

Oponentský posudek doktorské disertační práce
Ing. Anna Jakobová
3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Circulating tumor cells in personalized cancer therapy

Cirkulující nádorové buňky v personalizované onkologické terapii

Předložená disertační práce se zabývá zajímavou a důležitou problematikou personalizované medicíny a vyšetřením cirkulujících nádorových buněk (CTC). CTC jsou v onkologii testovány na úrovni nového diagnostického, prognostického a prediktivního biomarkeru. Experimentální část práce je zaměřena na molekulární analýzy krevních vzorků, izolaci CTC buněk u pacientů se solidními nádory a jejich molekulární a buněčnou charakterizaci ve vztahu k léčbě onemocnění.

Disertační práce komentuje 5 publikací, které byli publikované v renomovaných mezinárodních časopisech (*Ther Adv Med Oncol.*, *Breast Cancer Res Treat*, *Am J Cancer Res*), co svědčí o kvalitě prezentovaných výsledků a vysoké pracovní aktivitě PhD kandidátky a jejího vědeckého tréninku během doktorského studia. Ing. Anna Jakobová je prvním autorem u 2 z uvedených publikací. Předložené publikace jsou doplněné společným úvodem, stanovením cílů, popisem metodik, výsledků a diskusí ke každé publikaci. Celá práce je psaná anglicky velmi jasně a přehledně. Úprava práce plně vyhovuje formálním požadavkům kladeným na disertační práci.

Úvod je věnovaný literárnímu přehledu o současném stavu problematiky, kde se autorka zaměřila hlavně na oblasti související s jejími vědeckými výsledky. V dostatečném rozsahu jsou popsány různé typy nádorů, proces karcinogeneze, metastázy, CTC, způsob léčby a personalizovaná terapie u onkologických onemocnění. Důkladně se autorka věnuje diagnostickým biomarkerům a molekulární charakterizaci CTC v diagnostice. V této části práce je důležité vyzdvihnout orientaci autorky v dané problematice a uvedení do témy a teoretických částí, kterými se bude dále zabývat při jednotlivých publikacích, čím je čtenářům ulehčené porozumět problematice a výsledkům. Možná bych jen podotkla, že některé části v úvodě by vyžadovali více referencí (např. kapitola o angiogeneze, lymfogeneze). V části o faktorech ovlivňujících růst nádorů, jako angio/lymfo markery nebo cytokiny, by bylo dobře diskutovat, jak se mění jejich exprese v průběhu karcinogeneze, aby bylo jasné při představení výsledků, jestli jsou v souladu s literaturou anebo vykazují nějaké odchylky. Dále mi v úvodu, v části o izolaci CTC, chybělo porovnání metody MetaCell™ zavedené v laboratoři doktorandky, s jinými metodami využívanými v oblasti CTC - diagnostiky. Bylo by možné tuto informaci a srovnání oproti jiným metodám doplnit?

Hlavním cílem disertační práce bylo charakterizovat buněčné a molekulární vlastnosti CTC buněk izolovaných u pacientů s různým nádorovým onemocněním a korelovat výsledky s prognózou onemocnění. Konkrétní cíle jsou dále specifikovány v jednotlivých publikacích. Metodická část je důkladně popsána. Tady bych možná uvítala, kdyby autorka zmínila, které metody zvládla sama.

Na základě výsledků uvedených a stručně shrnutých v Kapitole 4 a v publikacích, konstatuji, že cíle disertační práce byli splněné. Získané výsledky jsou přehledně popsány a názorně doložené v grafech a tabulkách. Z hlavních výsledků je možné shrnout:

- Počet CTC a jejich molekulární charakter vykazoval dynamický vývoj a heterogenní povahu nejen mezi pacienty, ale také v rámci nádorové tkáně pacienta. Charakter primárního nádoru, CTC a metastáz není vždy konzistentní a během procesu léčby se mění, což může významně ovlivnit reakci na léčbu.
- Analýzy genové exprese genů spojených s nádorem, epiteliálně-mezenchymálním přechodem, vlastnostmi podobnými kmenovým buňkám a chemorezistencí u CTC odhalili dynamické změny v expresi markerů. Bylo zjištěno, že charakter CTC nekoreluje s charakteristikami odpovídajícího primárního nádoru.

