

Oponentní posudek dizertační práce
MUDr. Tomáše Rozkoše
v doktorském studijním programu Patologie
na téma

**„ Stanovení optimálního vyšetřovacího algoritmu pro efektivní vyhledávání
nemalobuněčných karcinomů plic s přestavbou genu *ALK*“.**

Školitel: Prof. MUDr. A. Ryška, Ph.D.
Školitel - konzultant: Doc. MUDr. J. Laco, Ph.D.

Předložená dizertační práce je věnována aktuálnímu tématu v oblasti prediktivní patologie plicních karcinomů, a to stanovení optimálního postupu laboratorního vyšetřování pro detekci pacientů s přestavbou genu *ALK*, kteří jsou vhodní pro léčbu *ALK* inhibitory. Studie měla dvě fáze - retrospektivní a prospektivní. Cílem retrospektivní části studie bylo nalezení optimálního klonu imunohistochemické protilátky proti *ALK* proteinu, který bude mít dostatečnou senzitivitu a specifitu, aby jej bylo možné použít jako screeningové metody při výběru případů nemalobuněčného karcinomu plic pro následné testování přestavby genu *ALK* metodou fluorescenční in situ hybridizace. Takto zjištěná optimální imunohistochemická metodika detekce exprese *ALK* proteinu byla následně ověřena v prospektivním rutinním vyšetřování pacientů s NSCLC. *ALK* status byl korelován s morfoloickým vzhledem tumorů a s vybranými klinickými údaji. Dalším důležitým cílem práce bylo posouzení diagnostické výtěžnosti „malých“ biopsií, tj. endobronchiálních, transbronchiálních a transtorakálních biopsií a cytobloků, pro vyšetření přestavby genu *ALK*.

Práce čítající celkem 99 stran textu (bez literárních odkazů a obrazové přílohy) je členěna do několika oddílů. V prvním je uveden obecný úvod do problematiky plicních karcinomů, do jejich klasifikace a do současných možností vyšetřování prediktivních znaků. V metodické části je charakterizován soubor vyšetřovaných tkání a popsány všechny využití metodické postupy zahrnující imunohistochemii, fluorescenční in situ hybridizaci a použité statistické metody. V dalším oddíle jsou shrnuty výsledky práce - byly nalezeny dvě srovnatelně citlivé imunohistochemické metody vhodné pro detekci exprese *ALK* proteinu u nemalobuněčných plicních karcinomu a tento algoritmus byl ověřen prospektivní studií a zaveden do rutinní diagnostické praxe. Vzhledem k prokázané homogenitě nádorové populace při imunohistochemickém vyšetření i při vyšetření FISH autor konstatuje, že navržený algoritmus je vhodný i pro testování na "malých" biopsiích bez rizika falešné negativity. Jako velmi důležité považují pozorování, že existuje možnost falešné

negativity imunohistochemické detekce ALK proteinu u tkání, které prošly zmražením.

V následné diskuzi autor prokázal široký rozhled po studované problematice a schopnost efektivní práce s literaturou, která je prezentovaná seznamem 351 kvalitních a aktuálních referencí.

V příloze jsou výsledky ilustrovány 14 mikrofotografiemi.

Z dizertační práce je zřejmé, že autor zvládl základní publikační dovednosti, práce je psaná koncisně s dobře popsanými cíly, metodikou i formální stránkou prezentace dosažených výsledků; také jazyková úroveň je vysoká. Autor prokázal zvládnutí moderních výzkumných i diagnostických metod v patologii, zejména pak imunohistochemickou analýzu a FISH, i metodiku statistického zpracování dat.

K předložené práci nemám výraznější výhrady, spíše pár okrajových poznámek. Úvodní stať (jakkoli zajímavě je napsaná) je zbytečně dlouhá a uvádí rozsáhlý přehled informací, které se ale často vlastní dizertační práce netýkají. Podobně působí poněkud rušivě uvádění rozsáhlých tabulek kompletních výsledků jednotlivých pacientů - pro potřebu této práce by bylo vhodnější uvádět pouze sumární výsledky.

K předložené práci mám tyto **otázky**:

1. Intenzita imunohistochemických reakcí může mírně kolísat zejména u větších tkáňových bloků v závislosti na postupné fixaci v preanalytické fázi. Nemohl tento fakt nějak ovlivnit výsledky při náhodném vybírání oblastí pro tissue microarray? Ve studii byly z každého bloku odebrány pro vyšetření TMA dvě oblasti - lišily se nějak výsledky testování v rámci jednoho bloku?

2. Má autor informace o léčebné odpovědi svých pacientů s přestavbou genu *ALK*? Bylo by zajímavé zjistit, zda odpověď na léčbu v daném souboru koreluje např. s intenzitou imunohistochemické reakce či jinými parametry nádorové tkáně.

3. Zajímavý je popis vedlejšího nálezu a to výrazné amplifikace genů *ALK* a *EML4* u FISH-negativního ale imunohistochemicky pozitivního případu. Jaké jsou současné literární zkušenosti s touto situací zejména ohledně vhodnosti biologické léčby?

Závěrem lze shrnout, že se jedná o kvalitně zpracovanou dizertační práci na aktuální medicínské téma s praktickým dopadem, ve které autor prokázal odborný i výzkumný kredit a nabytí vyžadovaných dovedností v postgraduálním doktorském studiu.

Předložené výsledky jsou navíc dobrým východiskem pro další samostatnou tvořivou vědeckou práci.

Tento spis je dobrým podkladem pro obhajobu dizertační práce, na podkladě které **doporučuji** oborové radě udělit MUDr. Tomáši Rozkošovi titul „Ph.D.“ za jménem.

V Praze, dne 26. března 2017

Prof. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.
Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 Motol
tel.: 224 435 635
email: josef.zamecnik@lfmotol.cuni.cz