

OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce "*Komplexní molekulární diagnostika gastrointestinálních stromálních nádorů*"

Autor: Mgr. Alena Kalfusová

Předložená disertační práce má tradiční členění. V úvodní stati jsou stručně charakterizovány gastrointestinální stromální tumory (GIST), exprese základních proteinů tyto nádory charakterizujících, popsány jsou základní mikroskopické varianty GISTu a širší klinická prezentace. Podrobně jsou popsány mutace genů *KIT* a *PDGFRA* se vznikem GISTu související a změny exprese nebo funkce proteinů těmito geny kódovaných. Následně jsou uvedeny principy cílené terapie GISTu inhibitory RTK, především imatinib mesylátem (IM) a problematika primární a sekundární rezistence na terapii IM. Dále jsou detailněji rozepsány základní tři cíle práce, k nimž patří identifikace primárních a sekundárních mutací genů *KIT* a *PDGFRA*, molekulární analýza *KIT/ PDGFRA* nemutovaných GISTů a expresní analýza mRNA markerů proliferace a senescence nádorových buněk ve vztahu k biologickým vlastnostem nádoru a k zpřesnění prognózy onemocnění

Oddíl Materiál a metodika uvádí široké spektrum metodických přístupů, odpovídající požadavkům na kvalitní práci. Uvedeny jsou původ a zpracování tkáňových vzorků, podrobně jsou popsány použité molekulárně genetické metody a statistická analýza získaných výsledků.

Získané výsledky vycházejí ze zpracování unikátního souboru 334 nádorových vzorků odebraných od 289 nemocných. Takto rozsáhlý soubor umožnil ověřit a statisticky potvrdit variabilitu a lokalizaci primárních mutací genů *KIT* a *PDGFRA*, které jsou podrobně rozepsány. K dalším významným výsledkům patří identifikace sekundárních mutací v těchto genech, které jsou hlavní příčinou získané rezistence na terapii IM, podrobná mutační analýza dalších vybraných genů u GISTů *KIT/ PDGFRA* nemutovaných a upřesnění významu stanovení exprese proliferačních markerů nádorových buněk pro hodnocení maligního chování nádorů a délky přežívání nemocných.

V připojeném seznamu literárních referencí je uvedeno 287 odkazů na převážně recentní odborné články.

K předložené práci nemám žádné výhrady. Téma je nesporně aktuální, jak rozsah práce, tak spektrum použitých metod zcela odpovídají přijatým požadavkům. Práce přispívá k rozšíření poznatků o spektru genových mutací u klinicky významného nádoru a jejich významu pro volbu terapeutické strategie i k praktickému použití markerů proliferace a senescence nádorových buněk pro určení maligního chování nádoru a prognózy nemocných. Výsledky byly publikovány jak ve formě dvou původních prací uveřejněných v mezinárodních odborných časopisech s IF, tak i ve formě dalších tří článků v odborných časopisech tuzemských; všechny tyto publikace jsou in extenso v příloze.

Je možné uvést několik spíše formálních připomínek:

1. str. 34, 35 – hodnocení biologického chování GIST – mělo by vycházet zejména z údajů publikovaných v posledních WHO klasifikacích nádorů, tj. klasifikace nádorů trávicího systému z roku 2019 (není v disertační práci uvedena) a nádorů měkkých tkání a kostí z roku 2020. V obou těchto klasifikacích je GIST uveden jako nádor variabilního chování, ale je kódován pouze jako nádor maligní (M-8936/3). Podle toho označení „benigní GIST“ zřejmě vychází ze starších publikací a bylo by vhodnější nádory tohoto typu označovat spíše jako „neagresivní“ nebo „velmi nízkého maligního potenciálu“.
2. str. 25 – nádorové buňky, které neprolifерují, nebývají metabolicky v klidovém stadiu, navíc neprolifерující terminálně diferencované nenádorové buňky bývají značně metabolicky aktivní.
3. str. 37 – exprese proteinu Ki-67 není spojena jen s proliferací nádorových buněk, ale všechny, i nenádorové buňky, které proliferují (jsou v některé fázi buněčného cyklu), vykazují jadernou pozitivitu tohoto proteinu.
4. v textu se opakovaně vyskytuje výraz „nádor v rámci GIT“, lépe je „nádor GIT“, nebo „nádor lokalizovaný v GIT“.

Otázky:

1. V disertační práci jsou zmíněny kmenové nádorové buňky GIST. Jsou tyto buňky v současné době nějak blíže charakterizovány?
2. Je známo, že zvýšená exprese TPX2 v různých maligních nádorech je spojena s jejich

agresivnějším chováním, tvorbou metastáz a kratším přežíváním nemocných. V případě hepatocelulárního karcinomu byl TPX2 identifikován jako jeden z biomarkerů spojených s kmenovými buňkami tohoto karcinomu. Lze o této možnosti uvažovat i u GIST?

Závěr:

Práce splňuje jak po stránce obsahové, tak po stránce formální, všechna požadovaná kritéria, přináší významné doplňující poznatky o genových alteracích u GISTu, jejich vztahu k chování nádoru a k rezistenci na terapii a prognostického významu stanovení exprese proliferačních markerů.

Autorka prokázala, že je schopna vědecké problémy formulovat a samostatně řešit a že má všechny předpoklady k další samostatné tvořivé vědecké práci. Disertační práci hodnotím jednoznačně kladně a doporučuji ji k obhajobě. Zároveň doporučuji, aby byl autorce předložené práce po úspěšně provedené obhajobě udělen titul „Ph.D.“ za jménem.

Praha, 5. 9. 2023

Prof. MUDr. Václav Mandys, CSc.
Ústav patologie UK-3. LF a FNKV
Šrobárova 50
100 34 Praha 10