



**Chirurgická klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy  
a Fakultní nemocnice Hradec Králové,**  
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové,  
tel.: + 420 495 833 579, fax: + 420 495 832 026,  
e-mail: [zdenek.subrt@fnhk.cz](mailto:zdenek.subrt@fnhk.cz), [www.fnhk.cz](http://www.fnhk.cz)

Vážený pan  
prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.  
přednosta chirurgické kliniky  
Fakultní nemocnice  
alej Svobody 80  
304 60 Plzeň - Lochotín

Hradec Králové 29. května 2018

### **Oponentský posudek dizertační práce**

Vypracoval: doc. MUDr. Zdeněk Šubrt, Ph.D.

**Název práce:** Význam tumor infiltrujících lymfocytů jako prognostických faktorů u pacientů po embolizaci portální žíly (PVE) a po PVE s aplikací autologních kmenových buněk.

**Autor:** MUDr. Jan Brůha

**Školitel:** prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.

### **Aktuálnost zvoleného tématu:**

Kolorektální karcinom je jeden z nejčastějších maligních nádorů a představuje závažný medicínský, ale i socioekonomický problém. Jaterní metastázy kolorektálního karcinomu jsou zásadní příčinou mortality u nemocných s tímto onemocněním. Přibližně 50 % nemocných s kolorektálním karcinomem má vstupně, anebo v průběhu choroby, zjištěny jaterní metastázy. Chirurgická resekce zůstává i přes veškerý pokrok v systémové onkologické farmakoterapii jedinou kurabilní metodou, která nabízí nemocným šanci na dlouhodobé vyléčení. Největším problémem chirurgické léčby jaterních metastáz je nízká resekaibilita jaterních metastáz, která se pohybuje kolem 20-25 %. Pro úspěšnost provedení jaterní resekce je nezbytné ponechání adekvátního objemu zbylé jaterní tkáně s dostatečnou funkcí a s dostatečným arteriálním a portálním zásobením, žilní a biliární drenáží. V současnosti existuje několik možností zvýšení objemu zbytkového objemu jaterní tkáně (FLRV). Standardní metodou je předoperační embolizace větve portální žíly (PVE) na straně nádoru s následnou hypertrofií neembolizovaného laloku jater. Problémem této metody může být nedostatečný nárůst FLRV nebo progresse metastatického postižení, které nakonec kontraindikují resekcí výkon. Alternativou je metoda ALPPS – Assotiated Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy, která je bohužel stále zatížena poměrně

velkou pooperační morbiditou a letalitou. Alternativní cestou je použití růstových faktorů či aplikace kmenových buněk k urychlení regenerace jaterního parenchymu. Ta je bohužel ale také zatížena celou řadou kontroverzních otázek týkajících se například samotného efektu na regeneraci jaterního parenchymu, ale také i možným negativním ovlivněním celkové prognózy nemocných s nádorovým onemocněním. Novinkou posledních let je také hodnocení nových biologických markerů tumoru, lékové rezistence a imunitní odpovědi v rámci protinádorové reakce organismu a jejich vliv na prognózu nemocných. Všem těmto aspektům se v práci věnuje i MUDr. Jan Brůha. Z tohoto pohledu je předkládaná práce vysoce aktuální a potřebná.

### **Formální obsah práce:**

Předložená dizertační práce v rozsahu 184 stran včetně seznamu vlastních publikací a použité literatury obsahuje všechny náležitosti, které má mít. Je psána živým jazykem, vyjadřování je přesné, na vysoké odborné a jazykové úrovni. Celá práce je logicky členěna, text je stručný a srozumitelný. Ke srozumitelnosti přispívá také minimum použitých zkratek, které jsou jednak vysvětleny v textu, jednak jsou uvedeny souhrnně v úvodu práce. Kvalitu práce jen mírně snižují ojedinělé překlepy.

Po úvodu následuje teoretická část, která je velmi dobře a systematicky zpracována. Autor se postupně věnuje problematice metastáz kolorektálního karcinomu se zaměřením na epidemiologii, dispenzarizaci, prognostické faktory, diagnostiku, možnosti chirurgické léčby a její komplikace. Podstatná část je věnována problematice zvýšení resektability jaterních metastáz kolorektálního karcinomu. Další část se zabývá teorií kmenových buněk a samostatně je probrán imunitní systém a jeho interakce s kolorektálním karcinomem.

Na teoretickou část pak navazuje vlastní klinický výzkum, který je prezentován stručně, jasně a přehledně, většina dat je prezentována formou celé řady přehledných tabulek a grafů.

Diskuze a závěr jsou dobře vedeny se snahou postihnout i slabší stránky výsledků klinického výzkumu. Autor velmi dobře zasazuje a konfrontuje svoje výsledky se současnými světovými poznatky. Velmi si cením právě toho, že autoři komentují stinné a problematické stránky tohoto klinického výzkumu.

Literatura je dobře vybraná a velmi dobře ilustruje celou problematiku. Práce obsahuje celkem 281 relevantních citací, ve většině případů velmi recentních. Pozitivně hodnotím i fakt, že jsou citovány i práce domácích autorů.

Domnívám se, že celkový rozsah práce a množství citované literatury nadstandardně převyšují požadavky kladené na disertační práci.

