

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Studijní program: Biologie a patologie buňky

Název práce: MORFOLOGICKÁ A IMUNOHISTOCHEMICKÁ ANALÝZA MELANOCYTÁRNÍCH LÉZÍ

Autor disertace: MUDr. Bc. Miroslav Důra

Pracoviště: Ústav patologie 1. LF UK a VFN

Školitel: prof. MUDr. Pavel Dunder, PhD.

Oponent: doc. MUDr. Lumír Pock, CSc.

Pracoviště: Bioptická lab. s.r.o., Plzeň

Výzkumná část práce je zaměřena dvěma směry – na analýzu exprese GLUT-1 u melanocytárních lézí a porovnání 5 různých skórovacích systémů pro hodnocení tumor infiltrujících lymfocytů u melanomu.

1. Výsledky

A. Analýza exprese GLUT-1 u melanocytárních lézí.

Tato část disertační práce se zabývá imunohistochemickou analýzou exprese proteinu GLUT-1 u 400 případů melanocytárních lézí – névů a melanomu. Bylo zjištěno, že tento marker byl exprimován u signifikantní skupiny melanomů, avšak prakticky v žádném případě névu. Exprese GLUT-1 byla spojena s prognózou onemocnění – vyšší exprese korelovala s horší prognózou a s hodnotou dle Breslawa, nekorelovala signifikantně s pohlavím, věkem pacientů a lokalitou tumoru.

Výsledky prokázaly správnost obou hypotéz na začátku výzkumu:

Exprese proteinu GLUT-1 se liší u benigních a maligních melanocytárních lézí.

Exprese proteinu GLUT-1 koreluje s prognózou kožního melanomu.

Výsledky této části výzkumu byly publikovány v r. 2019 v časopisu s IF – 2,701 Pathol Oncol Res.

B. Porovnání 5 různých skórovacích systémů pro hodnocení tumor infiltrujících lymfocytů u melanomu.

V této části výzkumu se autor zabývá analýzou tumor infiltrujících lymfocytů na 213 melanomech – hodnotil rozložení a denzitu zánětlivého infiltrátu ve vztahu k prognóze. Srovnáno bylo v tomto směru 5 různých skórovacích systémů. Pouze ve 3 z nich byl zjištěn signifikantní význam jakožto prognostického ukazatele.

Výsledky prokázaly správnost většiny hypotézy:

Výsledek pěti skórovacích systémů hodnocení tumor infiltrujících lymfocytů u kožního melanomu koreluje s jeho prognózou.

Výsledky této části disertační práce byly publikovány v r. 2019 v časopisu s IF – 3,704 Pigment Cell Melanoma Res.

2. Použité metody

Autor pracoval s bioptickým materiálem pacientů, jejichž klinické parametry a prognóza byly dobře známy z archivu Dermatovenerologické kliniky VFN. Soubor pro první část práce byl homogenizován vyloučením vzácnějších typů melanomu, névů nebo sporných melanocytárních lézí. Laboratorní metody byly unifikovány provedením na jediném pracovišti – Ústavu patologie VFN a 1. LF UK.

V *první části práce* bylo využito H-skóre pro hodnocení výsledků s prahem pozitivita nejméně 15 a hodnocena byla jen membránová, nikoliv cytoplasmatická pozitivita, čímž se – na rozdíl od některých předchozích studií – zabránilo zkreslení výsledku nespecifickou pozitivitou. Hodnocení exprese GLUT-1 bylo provedeno dvěma nezávislými zkušenými patology a sporné případy byly diskutovány třetím patologem. Výsledky byly zpracovány za použití software Statistica 10 a konstrukcí Kaplan-Meierových křivek - k vyjádření vztahu mezi intenzitou exprese GLUT-1 a tří parametrů – specifického přežití, přežití bez lokálního relapsu a přežití bez vzdálených metastáz. Dále pak vztahu intenzity exprese GLUT-1 a hodnoty dle Breslawa, pohlaví, věku pacientů a lokalizace tumoru.

Ve *druhé části práce* šlo o vztah 5 skórovacích systémů hodnocení tumor infiltrujících lymfocytů k prognóze onemocnění ve třech parametrech – přežití bez nemoci, přežití bez lokální rekurence a přežití bez vzdálených metastáz. Analýza se soustředila jen na lymfocytární složku zánětlivých infiltrátů, která byla v hnízdech melanocytů nebo v přímém kontaktu s nimi a pouze na vertikální růstovou fázi. Hodnocení exprese tumor infiltrujících lymfocytů bylo provedeno dvěma nezávislými zkušenými patology. Výsledky byly zpracovány za použití software Statistica 10 a konstrukcí Kaplan-Meierových křivek.

