

**ÚVN**ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha**M 8183****Oddělení patologie**

Posudek disertační práce MUDr. Kateřiny Trkové (2. LF UK, Obor Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie) nazvané „Specifika biologie gliálních nádorů vysokého stupně malignity dětského věku“

Předkládaná disertační práce MUDr. Kateřiny Trkové je psána formou in extenso komentáře k několika původním textům autorky, jež byly publikovány v časopisech s impakt faktorem a jež jsou zahrnuty jako přílohy k vlastnímu textu. Tématem disertační práce je problematika high grade gliálních nádorů (gliomů) dětského věku a multimodální analýza těchto nádorů se zaměřením především na jejich genetické a epigenetické vlastnosti, jež by bylo možné využít pro účely diagnostiky, prognostifikace a prediktivního testování. Téma práce je aktuální a důležité, vzhledem k vzácnosti těchto tumorů a jejich výrazně nepříznivému biologickému chování.

Disertační práce má celkem 115 stran, zahrnujících vlastní text a dále celkem 3 přílohy, jež odpovídají původním článkům autorky uveřejněným v časopisech s impakt faktorem. Dva z těchto článků jsou prvoautorské. Dohromady články představují výstup z vlastní analýzy studovaného souboru popisovaného v textu disertace. První článek byl otištěn v prestižním časopise Cell a doktorandka je zde jedním ze spoluautorů. Text komplexně analyzuje unikátní kohortu celkem 95 vzácných high grade gliomů s alterací H3 G34R/V a pomocí genetických a epigenetických metod analyzuje patogenezi tohoto tumoru a vliv dalších genetických alterací na jeho fenotyp. Jedná se o jeden ze zásadních textů pro poznání tohoto vzácného a vysoce letálního nádorového onemocnění. Druhá práce je prvoautorskou kazuistikou popisující unikátní případ low-grade gliomu s MYB-alterací v podobě fúze MYB::QKI a s příznivým klinickým průběhem, jenž se klinicky a radiologicky manifestoval pod obrazem agresivního difúzního pontinního gliomu. Publikace ilustruje limity standardního histopatologického vyšetření kombinovaného s omezeným genetickým vyšetřením a podtrhuje význam metylačního profilování pro přesné a klinicky relevantní zařazení mozkových nádorů s atypickými klinickými charakteristikami. Toto přesné zařazení má navíc přímý význam pro další terapeutický postup. Poslední publikace je unikátní retrospektivní klinikopatologickou analýzou celkem 12 radiací indukovaných gliomů (RIG) diagnostikovaných během 22 let v autorčině mateřské instituci. Práce statisticky hodnotí riziko vzniku těchto nádorů po ozáření neuraxis, jejich klinické chování a také jejich epigenetické charakteristiky. Cenným poznatkem této práce je častá příslušnost těchto nádorů k metylační skupině pediatrických high grade gliomů RTK1 subtypu, což významně napomáhá v diagnostickém odlišení od případné recidivy původního nádorového onemocnění. Výše uvedené publikace, spolu s dalšími pracemi autorky uvedenými v sekci 11, jež primárně nesouvisí s tématem high grade gliomů dětského věku, dobře ilustrují schopnosti samostatné vědecké práce doktorandky.

Vlastní text disertační práce na celkem 49 stranách se vyznačuje standardním členěním (Úvod, Cíle, Metodika, Výsledky, Diskuze a Závěr) a obsahuje celkem 87 citací relevantní recentní literatury. Úvod čtivou a přehlednou formou seznamuje se základní problematikou současné klasifikace high grade gliomů dětského věku. Autorka v krátkosti představuje jednotlivé subtypy těchto tumorů, jejich typický genetický i epigenetický profil, klinické charakteristiky a současné terapeutické možnosti. Cílem vlastní práce je genetická a epigenetická charakteristika retrospektivní kohorty 114 dětských high grade gliomů, včetně podskupiny radiací indukovaných tumorů. Metodika práce adekvátně využívá jednak prostých sekvenčních metod, sekvenování nové generace a dále metylační analýzy, jejich principy i praktické provedení jsou v textu stručně a výstižně popsány.

