

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci:

MUDr. Alexandra Švece

Expression of adaptor protein PAG/Cbp in non-neoplastic and neoplastic lymphoid tissue

Práce je podstoupena pro oponentské řízení a obhajobu v oborové radě Biologie a patologie buňky doktorského studijního programu v biomedicině Univerzity Karlovy v Praze.

Školitel:

prof. MUDr. Václav Mandys, CSc.

Posudek vypracoval:

prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Práce se monotematicky zaměřuje na průkaz a odhalení významu transmembránového adaptorového proteinu - regulační molekuly PAG (synonymicky Cbp) v nenádorové lymfatické tkáni a u lymfomů. Vychází z předpokladu, že tento protein, přítomný v membránách některých skupin lymfoidních buněk (B lymfoidní buňky zárodečných center lymfatických folikulů), by mohl mít význam regulaci buněčné proliferace a diferenciaci a v diferenciální diagnostice mezi některými lymfomy.

Disertace je psána v anglickém jazyce a je členěna na kapitoly – úvod s literaturou, rozborom patofyziologie molekuly PAG v hematopatologii s formulováním pracovních hypotéz, na výsledky a závěry. Literatura (135 odkazů) je vzorně zpracována a vesměs recentní. Jazykový styl práce je vytříbený a čtivý, prakticky bezchybný. Snad bych u lymfomů vynechal slovo maligní, vzhledem k tomu, že název lymfom již maligní nádor vymezuje. Úvod je velmi podrobný a prospělo by mu bývalo vložení schémat nebo obrázků, které by doplnily textovou část.

Významné je, že autor pracuje s novým a dosud neprobádaným tématem, volí vhodně formulované otázky týkající se významu molekuly PAG v patogenezi lymfomů a následně své teze ověřuje v praktickém experimentu. Metodika se opírá o imunohistochemický průkaz molekuly PAG ve tkáni, přičemž protilátka pochází z významného imunologického pracoviště profesora Hořejšího na téže fakultě, ze které pochází dr. Švec, a je dobře charakterizována.

Těžiště dizertace spočívá na dvou základních publikacích v zahraničních renomovaných časopisech, které jsou v plném textu s obrazovou dokumentací uvedeny jako součást disertace. První z publikací je nazvána pilotní studií a zabývá se lokalizací PAG proteinu v normální tkáni lymfatické uzliny a v některých lymfomech, přičemž se potvrzuje pracovní teorie, že PAG je exprimován v B buňkách zárodečných center a u lymfomů, které z buněk zárodečných center lymfatických folikulů vznikají, tj. zejména u folikulárních lymfomů (FL) a u některých difúzních velkobuněčných B lymfomů (DLBCL). DLBCL však v pilotní studii nejsou detailněji charakterizovány a autor logicky na toto významné téma navazuje ve své druhé práci o expresi proteinu PAG u DLBCL. Skupina DLBCL byla ve druhé studii stratifikována na základě imunohistochemické analýzy na dvě skupiny s profilem DLBCL exprimující proteiny buněk zárodečných center (GC-like DLBCL) a DLBCL s profilem odlišným od první skupiny, tedy non-GC DLBCL, což je v souladu se současným pohledem na imunohistochemickou subklasifikaci velkobuněčných B lymfomů (Hans et al. Blood 2004,

103, 275). Autor podstatně rozšířil i kontrolní soubory, takže mohl potvrdit své předchozí pozorování, že PAG je exprimován prakticky u všech FL. Navíc dokládá pozitivitu u Burkittova lymfomu, který vzniká také z buněk zárodečných center. Naproti tomu lymfomy z buněk pláště, z marginální zóny, chronická lymfatická leukémie jsou jako příklady vyšetřených B lymfomů PAG negativní. U DLBCL převažuje pozitivita těch, které mají imunofenotyp GC-like, i když exprese PAG není na tuto skupinu striktně omezena. Je zajímavá asociace s proteinem BCL-6, jak autor sám poukazuje, protože exprese této molekuly je vázána na vznik DLBCL z buněk zárodečných center.