### **Cíle práce a jejich splnění:**

Cíle práce jsou formulovány přesně a jasně, zcela v kontextu s aktuálním stavem celé problematiky ve světě. Práce je postavena a provedena tak, že beze zbytku a výstižně odpovídá na stanové otázky. Autor vcelku optimálně stanovuje tři základní cíle práce, což práci celkově zpřehledňuje. Mimo aplikace kmenových buněk se zabývá stanovením tumor infiltruujících leukocytů a buněčných transportérů ABCC10 a ABCC11.

## **Vlastní práce:**

Autoři retrospektivně hodnotí skupinu 63 primárně inoperabilních pacientů s jaterními metastázami kolorektálního karcinomu léčených v rámci chirurgické kliniky FN Plzeň v časovém období 2010 až 2015. U této skupiny byla provedena PVE bez a s aplikací kmenových buněk. Skupina 20 nemocných s aplikací kmenových buněk byla srovnána se skupinou 43 nemocných, u kterých byla provedena pouze PVE. Samostatně byla hodnocena skupina nemocných se zbytkovým objemem do 30 %. Tento projekt je v České republice unikátní a ojedinělý, domnívám se, že počty pacientů, i vzhledem ke složitosti celé problematiky, jsou na celorepublikové úrovni velmi nadprůměrné. Autoři velmi dobře zvládli techniku zpracování a aplikace kmenových buněk, výkon provádějí v druhé době po PVE z ileokolického přístupu. Samostatnou částí bylo stanovení tumor infiltruujících lymfocytů a buněčných transportérů u nemocných resekovaných pro metastázy kolorektálního karcinomu včetně hodnocení dlouhodobých výsledků chirurgické léčby. Zde byla hodnocena skupina 62 primárně resekabilních nemocných, 26 nemocných po PVE a 13 nemocných po PVE s aplikací kmenových buněk.

## **Přínos práce pro praxi:**

Autoři prokázali bezpečnost metody aplikace kmenových buněk v kombinaci s předoperační PVE. Přestože nebyl statisticky prokázán pozitivní vliv aplikace kmenových buněk na hypertrofii FLRV po PVE, je nicméně patrný trend k rychlejšímu růstu FLRV, nižší procento explorativních laparotomií a statisticky nižší výskyt extrahepatálních metastáz u skupiny s aplikací kmenových buněk. Hodnocení dlouhodobého přežití po jaterních resekcích neprokázalo zhoršenou prognózu těchto nemocných ve smyslu časnější rekurence nádorového onemocnění, což je právě jeden z argumentů pro aplikaci kmenových buněk u pacientů s jaterními malignitami.

V rámci hodnocení imunitní odpovědi autoři prokázali vliv T reg na atrofii okludovaných jaterních segmentů, nicméně neprokázali vliv na celkové přežití. Jako negativní prognostický faktor byl hodnocen poměr buněk CD8+/CD4+ u primárně resekabilních nemocných a výskyt CD 4+ ve skupině po PVE, zatímco vzrůstající poměr FoxP3+/CD25+ buněk byl pozitivním faktorem ovlivňujícím přežití bez známek choroby ve všech skupinách nemocných.

Nebyl prokázán vztah exprese ABC transportérů (resp. ABCC10 a ABCC11) na prognózu nemocných.

## **Publikační činnost studenta:**

Publikační činnost hodnotím jako dostatečnou. Student je autorem nebo spoluautorem celé řady prací, jde jak o kasuistiky, tak původní práce. Jeho práce jsou velkou měrou publikovány v impaktovaných nebo recenzovaných časopisech s širokým dopadem na odbornou veřejnost.

## **Celkové zhodnocení:**

Předložená práce je vysoce aktuální, beze zbytku splnila své cíle. Práce je logicky členěná, obsahuje všechny nezbytné náležitosti. Je psána srozumitelným jazykem s minimem použitých zkratk. Neobsahuje žádné logické chyby a zpracování dat je také na vysoké úrovni. Výsledky práce jsou validní a spolehlivé. Autor prokázal velmi dobrou orientaci ve studované problematice, kterou dokazuje vlastním myšlenkovým potenciálem a schopností využití a srovnání literárních zdrojů. Nemám žádné kritické připomínky k předkládané práci, nicméně ze zájmu o tuto problematiku bych si dovolil autorovi položit následující otázky.

## **Otázky:**

1. Jsme schopni vytipovat skupinu pacientů, u kterých nedojde k dostatečné hypertrofii FLRV po technicky správně provedené PVE?
2. Jsme v současnosti schopni predikovat nemocné, kteří nebudou profitovat z chirurgické léčby jaterních metastáz kolorektálního karcinomu?

## **Závěr:**

Předkládaná disertační práce je skutečnou vědeckou prací na vysoké odborné úrovni, která odráží široký rozhled jejího autora. Výsledky mohou přispět jednak k širšímu použití kmenových buněk v oblasti jaterní chirurgie, ale také k zavedení nových prognostických a prediktivních biomarkerů u nemocných s metastatickým kolorektálním karcinomem. Tudíž mohou mít do budoucna obrovský význam pro léčbu pacientů s maligním ložiskovým postižením jater. Svou prací prokázal MUDr. Jan Brůha schopnost samostatné vědecké práce.

## **Práci doporučuji k obhajobě.**

Na základě úspěšné obhajoby doporučuji, aby byl MUDr. Janu Brůhovi udělen akademický titul „doktor“, ve zkratce Ph.D. uváděné za jménem, podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. ve znění pozdějších předpisů.

doc. MUDr. Zdeněk Šubrt, Ph.D.