

Posudek na doktorskou disertační práci:

MUDr. David Sumerauer

Detekce a ex vivo eliminace reziduálních nádorových buněk Ewingova sarkomu perzistujících v autologních štěpech hematopoetických kmenových buněk.

Práce na 66 stranách textu s 24 tabulkami, 21 obrázkem a 116 citacemi shrnuje stále otevřenou a diskutovanou problematiku minimální reziduálních choroby u nádorových onemocnění a jejího významu a dopadu na léčebnou strategii včetně ex vivo eliminačních technik v případě indikace vysokodávkované terapie s autologní transplantací krvetvorných buněk. Autor tak činí na sestavě nemocných s Ewingovým sarkomem.

Práce je doprovázena výčtem autorových publikací vztahujících se k tématu: v časopisech s impact faktorem (celkem 8, z toho 2x jako první autor, 2x jako druhý autor), v časopisech s recenzním řízením (celkem 5, z toho 1x jako první autor, 3x jako druhý autor) a přehledem publikovaných abstrakt.

Další přílohu tvoří čtyři publikované práce, bezprostředně se vztahující k problematice, na něž se autor ve vlastní práci odvolává.

Po formální stránce je práce velmi dobře zpracovaná a dokumentovaná včetně seznamu použitých zkratk a nemá prakticky žádné připomínky.

Z práce vyplývá velmi dobrá teoretická připravenost autora, což je nutné ocenit zejména z toho pohledu, že se jedná o práci vyžadující znalosti a zvládnutí technik molekulárně biologických, imunofenotypizačních i práci s buněčnými kulturami. Zároveň prokázal znalosti z oblasti klinické medicíny a schopnosti aplikovat ex vivo manipulované vzorky v rámci klinické intervence. Jedinými dvěma drobnými poznámkami k teoretickým úvodům by mohlo být, že v kontextu celé práce s tak dobrou vlastní dokumentací a literárními odkazy by mohly být trochu stručnější. Druhá poznámka se týká interpretace dosud publikovaných dat týkajících se ex vivo čištění a jejich klinického významu, kdy dosud publikované studie je nutné hodnotit velmi obezřetně a teprve randomizované studie umožňují trochu jistější závěry.

V první části vlastní práce nazvané Experimentální purging (str. 23-32) se autor věnoval experimentům s mafosfamidem a etoposidem, v obou případech s možností protekce krvetvorných buněk pomocí amifostinu. Na základě experimentů na buněčných liniích a kostní dřeni respektive periferních progenitorových buňkách dochází k závěrům:

- mafosfamid i etoposid vedou k výrazné eliminaci nádorových buněk
- přidání amifostinu nevede ke snížení účinnosti cytostatik
- mafosfamid i etoposid vedou k redukci koloniformních buněk (CFU-GM, BFU-E) a vyšším procentu apoptotických CD34+ buněk
- přidání amifostinu k cytostatikům nevede k výraznější protekci progenitorových buněk

Zde bych se rád autora zeptal: Jak si vysvětluje fakt, že se v jím provedených experimentech neprokázal protektivní účinek amifostinu na progenitorové buňky? Proč byla dána přednost kombinaci etoposidu 40 ug/ml + amifostinu 4mg/ml, když z tab. 11 (str. 31) vyplývá, že hodnoty CFU-GM i BFU-E se nelišily v experimentech s preinkubací amifostinu či bez ní.

Ve druhé části nazvané Metodiky detekce minimální reziduální nádorové choroby (str. 33-42), autor předvedl (jak je doloženo i v příložených publikacích) brilantní zvládnutí metodik umožňujících monitorování minimální reziduální choroby.

V kapitole nazvané Výsledky vyšetření klinických vzorků (str. 43-59) se zabývá problematikou, která pro klinika zůstává stále otevřená, je jaký klinický význam záchytu

přítomnosti nádorové populace citlivými metodami používanými k monitorování MRD a jejich monitorování po léčbě. U solidních tumorů nebo lymfomů většinou využíváme kompartmenty (periferní krev, kostní dřeň), kde sice může být výsledek negativní, ale to ještě nemusí nic vypovídat o chování tumoru v primárních nebo metastatických lokalizacích. Je přítomnost tumoru v „minimálním“ množství nezávislým prognostickým faktorem? Je její vymizení na této úrovni samostatným nezávislým prognostickým faktorem? Nebo jen reflektuje vyšší citlivost tumoru, nebo obecně menší nádorovou nálož, o čemž se můžeme přesvědčit i jinými metodami (např. i PET vyšetřením). Na omezeném souboru nemocných, který je však ve srovnání s publikovanými soubory relativně velký (!), je obtížné dospět k „definitivním“ závěrům, což autor v diskusi reflektuje.

V kapitolách nazvaných Výsledky vyšetření štěpů určených ke klinickému použití a Výsledky transplantací (str. 60-65) autor demonstruje klinickou použitelnost výše zmíněných metod. Ex vivo purging je klinicky aplikovatelný bez výraznějšího rizika komplikací ve srovnání s použitím nečištěných štěpů a metoda inkubace s etoposidem a amifostinem se jeví z pohledu toxicity jako klinicky přijatelnější ve srovnání s deferoxaminem. To, co klinika nejvíce zajímá, je otázka: a má ex vivo purging význam?

Mám na autora dotaz: Jak si vysvětluje „neúspěšnost“ ex vivo purgingu u dvou nemocných, kteří byli MRD pozitivní před i po ex vivo purgingem?

Závěrem bych nejprve znovu připomněl dotazy, které jsou spíše vědeckou diskusí a které jsem většinou již zmínil:

- Jak si autor vysvětluje fakt, že se v jím provedených experimentech neprokázal protektivní účinek amifostinu na progenitorové buňky?
- Proč byla dána přednost kombinaci etoposidu 40 ug/ml + amifostinu 4mg/ml
- Jaký význam autor osobně připisuje záchytu přítomnosti nádorové populace v „minimálním“ množství (molekulárně biologické metody) v kompartmentech, které nejsou pro nádor „vlastní“ (kostní dřeň, periferní krev)
- Jak si autor vysvětluje „neúspěšnost“ ex vivo purgingu u dvou nemocných, kteří byli MRD pozitivní před i po ex vivo purgingem?
- Považuje ex vivo purging za standardní metodu u nemocných autologně transplantovaných.

Celkově hodnotím práci včetně publikačních výstupů jako velmi dobrou a plně splňující kritéria a předpoklady autora pro samostatnou tvořivou vědeckou práci a pro udělení doktorského titulu PhD, které doporučuji.

V Praze 15.9. 2006

Doc. MUDr. Marek Trněný CSc.