

Oponentský posudek disertační práce Ing. Markéty Škereňové

„Individualizace léčby pacientů s karcinomem prostaty na základě molekulární a imunocytochemické detekce cirkulujících nádorových buněk“

Předložená disertační práce má 123 stran, 12 tabulek a 32 grafů a obrázků. Autorka v práci cituje více než 200 recentních publikací. V příloze je uvedeno 5 prací in extenso, které byly publikovány v časopisech s vysokým impakt faktorem. Práce byla vypracována na Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty UK a VFN pod vedením Prof. MUDr. Tomáše Zimy, DrSc.

Disertační práce ing. Markéty Škereňové je napsána v anglickém jazyce a má tradiční členění. V úvodu na 35 stranách autorka zpracovala základní informace o karcinomu prostaty, o specifických kastračně rezistentního karcinomu prostaty, o významu cirkulujících nádorových buněk (CTC) v metastatickém procesu karcinomu a o využití CTC jako biomarkeru v klinické praxi.

Cílem práce ing. Škereňové bylo zavedení nové metody izolace a detekce CTC (AdnaTest), zavedení qPCR pro panel multimarkerové genové exprese u pacientů s karcinomem prostaty, korelace obou výše uvedených postupů.

Kapitola Materiál a metody je zpracována detailně na 16 stranách textu přehlednou formou. Je popsán základní soubor 41 pacientů s karcinomem prostaty a jsou uvedeny podrobné klinické a laboratorní charakteristiky těchto pacientů. V této kapitole se autorka věnuje popisu metody AdnaTest, která využívá imunomagnetické obohacení CTC a následnou PCR analýzu vzorků pro průkaz přítomnosti tumor asociovaných genů. Vizualizace CTC byla provedena světelným a fluorescenčním mikroskopem. Dále autorka vytvořila a validovala panel 27 genů (např. interleukin 6, PSA, metallothionenin 3, CD44, fibronectin), které souvisejí s volbou terapie u pacientů s kastračně rezistentním karcinomem prostaty. Použila také 4 kontrolní, referenční geny, např. aktin, tubulin a ubikvitin C. Genová exprese byla studována metodou kvantitativní PCR. Autorka následně provedla korelaci jednak s výsledky

CTC a jednak s bioptickým nálezem primárního nádoru. Použité statistické metody jsou správné.

Stěžejními částmi práce jsou výsledky a diskuse sloučené do jedné kapitoly (celkem 32 stran), v kterých autorka kriticky analyzuje zjištěné a naměřené výsledky v souboru 41 pacientů s kastročně rezistentním karcinomem prostaty v době diagnózy a v průběhu terapie docetaxelem (po třetím cyklu). Výsledky jsou také vhodně zpracovány do četných tabulek, grafů a barevných obrázků. Za velmi zdařilou považuji diskusi k jednotlivým podkapitolám prezentovaných výsledků, kde autorka kriticky hodnotí dosažené výsledky a diskutuje je s ohledem na jiné publikované práce. V kapitole Závěry autorka jasně a přehledně formuluje dosažené výsledky, z kterých vyplývá, že cíle práce byly splněny.

Autorka zavedla dvě náročné laboratorní metody, jednak k detekci CTC u karcinomu prostaty a jednak k hodnocení genové exprese 27 genů asociovaných s kastročně rezistentním karcinomem prostaty. Ověřila, že AdnaTest je vhodný pro detekci CTC v klinické praxi a umožňuje následnou charakterizaci genové exprese vybraných genů u jednotlivých pacientů. Výsledky tak mohou významně predikovat prognózu, volbu terapie a odpověď na zvolenou léčebnou strategii.

Po formální stránce je práce napsána velmi kvalitně v anglickém jazyku jak po stránce grafické, tak gramatické i stylistické. Práce obsahuje všechny náležitosti včetně seznamu použitých zkratk.

Závěrem lze konstatovat, že dizertační práce ing. Markéty Škereňové se zabývá velmi aktuální problematikou aplikovaného výzkumu se vztahem ke klinické medicíně. Práce splňuje všechny požadavky disertační práce a přináší celou řadu nových poznatků, které byly publikovány v impaktovaných časopisech. Ing. Markéta Škereňová prokázala schopnost samostatné vědecké práce.

Otázka k obhajobě: Uvedte prosím laboratorní rozdíly a rozdíly v klinickém použití mezi metodami detekce CTC: AdnaTestem a CellSearch testem.

Dle výše uvedených skutečností doporučuji, aby byl Ing. Markétě Škereňové na základě úspěšné obhajoby disertační doktorské práce udělen titul Ph.D.

V Praze, 3. 11. 2017