

Č.j. UKLFP/136011/2019-1

Univerzita Karlova	6412
Přijato: 05.06.2019 v 11:25:12	Odbor
Č.j.: UKLFP/136011/2019-5	Zprac
Č.dop.: RR089264893CZ	
Listů: 4 Příloh: 0	
Druh: písemné	



## OPONENTSKÝ POSUDEK

### **Klinicko – patologická korelace imunohistochemické a molekulární klasifikace salivárního duktálního karcinomu.**

Doktorská disertační práce

MUDr. Pavel Andrlé  
Stomatologická klinika

Univerzita Karlova  
Lékařská fakulta v Plzni

Karcinomy slinných žláz jsou specifickou onkologickou skupinou, charakterizovanou pestrou patomorfologií a odlišným klinickým průběhem, podle něž je dělíme na tumory s nízkým a vysokým biologickým rizikem. Posledně uvedená skupina, do které řadíme i salivární duktální karcinom, vykazuje i přes radikální chirurgické řešení a následnou radioterapii velmi nízké přežití. Od současné léčby nelze očekávat zlepšení prognózy, proto se v současnosti věnuje značná pozornost identifikaci relevantních onkogenů, otevírající možnosti biologické terapie těchto nádorů. Z tohoto pohledu se téma posuzované disertační práce jeví jako významné, akcentované navíc špatnou odpovědí těchto nádorů na standardní chemoterapii.

V úvodu práce autor podává koncise přehled incidence, etiologie, histopatologických, imunohistochemických, jakož i současně známých molekulárně-genetických aspektů salivárních karcinomů. Dále se stručně zmiňuje o prognostických možnostech a současných názorech na jejich onkologickou a chirurgickou léčbu.

Cíle disertační práce vycházejí z analýzy klinicko-patologických a patomorfologických charakteristik salivárního duktálního karcinomu (SDC) a jeho aktuální imunohistochemické

klasifikace podle Takaseho, zohledňující expresi androgenního receptoru, HER2 a MIB1 a její prognostický význam.

Proklamovaným záměrem autora bylo:

1. Zjistit prognostický význam vybraných klinických a imunohistochemických parametrů SDC.
2. Zjistit expresi vybraných imunohistochemických a genetických markerů a stanovit jejich význam v diferenciální diagnóze.
3. Ověřit prognostický význam Takaseho imunohistochemické klasifikace SDC.

Retrospektivní studie zahrnovala původně 29 pacientů s karcinomy velkých i malých slinných žláz. Při histopatologické revizi byly 3 tumory reklasifikovány, počet probandů s SDC tak byl redukován na 26. U některých z nich nebylo možno z technických důvodů vyšetřit všechny imunohistochemické či molekulárně-genetické markery.

Metodika imunohistochemické a molekulárně-genetické analýzy zkoumaných faktorů odpovídá zavedeným standardům. Pro korelaci jejich exprese s přežitím pacientů nebyly pro malý počet uvedených probandů použity odpovídající statistické metody. Jako prognostické kritérium tak stanovil autor všeobecné pětileté přežití pacientů. Tohoto intervalu však nedosáhlo 5 žijících nemocných, hodnoceno tedy bylo 21 případů, z nichž jen 7 (tj. 33 %) přežívalo datum ukončení studie, 14 zemřelo na tumor či z jiných příčin.

Ve studii byl prokázán rozdíl v incidenci uzlinových metastáz u pacientů zmírajících, resp. přežívajících interval 5 let. Tímto lapidárním porovnáním dochází autor k závěru, že uvedený parametr je negativním prognostickým faktorem, což je v souladu s dříve publikovanými pracemi jiných autorů.

U skupiny pacientů s pětiletým přežitím byla zjištěna vyšší exprese androgenního receptoru a vyšší hodnota MIB1 proliferačního indexu. Prognostická signifikance však nebyla statistickými metodami ověřena.

