cirkulujících nádorových buněk využila data od 186 pacientů s resekční operací ledviny, kdy byla periferní krev odebírána před operací a v definovaných intervalech po operaci. Celkem bylo provedeno 495 CTC testů. Soubor je dostatečně reprezentativní, vyšetřovací metody jsou velmi dobře definovány a problematika dobře vysvětlena a v práci dokumentována.

4) V kapitola **Výsledky**

- V první části práce podrobně shrnuje jak význam jednotlivých diagnostických metod, tak i podrobné histologické výsledky a vztah jednotlivých metod k nim. Nejčastěji byl nádor ledviny nalezen pomocí ultrasonografie a CT v poměru 52 ku 48%. Náhodný nález byl v 83,5%, symptomatické onemocnění bylo u 7,4%. Ve více než 81% se pak jednalo o světlobuněčný renální karcinom.
- Z výsledků statistické analýzy vyplývá, že incidentální karcinomy zachycené vyšetřením pomocí UZ, tj. zachycené incidentálně, jsou četnější ve stádiu I (OR=1,57 (1,20-2,05), $p = 0,001$) a dále v podskupině pacientů ve stádiu I+II (OR=1,56 (1,20-)
- Při celkovém hodnocení všech pacientů bez ohledu na stádium onemocnění je též patrné, že incidentální karcinomy zachycené pomocí UZ bývají četnější než ostatní (OR=1,44 (1,17-1,79), $p = 0,001$).
- Při analýze významu CTC buněk autor zjišťuje, že CTC buňky byla nalezeny až u 76% pacientů, průměrný počet byl mírně vyšší u světlobuněčného RCC ve srovnání s ostatními typy. Celkem 270 vzorků bylo testováno jako pozitivních u ccRCC, 36 vzorků bylo testováno jako pozitivních u papilárních RCC a 30 vzorků u jiných typů RCC. Sledovány byly i Cytomorfologické parametry CTC, metabolická aktivita CTC buněk i analýza genové exprese CTC

5) V kapitole **Diskuze**

- V sledovaném souboru pacientů s incidentální nádorem autor nejčastěji pozoroval záchyt nádorů ledvin u pacientů příchozích s mikčnými potížemi s prostatou nebo indikovaných k preventivnímu vyšetření prostaty (až 22 % náhodných pacientů).

- Signifikantním nálezem bylo, že náhodný záchyt dominoval v časném stádiu karcinomu ledviny. Výskyt časných a pozdních stádií nebyl závislý na pohlaví, BMI ani na užívání antihypertenzní medikace.
 - Náhodně zjištěné nádory ledvin v I. stádiu jsou zpravidla zjištěny pomocí ultrazvuku.
 - autor souhlasí s citovanými prameny, že bez ohledu na histologický typ jsou incidentální karcinomu zachycené sonografem jsou častější, než detekce dalších solidních tumorů a proto je tato metoda vhodná i pro screening, problémem je relativně nízká incidence v populaci. Dle metanalýzy lze vyšetřením UZ detekovat 1-2 případy na 1000 asymptomatických pacientů.
 - Pro zavedení screeningu hovoří nutnost časného záchytu pro výsledek léčby i možnost společného vyšetření s aneurysmatem břišní aorty.
 - Autor cituje možnosti tekuté biopsie s využitím detekce CTC buněk, imunohistochemickou problematiku i možnost zvýšení záchytu separací buněk i riziko biopsie nádoru ledviny.
- 6) V **Závěru** autor doporučuje zařazení ultrasonografie břicha do screeningových programů, protože časný záchyt umožňuje snížit počet karcinomů pokročilejších stádií, snížit úmrtnost a prodloužit přežívání pacientů.

Výzkum CTC buněk směřuje k jejich molekulární charakterizaci, což by měla monitorovat vývoj nemoci v čase i hodnotit odpověď na léčbu. Významná je cesta studia CTC buňky za účelem studia exprese PD-1 a jeho ligandu PDL-1 a další markery, ovlivňujících reakci imunitního systému po podání nových imunoterapeutik.

7) **Souhrn** a jeho anglický překlad **Summary** shrnují cíle, metody i výsledky práce

Další součástí je zařazen seznam tabulek a literatury.

Připojeno je celkem 147 odkazů na publikace, odkazy nejsou bohužel očíslovány, stejně jako v textu, což zhoršuje orientaci, ke které části textu odkaz patří.

V textu jsou však prameny uvedeny včetně elektronického odkazu na původní zdroj, takže autor korektně uvádí prameny, které využil.

Odkazy jsou aktuální a shrnují současné poznatky. Pozitivně hodnotím skutečnost, že autor uvádí i domácí autory.

Publikace je doplněna užitými zkratkami.

V závěrečném seznamu vlastních publikací autor uvádí 2 publikace jako hlavní autor v zahraniční literatuře s impakt faktorem, které se týkají předmětu disertace. Další 2 práce jsou pak z prestižních českých časopisů.

MUDr. Klezl je také spoluautorem 6 prací v časopisech s impakt faktorem, které jsou zaměřeny na jiné oblasti, než je disertační práce, 11 prací pak je z časopisů bez impakt faktoru.

Závěr recenzenta:

- 1) Práce řeší aktuální medicínské problémy a výstup ve formě doporučení UZ screeningu má i celospolečenský význam
- 2) Zahrnuje dvě problematiky, studium možností detekce nádoru u velkého souboru pacientů, i vyhodnocení CTC buněk v rámci základního výzkumu.
- 3) Metody studií jsou dobře navržené, soubory pacientů dostatečně veliké
- 4) Zpracování údajů je korektní
- 5) Forma publikace je kvalitní, jen seznam literatury by měl být dle mého názoru očíslován a v textu by měly být odkazy pod číslem. V textu je korektně odkaz na autora a článek, ale vyhledat celý zdroj je obtížné.

Otázky pro autora:

- 1) Jaké je cena vyšetření CTC buněk a zdaje metoda rutinně dostupná pro další laboratoře
- 2) Zda autor plánuje další výzkum CRT buněk a jaký design studie navrhuje.

Na základě předložené práce s domnívám, že MUDr. Petr Klézl plně prokázal schopnost samostatné vědecké práce a proto doporučuji obhajobu disertační práce a následně i udělení titulu Ph.D.

Doc. MUDr. František Záfura, Ph.D.

Balcárkova 8a

779 00 OLOMOUC

fz@medkonsult.cz

