

Oponentský posudek na doktorskou práci
Nestabilita genomu buněk mozkových nádorů
MUDr. Filip Kramář
Univerzita Karlova v Praze
I. lékařská fakulta

Práce se opírá o data získaná na poli interdisciplinární spolupráce dvou špičkových pracovišť - Neurochirurgické kliniky ÚVN Praha a Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1.LF UK. Svým zaměřením zasahuje do několika vědních oborů (neurochirurgie, patologická anatomie, histopatologie, biochemie, genetika) a obsahově významně přesahuje hranice běžných neurochirurgických znalostí. Z hlediska tématu považujeme téma za mimořádně aktuální, protože autor řeší klíčovou problematiku neuronkologie a obecně neurochirurgie - terapii mozkových gliomů.

Práce vychází z rozsáhlého souboru 270 vzorků mozkových tumorů, operovaných v průběhu 6 let, u kterých byla provedena FISH ke stanovení frekvence určených chromozomálních aberací. Získané výsledky byly porovnány s histologickou analýzou odebraných vzorků a korelovány s klinickými daty.

V úvodu autor stručně seznamuje s některými daty nutnými pro studiem dalšího textu - například specifikací signálních cest p53, Rb 1 a PI3-kináza /Akt, rozebírá jednotlivé typy gliálních tumorů mozku a chromozomálních a genových abnormit u těchto tumorů a určuje základní dělení nutné pro další analýzu. Rozlišuje tumory astrocytární (zde pilocytický astrocytom difuzníastrocytom, anaplastický astrocytom a glioblastoma multiforme) a oligodendroglální (oligodendrogliom II a anaplastický oligodendrogliom). Dále přehledně prezentuje přehled genetických a chromozomálních anomalií. Statistické metody jsou standardně vhodně zvolené - hodnocení přežití pomocí Kaplan Meierovy křivky, rozdíly v křivkách přežití pomocí long rank, Wilcoxon a Tarone ware testu a prognostické faktory pomocí Coxova regresního modelu a logistické regresní analýzy. Výsledky uvádí přehlednými klinickými daty dobře charakterizující skupinu nemocných. Z 270 bylo možno provést cytogenetickou analýzu u 264, u 6 byla analýza nemožná pro nedostatek materiálu. Klinický průběh, výsledek histologického vyšetření a analýzy FISH u se shodovaly u 85% nemocných. V dalších subkapitolách jsou studovány jednotlivé skupiny nemocných dle histologických diagnóz jak byly zvoleny v Úvodu - pilocytický astrocytom, difuzní astrocytom, anaplastický astrocytom, glioblastoma multiforme, oligodendrogliom II a anaplastický oligodendrogliom, anaplastický oligosastrocytom. U všech skupin je sledován klinický průběh a porovnáván s

výsledky FISH. Pro každou skupinu jsou stanoveny jednoznačné závěry pro korelaci genetického vyšetření a klinické prognózy.

V diskusi uvádí autor vlastní poznatky do korelace s dostupným písemnictvím. U pilocytického astrocytomu klinický průběh nemusí odpovídat benignímu průběhu tumoru Gr.I, což uvádí do souvislosti s nálezem monosomie chromozomu X (byť u jediného nemocného v limitovaném souboru). Dále popisuje patogenetický procesu vzniku nízkostupňového gliomu. Důležitý je popis některých aberací u low grade gliomů, které mohou odpovídat tumorům vyššího gradingu a vedou k dřívějšímu malignímu zvratu. I když tyto anomálie autoři neprokazují, korektně poukazují na možné příčiny. Za zásadní sdělení považujeme to, že průkaz anomálií znamená jiný protokol sledování (a snad i léčby), který odpovídá high grade gliomům. Klinický korelat má i vztah nálezu genetických mutací k horší prognóze u nemocných s gemistocytomem.

Data u nemocných s anaplastickým astrocytorem ukazují, že příznivým faktorem pro prognosu nemocného je negativní molekulárně cytogenetický nález v autory zvoleném panelu. Nezpochybňujeme autorem uváděné stanovisko o věku, KPS a radikalitě resekce jako nejvýznamnějším prognostickém faktoru, ale je nutné si položit otázku, zda radikalita resekce není daná například lokalizací nádoru, která sama o sobě radikální výkon vylučuje a je sama o sobě spojena s horší prognozou (tumory v hlubokých strukturách mozku).