Závěry:

Práce je napsána svěžím způsobem. Úvod je sice dlouhý, je však dobře členěný, logicky uspořádaný, a proto ani detailní popis není únavný. Pro práci má logiku v úvodu rekapitulovat i některé základní údaje WHO klasifikace lymfomů, protože tato podkapitola souvisí s vlastním experimentem a autor správně předpokládá, že potenciální čtenář a oponent nemusí pocházet z řad zasvěcených nebo informovaných odborníků v této oblasti.

Autor ve své práci:

1. Předkládá své znalosti a svou připravenost řešit onkohematologickou problematiku na mezinárodní úrovni.
2. Formuluje pracovní hypotézu a tu ověřuje svým vlastním experimentem.
3. Volí vhodnou metodiku průkazu molekuly PAG, zpracování tkání a podle oponentova názoru i hodnocení výsledků – procentuální hranice pozitivního / negativního výsledku jsou vždy předmětem polemiky a v rámci vývoje názorů pro danou problematiku nelze autorovi v tomto ohledu nic vytýkat.
4. Autor splnil svou publikační aktivitou v recenzovaných časopisech nároky kladené na uchazeče o obhajobu disertační práce v oboru Biologie a patologie buňky postgraduálního studia v biomedicině. Monotematicnost práce autora ukazuje na koncentraci na danou problematiku a to mu umožnilo proniknout i do silného konkurenčního publikačního prostředí.

Navíc chci jako oponent zdůraznit, že autor je plně graduovaný patolog, který již v minulosti svou publikační a přednáškovou aktivitou ukázal široký rozhled v oboru. To bych vyzvedl jako silné pozitivum. Postgraduální student po promoci může při koncentraci na jedno téma zpracovat vynikající studii, ale chybí mu celkový nadhled. Dr. A. Švec je plně vyzrálým patologem a jeho snahu pro rozvoj vlastního poznání je třeba vysoce ocenit.

Z uvedených důvodů mohu doporučit postoupení práce dr. A. Švece do dalšího řízení v oborové radě Biologie a patologie buňky. Sám za sebe doporučuji komisi předloženou práci akceptovat jako práci vhodnou pro udělení titulu Ph.D.

K práci mám následující dotazy:

1. Protože možnosti vyšetření širokého spektra lymfomů jsou omezené, plánuje autor pokračovat ve studiu molekuly PAG zejména ve směru diskriminace mezi klasickým Hodgkinovým lymfomem (cHL) a nodulárně lymfocytárně predominantním Hodgkinovým lymfomem (NLP HL)? Ve své druhé práci má vyšetřených 14 cHL a pouze jeden NLP HL.

2. Umí autor odhadnout, zda začlenění vyšetření dalších molekul buněk zárodečných center (HGAL a Jaw1) by při souborném vyšetřování spolu s molekulou PAG diskriminovalo DLBCL vzniklé z buněk zárodečných center lépe než vyšetření pouze PAG, BLC-6, případně CD10? Dovede odhadnout, že by se na základě těchto vyšetření vyčlenila z hlediska vyšetřovaných antigenů skupina lymfomů z aktivovaných B buněk (ABC-DLBCL), skupina GC-DLBCL a skupina lymfomů šedé zóny?

3. Protože pozitivita molekuly PAG je silně vázána na FL a není exprimována u lymfomů, které mají diferenciálně diagnostický vztah zejména k nízkostupňovým FL, je názor autora takový, že by vyšetření PAG mělo být součástí diagnostického panelu?

4. Jaký je pohled autora na vyšetření molekuly CD138 pro separaci non-GC DLBCL od GC-like DLBCL, jak uvádí např. studie, např. Chang, et al. Am J Surg Pathol 2004, 28, 264?

5. Má negativní nález PAG molekuly u primárních mediastinálních B lymfomů význam z hlediska odlišné patogeneze těchto lymfomů?

V Praze dne 15. června 2007

R. Kodet
Ústav patologie a molekulární medicíny
Univerzita Karlova v Praze
2. lékařská fakulta
V Úvalu 84
150 06 Praha 5 - Motol