

Oponentský posudek na disertační práci MUDr. Michaely Cabiňakové

„Detekce minimální reziduální choroby v kostní dřeni a periferní krvi u pacientek s karcinomem prsu“.

Praha, 25. května 2015

Tato práce byla vypracována na Onkologické klinice VFN Praha a 1. lékařské fakultě UK pod odborným vedením školitelky Doc. MUDr. Petry Tesařové, CSc. V této práci je shrnuto více než 5 let práce na této důležité problematice, která přispěla k ozřejmění detekce minimální reziduální choroby u pacientek s karcinomem prsu. Tato práce také vznikla za podpory projektů GAUK, PRVOUK, RVO-VFN a SVV, což je pozitivní. Řešená problematika je u nás prioritní a má pozitivní klinicko-diagnostické dopady pro řadu dalších onkologických center u nás, a v zahraničí.

Hodnocení předložené disertační práce sleduje následující oponentská kritéria:

1/ Základní scientometrická analýza.

Disertační práce je napsána čtivě, věcně a bez zásadních stylistických chyb. Po formální stránce má práce celkem 83 stran, včetně publikačních příloh. V obecné části je přehledně zpracována problematika karcinomu prsu, problematika metastáz u tohoto onemocnění, patogeneze diseminovaných a cirkulujících nádorových buněk a jejich role ve zvýšené morbiditě a mortalitě u tohoto nádorového onemocnění.

Uchazečka předkládá k oponentuře tři práce s impakt faktorem, kde ve dvou případech je první autorkou (*Neoplasma, Folia Biologica*) a ve posledním případě druhou autorkou u článku ve *Scand J Clin Lab Invest*, se sumárním impakt faktorem 4,87. Ve všech případech se publikovaná problematika týká hlavního tématu této disertační práce, tj. prediktivní role diseminovaných a cirkulujících nádorových buněk u karcinomu prsu.

Uvedený publikační výčet svědčí o dobré kvalitě odborné práce uchazečky a o splnění publikačních kritéria pro disertační práce na 1. lékařské fakultě University Karlovy.

2/ Cíle a hypotézy disertační práce.

Základním cílem disertační práce MUDr. M. Cabiňakové bylo a) vypracování rychlé a účinné imunologické a genetické metodiky pro detekci diseminovaných nádorových buněk v kostní dřeni u pacientek s časným karcinomem prsu pomocí denzní gradientové centrifugace a imunocytochemické detekce, b) stanovení cirkulujících nádorových buněk v periferní krvi u pacientek s časným karcinomem prsu (AdnaTest), c) korelace výskytu diseminovaných a cirkulujících nádorových buněk s klinicko-patologickými charakteristikami primárního nádoru, d) charakterizace vztahu mezi přítomností cirkulujících buněk v periferní krvi a diseminovaných buněk v kostní dřeni a e) monitoring výskytu těchto buněk v průběhu léčby pomocí neoadjuvantní a adjuvantní onkologické terapie

V souhrnu lze uvést, že cíle a hypotézy předkládané práce jsou adekvátně uvedeny a tak odpovídají obecným postupům uplatněným v kombinované imunologické a molekulárně genetické diagnostice v onkologii při stanovení metastatického potenciálu primárního nádoru.

3/ Aktuálnost zvoleného tématu disertační práce.

Karcinom prsu je morfoloicky a geneticky heterogenní onemocnění. V současné době, a to i přes velký pokrok onkologické terapie, je prognóza onemocnění limitována přítomností vzdálených metastáz, které jsou velmi často skryté a nedetekovatelné v průběhu stanovení primární diagnózy. To vede k tomu, že dosavadní metody pro predikci relapsu jsou nedostatečné. V poslední době se objevila řada metod, které využívají imunomagnetické, imunofluorescenční a molekulární metodiky k záchytu diseminovaných a cirkulujících nádorových buněk, a to až na úrovni jedné buňky. Uchazečka proto zvolila medicínsky důležitou a dosud ne zcela dořešenou problematiku vypracování rychlé a citlivé diagnostiky těchto buněk.