Výsledky práce shrnují molekulárně genetické charakteristiky u celkem 100 nádorů s dostatkem materiálu pro všechna nezbytná molekulárně genetická vyšetření. Autorka identifikovala 42 nádorů s mutací v genech pro Histon 3: z toho 38 ve středočárových strukturách s alterací v kodonu 27 a 4 hemisferické gliomy s alterací v kodonu 34. Další 3 gliomy v thalamické lokalizaci overexprimovaly EZHIP a náležely tedy do stejné WHO kategorie jako nádory s mutací H3 K27. U 11 pacientů byl gliom asociován s radioterapií. Zbývajících 44 pacientů představovalo heterogenní skupinu s lepší klinickou prognózou, oproti skupině poradiačních tumorů a nádorů s alteracemi v Histonu 3. Poměrně zásadní byla identifikace 10 pacientů označených jako „LGG-like“, převážně s alteracemi v genu *BRAF* a metylačním profilem PXA-like anebo odpovídajícím pilocytárním astrocytomu. Ačkoliv byl histologický nálezn u těchto pacientů diagnostický pro high grade gliom, další klinický vývoj těchto pacientů koreloval s molekulárně genetickým profilem a tato skupina tak poukazuje na limitovanou roli samostatného histologického vyšetření v state-of-art diagnostice mozkových nádorů dětského věku. Další minoritně zastoupenou skupinou byly 4 tumory s *MYCN* amplifikací, 3 infantilní high grade gliomy s fúze kináz *NTRK* a *ROS1*, 2 tumory s *IDH* mutací a 1 tumor s hypermutovaným fenotypem. Jako určitý nedostatek hodnotím absenci informací o zbývajících nádorech, jež byly v rámci kohorty zhodnoceny.

Diskuze na 7 stranách odpovídajícím kritickým způsobem hodnotí získaná data, především s důrazem na praktické využití nově identifikovaných genetických alterací (např. mutace *PDGFRA* u HGG s H3 G34 mutací) a jejich potenciál pro cílenou léčbu u dětských pacientů. V krátkosti jsou probrány též další nové terapeutické možnosti u high grade gliomů s alterací H3 K27 a kriticky jsou zhodnoceny jejich limity. Diskuze dále zohledňuje klinický význam identifikace nádorů s alteracemi MAPK signální dráhy pro další cílenou terapii pacientů. Poslední část diskuze se zabývá poznatky o RIG v kontextu vyšetřené kohorty a světové literatury, včetně radiologického nálezu; ačkoliv mají tito pacienti obecně velmi špatnou prognózu, autorka poukazuje na výskyt případů s alterací MAPK dráhy a lepším přežitím. Diskuze shrnuje současnou problematiku klasifikace gliomů, podtrhuje nedostatky a limity samostatného histologického vyšetření a zdůrazňuje přínos genetických a epigenetických metod pro přesné zařazení těchto nádorů a jejich následnou náležitou terapii.



Oddělení patologie

V závěru lze říci, že se jedná o přehlednou a aktuální disertační práci s originálními a vědecky významnými publikačními výstupy. Texty prokazují odpovídající klinický a biologický rozhled v uvedeném tématu, schopnost kritické práce s literaturou, dobrou schopnost experimentální práce a celkově schopnost samostatné vědecké činnosti autorky. **Na podkladě předložené disertační práce doporučuji, aby v případě úspěšné obhajoby disertační práce byl MUDr. Kateřině Trkové udělen dle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb. akademický titul doktor (ve zkratce Ph.D.).**

Otázky pro doktorandku:

- 1) V sekci Výsledky jsou u 44 gliomů bez H3 alterace (včetně EZHIP overexprese) analyzovány jednotlivé podskupiny těchto nádorů. Počty pacientů analyzované dále v textu (tj. 2 IDH mutované tumory, 10 LGG-like tumorů, 4 MYCN amplifikované tumory, 3 Infantilní HGG a 1 případ hypermutovaného HGG) však popisují pouze část této podskupiny. Jaké byly genetické, epigenetické a případně i histologické charakteristiky zbývajících 24 tumorů?
- 2) Nádory asociované s poruchami v MMR genech často spadají do metylační podskupiny pedHGG_RTK1, obdobně jako RIG a hypermutovaný gliom popisovaný v této práci. Lze na podkladě analýzy studované kohorty pacientů anebo na podkladě analýzy dostupné literatury zhodnotit, zda se radiací indukované gliomy a potažmo celý metylační subtyp pedHGG_RTK1 vyznačuje obecně vyšším výskytem mutací (TMB)? Existují údaje o expresi PDL1 u této skupiny pacientů (pedHGG_RTK1 obecně) a o případném použití imunoterapie?

V Praze, dne 5/6/2024

prim. MUDr. Jiří Soukup, Ph.D.

Oddělení patologie, Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice
Fingerlandův ústav patologie LFHK a Ústav patologie, 1. LF UK