U glioblastomů na základě specifických nálezů rozlišuje mezi glioblastomem primárním a sekundárním. Poukazují korektně na jednu z nejzásadnějších otázek v neuroonkologii - problematiku maligního zvratu u tumoru mozku, nejen u sekundárního glioblastomu.

V diskusi autor korektně poukazuje i na možnou slabinu metodiky - následná FISH analýza není prováděna na stejném materiálu jako analýza imunohistochemická. Problém řeší odběrem více vzorků z různých míst s následným dělením vzorků pro jednotlivé analýzy.

Závěry jsou jasně formulovány pro jednotlivé skupiny v odpovídajících částech textu, ale také na konci práce.

Ve shrnutí :

klinicky nejzásadnější prognostické faktory jsou: věk, KPS, radikalita resekce
I FISH jako doplněk imuhistochemické analýzy pro upřesnění diagnostiky tam, kde imunohistochemie nepřinesla jasné výsledek, prognostické dopady

Definovány ukazatele horší prognózy u nemocných s difuzním astrocytorem, glioblastomem a anaplastickým oligodendrogliomem

Včetně titulní strany, prohlášení o původnosti, identifikačního záznamu a dvojjazyčného abstraktu předložená disertační práce dosahuje délky 93 stran, což odpovídá účelu práce a

rozsahu zpracovaného tématu. K vlastnímu textu jsou dále připojeny plné texty autorových prací ve vztahu k tematu disertace - 3 prvoautorské , 1 spoluautorská , dále kapitola v knize Neurologie 2005 věnovaná tématu neuroonkologie - genové abnormality u nádorů centrální nervové soustavy a kapitola z monografie Intrakraniální nádory, rovněž věnovaná genetické problematice nádorů centrálního nervového systému.

Již tento výběr prací a knižních kapitol svědčí o hlubokém zájmu dr.Kramáře o problematiku neuroonkologie, což potvrzuje i přehled jeho publikační aktivity, která uzavírá vlastní práci. Počet a rozsah tabulek (24 + zdrojová data zpracovaná formou 7 poměrně rozsáhlých tabulek) odpovídá rozsahu a zaměření práce, tabulky jsou dobře zpracovány. Práce dále obsahuje 16 grafů a 11 obrázků. Literatura obsahuje 78 citací, z toho jsou zařazeny 4 autorovy práce - 3 prvoautorské a jedna, kde je uveden jako spoluautor.

Ve shrnutí se jedná o přehledně zpracovanou, velmi záslužnou a potřebnou práci s jasně formulovanými závěry. Autor navíc definuje další perspektivy práce (nové markery, identifikace míst w low grade gliomech s vyšším rizikem maligního zvratu jako cílů pro sterobiopsii), pro jejichž naplnění mají autoři nejlepší předpoklady a podmínky.

Pokud se týče připomínek, pak mimo výše uvedené připomínky stran prognostického významu rozsahu resekce tumorů zmiňujeme drobnou poznámku stran pravopisu příjmení Virchow (autor uvádí Wirchow)

Otázka: Existují odlišnosti genetických změn nádorových buněk po ozáření zářením alfa, beta a gama ? Jak by bylo možné především první uváděné druhy využít terapeuticky? Co soudíte o vlivu záření na možnost rozvoje gliálních tumorů při pobytu v kosmu a opakování transoceánských letech na hranici stratosféry?

Doktorand prokázal tvůrčí a především syntetickoanalytické schopnosti , opírající se o osobní zkušenosti a literárních znalostí . Stanovené cíle byly splněny , autor prokázal tvůrčí schopnosti a práce splňuje požadavky standardně kladené na disertaci ve zvoleném studijním oboru Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie .

Práci doporučuji k obhajobě podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb

V Brně dne 29.7.2012

Prc

Přednosta Neurochirurgické kliniky LF MU FN u sv.Anny v Brně

Pekařská 53

656 91 Brno

E mail : zdenek.novak@fnusa.cz

**Fakultní nemocnice
u sv. Anny v Brně
656 91 BRNO, Pekařská 53
Neurochirurgická klinika
Předn. Prof. MUDr. Zdeněk Novák, CSc.**