Studovaná problematika má i potenciální farmakoekonomické dopady z hlediska případné prognostické stratifikace pacientek s karcinomem prsu ve smyslu personalizované terapie, a eventuálně i ke snížení nákladů a minimalizaci nežádoucích účinků. V souhrnu uchazečka uchopila důležitou problematiku, kde nebyly dostatečně standardizované metody, a kde vyvstala naléhavá nutnost vypracování přesnějších diagnostických postupů.

4/ Použité metody v rámci disertační práce.

Klinický výběr padesáti pacientek splňoval všechny předpoklady pro studie tohoto typu a je shrnut v Tabulce 7. O velmi dobré metodické úrovni svědčí široké spektrum použitých klinicko-patologických a laboratorních postupů, včetně komerčních souprav (např. AdnaTest Breast Cancer, DynaBeads mRNA DIRECT Micro kitu). Nejsem sice expert na imunologické metody, ale velice si cením standardizace a validace metod podle obecných principů. Statistické metody jsou přiměřené a prověřené oponenty mezinárodních časopisů.

5/ Nové poznatky disertační práce a jejich význam pro další rozvoj oboru.

MUDr. Cabiňáková prokázala velmi dobrou metodickou kapacitu, která vedla k řadě zajímavých a prakticky důležitých výsledků. Pomocí imunocytochemické analýzy stanovila výskyt diseminovaných nádorových buněk u cca. 30% všech studovaných pacientek a cirkulujících buněk v cca. 22% všech případů. Tyto závěry jsou konsistentní se současnými klinickými studiemi, ale jejich vhodnost do diagnostické praxe je nutno ověřit. Záchyt diseminovaných nádorových buněk pozitivně koreloval s velikostí primární nádoru a infiltrací lymfatických uzlin. Diseminované nádorové buňky byly zachyceny především u ER/PR negativních a HER-2 pozitivních pacientek, přičemž pro cirkulující nádorové buňky tato pozitivita nebyla vyjádřena. Rovněž tak nebyla nalezena závislost mezi přítomností cirkulujících a diseminovaných nádorových buněk v kostní dřeni, což ukazuje na vyšší diagnostickou užitečnost vyšetření diseminovaných než cirkulujících buněk. Konečně nebyly nalezeny korelace přítomnosti obou typů sledovaných buněk u primární neodajuvantní terapie časně formy karcinomu prsu.

Vzhledem k dlouhodobému zaměření této studie dosáhla uchazečka velmi dobrých výsledků. Dosažené poznatky otevírají metodický prostor pro další studie tohoto typu, a především pak pro expresní a genomové profilování cirkulujících a diseminovaných nádorových buněk.

Otázky oponenta:

1/ z pozice molekulárního genetika bych se chtěl zeptat, zda by bylo možné vysledovat jiný rozsah metastazování u hereditárních forem karcinomu prsu (daných mutacemi v genech *BRCA1/2*) ve smyslu detekce diseminovaných a cirkulujících nádorových buněk?

2) jsou již známy předběžné výsledky u pacientek, které podstoupily adjuvantní onkologickou terapii?

Závěr: Disertační práce MUDr. Michaely Cabiňakové a přínosná i pro jiné imunologické- a molekulárně genetické studie metastatického potenciálu dalších nádorových onemocnění. Práce je tedy nejenom odrazem specifické problematiky karcinomu prsu, ale i vývoje onkologické laboratorní diagnostiky.

Předložená práce je věcná a má velmi dobrou odbornou úroveň, se širokým komplexem použitých klinických a laboratorních diagnostických metod. Předložené výsledky prošly zasvěceným kritickým hodnocením v impaktovaných časopisech, což vše jednoznačně svědčí o tom, že uchazečka má velmi dobré znalosti studovaného oboru.

Na předložené disertační práci jsem nenašel žádné formální a formulační nedostatky **a tak ji mohu plně doporučit k obhajobě.** Disertační práce prokazuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci a **tak doporučuji udělení titulu „Ph.D“ za jménem.**

S pozdravy!



Prof. MUDr. Milan Macek ml, DrSc.