

**Posudek magisterské diplomové práce Bc. Hany Holé: „Prognostický význam PCA3, fúzního genu Tmprss2:ERG a dalších markerů u karcinomu prostaty“**

Vedoucí práce: RNDr. Martin Pešta, Ph.D., LF UK v Plzni

Konzultant z fakulty: prof. RNDr. Jan Kopecký, CSc

Konzultant specialista: MUDr. Jiří Klečka, Ph.D.

Téma práce je velmi zajímavé z několika pohledů: především je dané onemocnění – karcinom prostaty – spojeno s patrně nejstrměji narůstající incidencí ze všech solidních nádorů, navíc je díky tomu v posledních letech středem zájmu na většině odborných konferencí, neboť vývoj moderních přístrojů umožňujících rozvoj nových ozařovacích technik a jejich aktuální dostupnost v ČR (gamanůž, cyber kníže či protonová radioterapie), stejně jako moderní systémové léčby (cabazitaxel, abirateron acetát, enzalutamid, alfaradin).

Problematika správné diagnostiky je zde o to více potřebná, neboť, jak autorka správně zmiňuje, jde o tumor s velice pomalou progresí, u kterého lze s ohledem na další faktory – např. věk pacienta či přítomné komorbidity - přenesených do podoby očekávané délky přežití rozhodovat mezi metodami léčby aktivní a pasivní. Základem terapie je v dnešní době spíše radikální aktinoterapie, která je v porovnání s uvedenou radikální prostatektomií spojena s nižší morbiditou i toxicitou a je tedy především samotnými pacienty preferována, v řadě případů lze však doporučit i metodu pečlivého sledování. U lokalizovaného, nepokročilého karcinomu prostaty nízkého Gleasonova skóre a stupně diferenciacie u nemocných starších a jinak rizikových je možné na rozdíl od jiných malignit dlouhodobě postupovat konzervativně a pacienta žádnému léčení nepodrobovat. Základním pravidlem tak bude správná identifikace nemocných k tomuto postupu vhodných.

Bc. Holá rovněž zmiňuje, že parametr PSA není spojen s dostatečnou senzitivitou a specificitou, aby se stal hlavním nebo jediným markerem, který nám k tomuto rozhodnutí napomůže. Jeho role je velmi kontroverzní i ve screeningu onemocnění, jelikož výtěžnost tohoto testu je silně omezená: z 1000 mužů zařazených do screeningu (vyšetřování hladiny PSA ve věku 55-69 let po 1-4 letech) jich bude 770 negativních, 100-120 falešně pozitivních a zhruba 110 jich sice bude mít karcinom prostaty, 50 z nich však bude mít léčbu spojenou s nepříjemnými komplikacemi, 4-5 jich na toto onemocnění zemře a pouze u jediného z nich dojde k zabránění úmrtí. Nadále tedy reálně existuje reálná potřeba dalšího markeru, který by umožnil charakterizovat prognózu onemocnění díky poznání chování nádorového onemocnění, tedy jeho agresivity, schopnosti invaze či časně diseminace, a tím usnadnil rozhodnutí, zda je třeba náročnou terapii skutečně podstoupit.

Pátrání po dalších markerech je tedy nejčastější součástí programu všech konferencí. Především markery na bázi mikroRNA (v našem případě miR23b, miR26 a miR221) jsou v popředí zájmu u řady nádorových onemocnění, je tedy zcela na místě jim věnovat pozornost rovněž u karcinomu prostaty, stejně jako PCA3 nebo fúzní gen Tmprss2:ERG.

Práce nejprve charakterizuje etiopatogenezi karcinomu prostaty, jeho základní diagnostiku a léčbu. V další části se autorka již věnovala současnému poznání významu

používaných markerů onemocnění a popsala další a nové, které by mohly být v blízké budoucnosti k určení pokročilosti onemocnění a jeho agresivity schopností rychlé progresse výrazně nápomocny a v případě jednoznačně popsané závislosti by se mohly stát součástí standardní klinické praxe, což představuje obrovskou výzvu. Cílem práce je zavedení metodiky stanovení sledovaných markerů, její aplikace na vzorcích karcinomu i zdravé tkáně prostaty a vyhodnocení výsledků.

Až na drobné chyby je práce dobře rozvržena i napsána a proti jazykové úpravě nemám námitek. Pouze některé formulace jsou méně vhodné nebo přesné, např. zatímco většina textu pojmenovává zhoubné onemocnění prostaty správně jako karcinom, místy je zmíněn lidový pojem rakovina, který do odborného textu nepatří. Podobně je problematické termín DFI nazvat bezpříznakovým obdobím, spíše předpokládám, že se jedná o interval bez známek onemocnění. Orientace v tabulkách je poněkud horší, ale z výsledků odvozené závěry jsou odpovídající a srozumitelné.

Diskuse je zcela adekvátní a přiznává, že vstupní očekávání byla poněkud vyšší, než se podařilo vlastní prací prokázat, přesto naznačuje směr, kterým se vydat a určité naděje, že ke zjištění agresivního chování karcinomu prostaty a tím lepšímu rozhodnutí o optimálním léčebném postupu by v budoucnu mohlo být využito i stanovování některých markerů. Následuje přehledný závěr, kde jsou postupně shrnuty dosažené výsledky. Protože výsledků je relativně hodně, lze ocenit jejich rozdělení do podkapitol podle dalších sledovaných parametrů. Seznam literatury je velice obsáhlý, což svědčí o důležitosti a zájmu o danou problematiku a přehledu, který jeho studiem a zpracováním autorka získala.

Dotazy:

1. V čem spatřujete hlavní význam stanovování zkoumaných markerů u karcinomu prostaty, máme-li k dispozici již z biopsie klasické charakteristiky svědčící pro vysokou agresivitu nádoru a riziko relapsu, jako grade, Gleason skóre a hodnotu PSA, spolu s TNM klasifikací? V čem spočívá přidaná hodnota těchto a podobných markerů?
2. Řada závislostí nevyšla jako statisticky významné a rovněž ostatní je třeba ověřit. Plánujete pokračování tohoto výzkumu a rozšíření o další miRNA, které je v posledních letech přisuzována velká budoucnost? Pro zařazení do klinické praxe bude nejdůležitější prokázat jejich přínos pro zlepšení DFI a především pro přežití celkové, což dosud nebylo doloženo.

**Závěr:** Celkově hodnotím práci jako výbornou, zajímavou a podnětnou a doporučuji ji k obhajobě. Rozhodně bych doporučil její prezentaci alespoň formou abstraktu na domácích i mezinárodních onkologických a urologických sympoziích a uveřejnění v odborných impaktovaných časopisech.



V Plzni, dne 23.5.2014

MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D.  
Onkologická a radioterapeutická klin. FN Plzeň

Posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Hany Holé „*Prognostický význam PCA3, fúzního genu TMPRSS2:ERG a dalších markerů u karcinomu prostaty*“

Karcinom prostaty je velmi časté maligní onemocnění, jehož incidence v naší populaci roste. Klinicky se může projevit jako indolentní či agresivní se sklonem k metastazování. Rozlišení těchto forem je zásadní pro stanovení správného terapeutického postupu. Současné diagnostické metody však toto neumožňují. Řešením může být stanovení specifických markerů. Tyto však dosud nebyly popsány.

V předložené práci se autorka zabývá studiem vybraných biomarkerů a jejich expresí ve vzorcích tkáně karcinomu prostaty. Práce zahrnuje třicetistránkový úvod, ve kterém jsou přehledným způsobem shrnuty výsledky dosavadních výzkumů týkajících se epidemiologie, patogeneze i léčby karcinomu prostaty. Druhá část úvodu je pak věnována problematice nádorových markerů obecně i v souvislosti s karcinomem prostaty. Je zřejmé, že při přípravě úvodu autorka vycházela z české i cizojazyčné literatury, což jí umožnilo zpracovat problematiku komplexně. Celý úvod je zpracován velmi přehledně, s logickou strukturou.

Autorka si stanovila tři logicky na sebe navazující cíle, které jsou jasně formulovány.

V kapitole Metodika je nejdříve popsán postup při získávání vzorků. Poté následuje podrobný popis postupu při zpracování získaných vzorků zahrnující především metodu RT-qPCR a imunoanalytické metody. S ohledem na vytyčené cíle si autorka zvolila správný metodický přístup.

V kapitole Výsledky autorka vyhodnocuje vztah předoperační hladiny PSA, délky bezpříznakového období a přítomnosti fúzního genu TMPRSS2:ERG v nádorové tkáni. Podrobně se zmiňuje o vztahu předoperačních hladin PSA ke klinicko-patologickému stavu pacientů, vztahu přítomnosti fúzního genu TMPRSS2:ERG s klinicko-patologickým stavem pacientů, vztahu naměřených hodnot miRNA a mRNA ke klinicko-patologickému stavu pacientů a vztahu hladin markerů k délce bezpříznakového období. Veškeré získané výsledky jsou prezentovány v přehledných tabulkách a grafech.

V diskuzi se autorka zamýšlí nad významem hledání nových markerů pro diagnostiku karcinomu prostaty, shrnuje výsledky svých pokusů a porovnává je s publikovanými výsledky dalších výzkumných týmů. Výsledky stanovení jednotlivých markerů jsou zde diskutovány odděleně, což činí diskuzi velmi přehlednou. Vzhledem k tomu, že řada citovaných prací, zabývajících se touto tematikou pochází z roku 2013, je zřejmé, že si autorka pro svou práci zvolila velmi aktuální téma.

V závěru jsou velmi přehledně shrnuty dosažené výsledky. Ke každému sledovanému genu je zároveň vyhodnocen i potenciál jeho vyšetřování pro správnou diagnostiku.

Diplomová práce je zpracována velmi pečlivě. Autorka je obeznámena s literaturou týkající se daného tématu, což vyplývá i z velkého množství citací. Z úrovně zpracování úvodu i diskuze je zřejmé, že s informacemi získanými z literatury umí dobře pracovat. Prezentace získaných výsledků je rovněž na vysoké úrovni. Jediné, co bych snad vytkla, je, že grafy mají anglické popisy os. U práce psané česky by asi toto být nemělo.

#### Dotazy:

1. Ve vaší studii jste používali fixovanou tkáň, což pro stanovování genové exprese není úplně optimální. Do jaké míry mohla tato skutečnost ovlivnit výsledky studie?
2. Znáte z literatury ještě nějaké další geny, jejichž stanovení by případně mohlo být využito pro odhalení stupně agresivity karcinomu prostaty?

**Závěr:** Hana Holá předložila vynikající práci. Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím jako výbornou.



V Plzni 19. 5. 2014

Doc. MUDr. Magdaléna Chottová Dvořáková, Ph.D.