Celkově lze hodnotit metodologickou stránku práce jako maximálně objektivní, reprodukovatelnou a exaktní.

3. Formální stránka

Práce obsahuje s přílohami 64 stran a je rozdělena na *část obecnou* (32 stran) a *výzkumnou* (9 stran) a je doplněna o 9 příloh.

Část *obecná* je rozdělena do 4 kapitol. V první je souhrn aktuálních poznatků o maligním melanomu z hlediska epidemiologie, diagnostiky, prevence a terapie. Ve druhé kapitole je současný pohled na histopatologii melanocytárních lézí. Ve 3. kapitole je pojednána struktura, funkce GLUT-1 a význam v imunohistochemii a diagnostice melanocytárních lézí. Ve 4. kapitole je tématem problematika tumor infiltrujících lymfocytů , zvláště ve vztahu k melanomu a dále skórovací systémy při hodnocení tohoto ukazatele.

Část *výzkumná* se zaměřuje na obě hlavní témata: analýzu exprese GLUT-1 u melanocytárních lézí a porovnání 5 různých skórovacích systémů hodnocení tumor infiltrujících lymfocytů u melanomu.

Práce je doprovázena 88 citacemi literatury a přehledem publikační činnosti autora. Z nich 4 publikace MUDr. Důry jsou s IF a 30 bez IF, z toho ve 20 člancích je prvním autorem. Dále jsou uvedeny 3 kapitoly autora v monografiích.

Práce obsahuje dále prohlášení o samostatném zpracování, identifikační záznam, vymezení cílů a stanovení hypotéz, popis metod, diskuse výsledků a jejich srovnání s literaturou. K práci je přiložen autoreferát.

Práce splňuje formální požadavky disertačních prací. Text práce je plynulý, čtivý, přitom věcný a stručný. Histologické obrazy jsou názorné pro pochopení kritérií použitých při hodnocení.

4. Význam pro rozvoj oboru

Diagnostika atypických melanocytárních lézí je pravděpodobně nejobtížnější kapitolou dermatopatologie. Důvodem je extrémní variabilita a schopnost vzájemné simulace mezi benigními a maligními formami. Navíc jde o problém každodenní při vysokých počtech excízií. Jakýkoliv další příspěvek ke zpřesnění diagnózy je proto **vysoce aktuální**. Ve srovnání s dosud publikovanými studiemi exprese GLUT-1 u melanocytárních lézí provedenými na jednotkách až desítkách melanocytárních lézí byla tato práce provedena na dosud největším souboru – řádově na stovkách. Navíc tyto minulé studie přinesly vzájemně rozporné výsledky. Její výstup je tedy **významným příspěvkem** k problematice v mezinárodním srovnání a bude s největší pravděpodobností použitelný i v rutinní diagnostické praxi.

Připomínka k textu

V Závěru se uvádí velice správně nutnost korelovat laboratorní nálezy s klinickými daty (anamnézou, klinickým a dermatoskopickým obrazem). Považoval bych za záslužné porovnat zde i význam vyšetření GLUT-1 s jinými imunohistochemickými metodami jako je p16 či PRAME, neboť ani vyšetření exprese GLUT-1 nebude onou silver bullet diagnostiky sporných melanocytárních lézí, ale jedním ze závaží na miskách vah.

5. Otázky k obhajobě

- 1) Výsledky studie exprese GLUT-1 lze z praktického diagnostického hlediska interpretovat následujícím způsobem - pozitivní GLUT-1 téměř vylučuje névus, negativní GLUT-1 může znamenat névus i melanom, cennější pro diagnózu je tedy jen (střední a silná membránová) pozitivita, nikoliv negativita. Jakou váhu pro rozlišení benigních a maligních melanocytárních lézí může mít exprese GLUT-1 ve srovnání s kombinací dvou jiných markerů - p16 a PRAME?
- 2) V úvodu k publikaci srovnávající skórovací metody se píše, že cílem studií zabývajících se hledáním univerzální skórovací metody pro hodnocení tumor infiltrujících lymfocytů by mělo být její zavedení do rutinní praxe. Po srovnání 5 skórovacích metod jsou 3 z nich prognosticky signifikantní. Která z nich se dle názoru autora nejvíce hodí pro rutinní práci a jaká je její časová náročnost?

6. Závěr

1. **Autor ve své disertační práci prokázal schopnost samostatné výzkumné práce v oboru dermatopatologie.**
2. **Práce splňuje požadavky kladené na disertační práci a opravňuje proto k udělení titulu Ph.D.**