

---

Dne 4.srpna 2008

## ***Oponentský posudek disertační práce MUDr.Šárky Lukešové***

### **Oponovaná disertační práce:**

**Sledování markerů angiogeneze u nemocných s renálním karcinomem a jejich klinické využití**

### **Autor disertace:**

**MUDr.Šárka Lukešová**, Klinika onkologie a radioterapie UK Praha, LF v Hradci Králové a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

### **Oponent:**

**Prof.RNDr. Jiřina Vávrová, CSc.**, Katedra radiobiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví UO Hradec Králové

Oponovaná disertační práce MUDr.Šárky Lukešové má celkem 141 stran. Skládá se z literárního úvodu (51 stran textu), metodické části (6 stran), výsledků práce (21 stran), diskuse a závěru (11 stran). Graficky je velmi dobře dokumentována, obsahuje 10 barevných obrázků a 36 grafů. Literatura obsahuje 414 citací. O aktuálnosti daného tématu svědčí skutečnost, že 75% citací je z posledních osmi let. Práce je sepsána srozumitelnou formou, dobrou češtinou s minimem překlepů.

**Cílem** uvedené práce bylo stanovení angiogenních faktorů v séru nemocných s různými stádii renálního karcinomu pomocí komerčně dostupného kitu k monitorování sérových hladin angiogenních faktorů.

Ve velmi obsáhlém literárním úvodu se autorka věnuje procesu karcinogeneze popisuje molekulární mechanismy vedoucí k rozvoji nádorů. Nezbytnou podmínkou růstu nádorů je vznik nového cévního zásobení, které zajistí dodávku krve nádorovým buňkám. Angiogeneze je přirozeně stimulována hypoxickým prostředím rostoucího nádorového klonu. Nádorové ložisko může bez cévního zásobení dosáhnout nejvýše rozměru 1-2 mm<sup>3</sup>. Pro přežití nádorové klonu je třeba vzniku nového genotypu se zvýšenou produkcí angiogenních faktorů ((angiogenní „switch“). Vaskularizace nádorového ložiska umožní jeho perfuzi a další růst.

Angiogenní faktory studovala autorka na souboru 32 pacientů se světlobuněčným renálním karcinomem. U všech nemocných byl odstraněn primární nádor ledviny. Pacienti byly operovány v různé fázi onemocnění. Nemocní byly rozděleny do skupin podle stádia choroby. Kontrolní soubor tvořilo 14 zdravých dobrovolníků. Mezi pro a anti –angiogenní faktory patří celá řada cytokinů, chemokinů a růstových faktorů k jejichž stanovení v pacientově séru autorka použila RayBio Human Cytokine Array a byla použita souprava RayBio Human Angiogenesis Antibody Array 1. Obrázek jednotlivých spotů byl převeden do digitální podoby a vzniklé obrázky vyhodnoceny softwarem ARES. Koncentrace jednotlivých proteinů je vyjádřena jako relativní intenzita zbarvení spotů vzhledem ke kontrolním hodnotám. Statistické hodnocení výsledků bylo provedeno pomocí programu NCSS 2007, Statistica. Použitou metodou byly detekovány sérové hladiny angiogeninu, PDGF, ENA-78, pan –GRO, IL-8, IL-6, leptinu, EGF, MCP-1, TIMP-1, TIMP2 a RANTES. Testem nebyly detekovány VEGF, VEGF-D, bFGF, TGF  $\beta$ 1, IGF-1, PlGF, trombopoetin a IFN- $\gamma$ . Autorka prokázala u pacientů s renálním karcinomem vzestup sérových hodnot angiogeninu, PDGF, ENA-78 (CXCL 5) a pan-GRO (CXCL 1-3) ve srovnání se zdravými osobami. U některých angiogenních faktorů (MCP-1, TIMP-1, TIMP2 a RANTES) se hodnoty angiogenních faktorů zvyšovaly pouze u stádia I-III a u nemocných ve IV. stádiu již zvýšeny nebyly. U většiny faktorů vlastní operace neovlivnila významně hladinu studovaných faktorů ani 7. den, ani 8. týden po operaci. Pouze dva faktory IL-8 a leptin byly významně ovlivněny operací. Hladina IL-8 se nelišila u zdravých osob a osob s karcinomem v I. a II. stádiu, naopak byla významně zvýšena u nemocných ve III. a IV. stádiu. Zajímavým pozorováním je pokles IL-8 po odstranění primárního nádorového ložiska již 8. den po operaci. IL-8 patří mezi ELR+ CXC chemokiny s proangiogenními vlastnostmi.

V předložené disertační práci jsou velmi dobře popsány složité vztahy mezi jednotlivými cytokiny ovlivňujícími angiogenezi u renálního karcinomu. K hodnocení angiogenních faktorů byl použit RayBio Human Angiogenesis Antibody Array 1, kterým však bylo možno detekovat pouze 12 z 20 možných faktorů. Z hlediska publikační aktivity autorka splnila počet požadovaných publikací. Je autorkou (17) resp. spoluautorkou (7) 24 publikací (4 v časopisech s IF).

### **Otázky a připomínky recenzenta:**

Z výsledků vaší práce vyplývá, že ze všech sledovaných angiogenních faktorů právě sérová hladina IL-8 nejlépe vypovídá o stádiu onemocnění a jeho hladina také nejlépe odpovídá na odstranění nádoru. Mohla byste vysvětlit význam tohoto zjištění z hlediska možné terapie monoklonálními protilátkami proti receptorům tohoto faktoru?

### **Z á v ě r :**

Obsahem i rozsahem se jedná o práci splňující požadavky kladené na disertační práce. Autorka prokázala, že je zkušeným pracovníkem s rozsáhlými literárními znalostmi z oboru onkologie i imunologie. Práce byla naplánována, provedena a sepsána vědecky odpovídajícím způsobem. Byly použity moderní diagnostické metodiky. Práce přináší nové poznatky o hladinách angiogenních faktorů v séru nemocných s renálním karcinomem a jeho ovlivnění velikostí primárního nádorového ložiska.

Předložená práce vyhovuje všem předpisům stanoveným pro disertační díla. Proto ji navrhuji **přijmout** a dr. Lukešové udělit vědeckou hodnost **Ph.D.**

Prof.RNDr. Jiřina Vávrová, CSc.