Získané výsledky dokazují, že autorka získala při řešení sledovaných cílů několik nových poznatků v oblasti nádorové biologie a nových diagnostických postupů. Předložené výsledky rozvíjejí nejenom dosavadní úroveň poznání v dané problematice, ale jsou také důležitým podkladem pro nové strategie v rámci prevence a/nebo snížení růstu nádorů u pacientů.

Připomínky a dotazy:

Všechny publikované články přešli náročným recenzním řízením, které dostatečně prokazuje jejich kvalitu. K práci nemám žádné závažné připomínky, dotazy směřuji k upřesnění některých detailů a k diskusi návrhů pro další práci a nové hypotézy.

- 1) V teoretickém úvodě je diskutována změna metabolismu při transformaci z normální na maligní buňku. Víte popsat o jaký typ změny metabolismu jde? Oxidativní fosforylace vs. glykolýza- proč to maligní buňky mají takto zařízené?
- 2) Můžete uvést společné/odlišné črty nádorové a kmenové buňky, případně nádorové kmenové buňky (cancer stem cell)?
- 3) Co ovlivňuje migraci CTC buněk mimo místo primárního tumoru do okolitých i vzdálenějších orgánů? Jsou známé faktory, které určují, např. u karcinomu prsní žlázy, metastazování do jater, kosti, plic? Mohli byste tuto tému více rozvést a případně vyslovit hypotézu, proč se to děje právě v těchto orgánech?
- 4) Mezi rizikové faktory karcinomu prsní žlázy byly zahrnuty i metabolické faktory, zjistili jste ve Vašich studiích, jestli obezita /metabolické poruchy/, věk zvyšovali výskyt karcinomu prsní žlázy a zhoršovali prognózu u pacientů? Měli pacienti vyšší výskyt metastáz? Můžete to rozvést a okomentovat ve vztahu k Vaším studiím.
- 5) Jak byste popsala kultivaci a izolaci CTC u pacientů s různým typem nádorů? Pozorovali jste jinou cytomorfologii CTC buněk dle typu nádorového onemocnění?
- 6) K publikaci II: Měřili jste proliferační/invazivní schopnosti/migraci CTC buněk a korelovali jste tyto funkční vlastnosti s expresí markerů nádorových buněk?
- 7) K publikaci III – Presentujete jednotlivé případové studie (case reports) s různými diagnózami a prognózami léčby. Ve vztahu k personalizované terapii, jaké jsou Vaše pozorování a závěry, týkající se změny exprese nádorových markerů u CTC?
- 8) V rámci Vašich výsledků diskutujete heterogenitu CTC buněk, zkoušeli jste specificky odebrat populace buněk dle velikosti a porovnat jejich expresní profil nádorových markerů?

9) Otázku buněčné heterogenity speciálně u nádorových onemocnění se snaží v dnešní době vědci zkoumat pomocí „single cell RNA sequencing“. Myslíte, že je to metoda, která má do budoucna šanci přispět výrazně k personalizaci onkologické péče?

Závěr:

Předložená práce řeší aktuální problematiku personalizované diagnostiky u nádorových onemocnění. Vyšetření cirkulujících nádorových buněk z krve pacientů je představeno jako nový biomarker, který může být testován během léčby pacientů. Klinické a molekulární analýzy byly provedené na špičkovém oddělení s použitím metod odpovídajících současným trendům v dané oblasti výzkumu. Příložený soubor publikací dokumentuje, že výsledky studií byli publikované v mezinárodních impaktovaných časopisech. Důkladné shrnutí současných poznatků z literatury a vlastní interpretace získaných dat dokazuje, že autorka je seznámená s problematikou v dané oblasti a je schopná rozvíjet vědecké přístupy při řešení zvolené problematiky. Celkově má disertační práce velmi dobrou úroveň.

Práce prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „PhD.“ za jménem.

Michaela Tencerová

Mgr. Michaela Tencerová, PhD.
Molekulární fyziologie kosti
FGÚ AV ČR, Praha

Praha 19.8. 2021