GATA3 pozitivitu vykazovalo 19 ze 26 (tj. 76 %) hodnocených nádorů, přičemž jen 1 ze 7 pacientů s negativní reakcí přežil 5 let. Statistická korelace mezi GATA3 reakcí a prognosou

salivárního duktálního karcinomu nebyla ve studii provedena, autor nenašel v literatuře žádnou práci, která by se tímto problémem zabývala. Vysoká exprese GATA3 u sledovaného typu karcinomu kontrastovala s jeho negativitou těch tří jiných karcinomů, které byly původně zařazeny do studie. Tyto nálezy poukazují na možný význam jeho stanovení v diferenciální diagnostice salivárního duktálního karcinomu. K podobným závěrům došel autor i při hodnocení exprese AR, jež byla přítomna u 88 % nemocných. Dva ze 3 pacientů s negativním nálezem zemřeli. Autor tak spekuluje o možném prognostickém významu tohoto markeru, přičemž se opírá o relevantní citované prameny, podle nichž je negativita jeho exprese spojena s kratší dobou přežití i kratším bezpříznakovým intervalem.

Studie zjistila 76% (12 ze 16 vyšetřených tumorů) pozitivitu exprese cytokeratinů CK5/6, která byla u 9 ze 12 pacientů spojena s pokročilým klinickým stadiem choroby. Možný prognostický význam tohoto markeru nebyl statistickými metodami ověřen. Autor tak odkazuje na literární zdroj, podle nějž má pozitivita signifikantní vliv na kratší disease free survival, neovlivňuje však celkové přežití.

Ve studii byla statisticky verifikována horší prognóza apokrinního typu HER2+ (AR+/HER2+) a typu s HER2 overexpresí ve srovnání s ostatními typy Takaseho klasifikace SDC. Tyto výsledky jsou v souladu s dříve publikovanými pracemi.

65 % tumorů zkoumaného souborujevilo pozitivitu HER2. Uvedené procento poněkud převyšuje citované údaje, což autor vysvětluje jím použitými měkkými kritérii positivity této reakce (10 % vs. 30 % reagujících buněk). Positivita reakce ve skupině přežívajících vs. zemřelých pacientů byla podobná (72 % vs. 79 %), autor tak v souladu s literárními údaji usuzuje, že tento marker má prognostickou hodnotu.

Genové analýze bylo podrobena jen 9 z celého souboru 29 studovaných SDC. V žádném z nich nebyla zjištěna translokace *ETV6-NTRK3*, což potvrzuje význam jejího stanovení v případě histopatologických diferenciálně diagnostických potíží tohoto tumoru. Ve dvou případech byly prokázány mutace genu *PTEN*, resp. *AKT1*, u 3 pacientů genu *HRAS*, jež jsou odpovědné za resistenci HER2 pozitivních nádorů k jejich biologické léčbě. Tyto výsledky, korespondující s nálezy citovaných autorů, jsou proto klinicky velmi relevantní.

Z ojedinělého průkazu dalších genových anomálií se jako zajímavá jeví fúzní translokace *MYB-NFIB*, která je typická pro salivární adenoidně cystický karcinom, v SDC však nebyla dosud popsána.

Disertace obsahuje 71 stran, včetně 17 tabulek a 14 obrázků. Autor cituje celkem 90 pramenů, většina z nich je recentních, všechny citace v textu jsou uvedeny v přehledu literatury (et vice versa). Je psána přijatelným jazykem.

**Souhrn:** Práce potvrdila expresi zvolených imunohistochemických a genetických markerů v salivárním duktálním karcinomu. Jejich prognostický význam, stejně jako u pozitivitu lymfatických uzlin, však nebyl validován adekvátní statistickou metodou. Ta byla použita k ověření prognostické relevance jen u nově zavedené imunohistochemické klasifikace SDC. Nejdůležitějším výstupem práce byl průkaz mutací genů *HRAS*, *PTEN* a *AKT1*, které způsobují rezistenci tohoto nádoru vůči biologické léčbě. Tím byly naplněny proklamované cíle studie.

**Závěr:** Autor prokázal tvůrčí schopnosti a potenciál samostatného vědeckého myšlení. Práce splňuje požadavky, jež jsou na ni standardně kladeny. Proto ji doporučuji k obhajobě, a v případě, že tato proběhne úspěšně, udělení titulu Ph.D. dle §47 Zákona o vysokých

111/08 Sb.

Prof. MUDr. Ivo Starek, CSc.

V Olomouci dne 6.6.2019

**LÉKAŘSKÁ FAKULTA UP**

Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku  
přednosta: doc. MUDr. Richard Salzman, Ph.D.

I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc