

Jméno oponenta: doc. RNDr. Kristian Šafarčík, Ph.D.
Centrum laboratorní diagnostiky Fakultní nemocnice Ostrava
17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava, E-mail: kristian.safarcik@fno.cz

POSUDEK DIZERTAČNÍ PRÁCE

Autor: Mgr. Radek Kučera

Název: Insulinu podobné a jiné růstové faktory a nádory.

Školitel: Prof. MUDr. Ondřej Topolčan, CSc.

Fakulta: Lékařská fakulta v Plzni

Instituce: Univerzita Karlova

Dizertační práce obsahuje 56 stran a je doplněna literárními citacemi. (Autoreferát autora je navíc doplněn přehledem publikací autora, přednášek a posterů na národních konferencích). V úvodu práce autor rozebírá téma zadání své dizertační práce a uvádí do problematiky proteinů IGF (inzulinu podobných růstových faktorů) a jejich vazebných proteinů na vznik a progresi nádorů. Od počátku 80. let minulého století se objevují práce, které upozorňují na možnou spojitost zvýšené produkce IGF se zvýšeným výskytem nádorů. V teoretické části popisuje jednotlivé peptidy podobné insulinu (IGF, 50% homologie s insulinem) i jejich vazebné proteiny - IGFBP, (insulin-like growth factor binding proteins), produkci těchto proteinů játry i jinými tkáněmi a buněčnými populace, regulaci jejich syntézy spjatou s růstovým hormonem a nutričním stavem organismu. Stejně tak popisuje jejich autokrinní a parakrinní působení ve tkáních i mechanismus jejich účinků. Velmi podrobně uvádí složitou problematiku možných regulačních uzlových bodů, které by mohli mít vliv na stimulaci růstu a dělení buněk v jednotlivých tkáních. Velká část teoretického úvodu je věnována vlivu IGF na nádorovou transformaci buněk. V literatuře se objevují často velmi protichůdné informace o vlivu IGF a jejich vazebných proteinů, zejména IGFBP3 na jednotlivé typy nádorů. Autor správně odděluje v séru nalezené koncentrace IGF1, IGF2, IGFBP od lokální produkce IGF1, IGF2 a IGF1R, což má zřejmě zásadní význam pro posouzení účinku těchto látek. V teoretickém úvodu jsou zařazeny ještě vlastnosti dalších růstových faktorů, HGF, EGF, TGF, VEGF a dvou klasických nádorových markerů, CEA a CA 15-3. Cílem práce autora je sledování vztahů růstových faktorů popř. jejich vazebných proteinů u nádorů z různých pohledů a pracovní hypotézou je využití růstových faktorů nebo jejich vazebných proteinů ke zlepšení diagnostiky a odhadu prognózy nádorového onemocnění. Metodická část práce uvádí soubory pacientů. V prvním souboru bylo zařazeno 681 pacientů s nádorovým onemocněním a vyšetřeny koncentrace IGF1. Nemocní byli rozděleni na skupiny podle diagnózy (pacienti s diabetem byli vyloučeni, protože diabetes může ovlivňovat produkci IGF1). Podle histologického nálezu byli pacienti rozděleni do 4 skupin podle zjištěných diagnóz (tabulka 9). Naměřené hodnoty v jednotlivých skupinách byly porovnány s normálními hodnotami laboratoře s ohledem na věk. (Hladiny IGF1 s věkem klesají, při statistickém vyhodnocení je nutné vzít v úvahu věk pacientů.) Po statistickém zpracování vznikly 3 skupiny výsledků: snížená hladina, normální hladina a zvýšená hladina IGF1 (tabulka 10 a 11). Získané hodnoty byly porovnány s údaji v literatuře (tabulka 12). Druhý soubor byl soubor 100 žen s nádory prsu. Byly měřeny hodnoty nádorových markerů CEA a CA15-3, IGF1, IGFBP3 a růstové faktory HGF, EGF, TGF a VEGF jako součást panelu růstových faktorů komerčně dostupného v systému multiplexové analýzy Luminex. Byly hodnoceny změny hladin jednotlivých analytů před operací a po operaci a rozdíly mezi skupinami se zhoubným a nezhoobným nádorovým onemocněním. Pacientky s maligní nádorovou diagnózou byly rozděleny do čtyř podskupin podle zjištěného stadia onemocnění. Předoperační a pooperační hladiny jednotlivých analytů se významně nelišily a proto byl podrobeny analýze jen hodnoty předoperační (tabulky 15-22 a grafy 1-8).

U souborů žen s nádory prsu byly spočítány souhrnné statistiky (průměr, medián, min, max) pro daný věk a jednotlivé analyty. Pro porovnání koncentrací analytů u maligních a benigních diagnóz byl použit Wilcoxonův test.

Na základě zpracovaných výsledků hladin IGF1 u 681 nemocných dochází autor k řadě závěrů: Při hodnocení IGF1 je nutné brát v úvahu věkové hledisko a při věkově odlišných skupinách získané výsledky adjustovat na věk. Pokud se věkové hledisko nevezme v úvahu může dojít k nesprávné interpretaci výsledků. IGF1 u nádorů kolorekta má přibližně stejné procento zvýšených i snížených výsledků, což koreluje se závěry z literatury. U nádorů prostaty byla zjištěna výrazná převaha zvýšených hodnot IGF1. Rovněž tento nálezn souhlasí se závěry z literatury. U nádorů plic převažovaly výrazně vyšší hodnoty IGF1, což nekoresponduje s nálezy v literatuře. U nádorů prsu lehce převažovaly vyšší hodnoty IGF1 nad nižšími. V dostupné literatuře byla převaha vysokých hodnot výrazně vyšší. Sérová variabilita hladin IGF1 je značná a u každého typu nádoru se vyvíjí jiným způsobem. U skupiny 100 žen s benigním a maligním nádorem prsu HGF je jediným růstovým faktorem, který má statisticky významně vyšší sérové hladiny u maligních nádorových diagnóz než u benigních. Růstový faktor HGF pozitivně koreluje se závažností nádorového onemocnění. Růstový faktor EGF pozitivně koreluje se závažností nádorového onemocnění, závislost však není tak lineární jako u HGF. Sérové hladiny TGF α negativně korelují se závažností nádorového onemocnění. Sérové hladiny VEGF nikterak nekorelují se závažností nádorového onemocnění.

V diskusi (str. 49 – 53) autor konfrontuje své výsledky s dosud publikovanými daty, především daty, které byly publikovány v posledních 5 letech. Situace je poměrně obtížná neboť řada údajů vychází z dat, která byla získána u řady experimentálních modelů např. u zvířat nebo v „in vitro“ podmínkách u izolovaných buněk, či tkáňových kulturách. Tyto výsledky jsou dost obtížně porovnatelné s údaji, které lze naměřit v lidských sérových vzorcích.

V Závěrech pro klinickou praxi autor uzavírá: Sledování růstových faktorů není vhodné pro rutinní diagnostiku, pouze HGF se jeví perspektivním diagnostickým a prognostickým markerem. Naprosto významnou a nezastupitelnou roli však mají růstové faktory a IGFBP3 ve zkoumání procesů v lidském těle na buněčné úrovni.

Po formální stránce mám jednu připomínku: zmiňované molekulární hmotnosti proteinů v jednotkách Daltonů (zastaralý způsob) jsou Relativní molekulové hmotnosti – je to bezrozměrný údaj a nevyjadřuje se v jednotkách.

Závěr:

Disertační práce Mgr. Radka Kučery splnila vytýčené cíle. Svým rozsahem splňuje rámec požadavků na dizertaci. Rovněž doložené publikace v odborných časopisech svědčí o vědecké práci dizertanta.

Autor prokázal schopnost vědeckovýzkumné práce, a proto doporučuji, aby na základě úspěšné obhajoby dizertační práce mu byl udělen titul Ph.D.

K práci mám následující otázky:

1. V kterých oblastech je možno očekávat využití růstových faktorů v oblasti léčby nádorových onemocnění?
2. Které laboratorní techniky by mohly zasáhnout do oblasti stanovení růstových faktorů v léčbě a diagnostice nádorových onemocnění?

doc. RNDr. Kristian Šafarčík, Ph.D.
Vedoucí CLD FN Ostrava a
KBO, LF Ostrava v Ostravě

V Ostravě dne 24. 7. 2011
