

Oponentský posudek disertační práce

Doktorský studijní program Chirurgie

Lékařská fakulta UK v Plzni

Molekulárně biologické mechanismy progresu kolorektálního karcinomu ve vztahu k individualizované onkochirurgické léčbě.

MUDr. Ondřej Vyčítal

Aktuálnost zvoleného tématu

Česká republika zaujímá ve statistikách dlouhodobě jedno z předních míst při hodnocení incidence tohoto onemocnění v zemích, kde jsou vedeny registry. Vysoký výskyt a letalita kolorektálního karcinomu je podstatným důvodem k prevenci, diagnostice, léčbě a dlouhodobému sledování tohoto onemocnění. Již mnoho let je známo, že vznik a vývoj nádorů je provázen četnými genetickými aberacemi a že v kontextu těchto poznatků je možné nádory považovat za geneticky podmíněné choroby. V posledních letech pak naše poznatky byly rozšířeny na detailnější poznání úlohy jednotlivých specifických genů, zejména tzv. onkogenů a nádorových supresorů. Během vývoje tumoru dochází k akumulaci genetických chyb a pravděpodobnost jejich vzniku je přímo úměrná proliferativní aktivitě exponované tkáně. Proto bylo velkým pokrokem podrobné poznání regulace buněčného cyklu, které ukázalo, že mnohé z onkogenů a nádorových supresorů působí přímo v jeho průběhu. Karcinomy kolorekta, jejichž vznik a vývoj souvisí s chromosomální nestabilitou, se vyvíjí na podkladě postupných genetických změn v buňkách kolorektální sliznice a mají řadu morfologicky definovaných mezistupňů. Zlepšení operační léčby, široké využití radioterapie a chemoterapie, jako dalších modalit, vede ke snížení úmrtnosti na tento karcinom. Je preferována individualizovaná onkochirurgická léčba.

Sledovaný cíl a jeho splnění

Práce je zaměřena na analýzu vztahu současně užívaných klinických a histopatologických faktorů a přítomnosti tumor infiltrujících lymfocytů, NK buněk, granzymu B a serpinu B9. Dalším cílem bylo studium vztahu uvedených faktorů k šíření kolorektálního karcinomu do regionálních lymfatických uzlin na základě porovnání výsledků mezi skupinami pacientů v klinických stadiích UICC II a UICC III a dále detekovat pacienty s rizikem recidivy kolorektálního karcinomu po radikální chirurgické léčbě ve vztahu k tumor infiltrujícím lymfocytům. Cíl byl splněn.

Metody zpracování, výsledky

Disertační práce je zpracována výpočetní technikou a předložena ve vázané formě na 261 stranách včetně literatury a příloh (publikační činnost). Vlastní práce je na 139 stranách. Je rozdělena do deseti základních kapitol, další čtyři se seznamy literatury, souhrnem (českým a anglickým) a přílohami.

V prvních třech kapitolách se autor věnuje poděkování všem, kteří umožnili vznik této práce, podává jasný přehled použitých zkratk a obecně ozřejmuje problematiku kolorektálního karcinomu. Čtvrtá kapitola je velmi obsáhlá, na 31 stranách je rozebírána epidemiologie kolorektálního karcinomu v České republice, karcinogeneze, morfologie a histologie, progresse karcinomu, diagnostika, screening a léčba. Dlouhodobě stoupá incidence onemocnění, nejvíce nových případů se vyskytuje u pacientů starších 60 let. V zastoupení v klinických stádiích jsou relativně vysoké počty ve třetím a čtvrtém (26,7 a 19,4 %). Vlastní práce je věnována problematice především sporadické formě kolorektálního karcinomu, kde hrají hlavní úlohu exogenní faktory. V karcinogenezi je významným krokem mutace protoonkogenů z rodiny RAS, gen K-RAS (Kirsten-RAS) a N-RAS (Neuroblastoma-RAS). Rozlišení nádorů tlustého střeva a rekta je především na podkladě histogeneze a biologického chování. Metastazování je obecně známé, podle časové konsekvence postižení synchronní a metachronní. Diagnostické vyšetřovací metody jsou dané, magnetické rezonance a endosonografické vyšetření, u karcinomu rekta, jsou nezbytná. Screeningový program je stále diskutabilní záležitostí. Obecné principy chirurgické a onkologické léčby kolorektálního karcinomu jsou jasně nastaveny. Pátá kapitola (34 stran) je věnována imunitním interakcím kolorektálního karcinomu. Je pojata zcela pochopitelným a jasným způsobem. Od doby, kdy Virchow popsal vztah mezi nádorem a zánětlivou odpovědí (v roce 1863), došlo na tomto vědeckém poli k významnému posunu a pokroku. Progresi nádorového onemocnění z hlediska intervence imunitního systému lze shrnout do tří kroků – jedná se o eliminaci, rovnováhu a únik. Nespecifická imunita má složku humorální a buněčnou. Jsou rozebrány její jednotlivé elementy s dominancí na přirozené zabíječe (NK buňky), makrofágy, granulocyty, dendritické buňky a je poukázáno na jejich význam. Samostatná část je věnována členu serinových proteáz, granzymu B a jeho funkci. Jeho specifickým inhibítorem je serpin B9. Další část této kapitoly se podrobně věnuje specifické neboli adaptivní imunitě (buněčné složce, především významu T lymfocytů), jejíž hlavní funkcí je rozpoznání nejrůznějších antigenních struktur. Adaptivní imunitní odpověď je schopná reagovat na nový cizorodý antigen, zapamatovat si ho, přičemž budoucí imunitní odpověď je obvykle mnohem silnější. V šesté kapitole autor prezentuje cíle své práce. V sedmé kapitole je předložena metodika práce a v osmé jsou shrnuty vlastní výsledky. Byly přehledně definovány parametry, které autor sledoval u 152 nemocných, kteří byli operováni pro kolorektální karcinom na Chirurgické klinice FN Plzeň v době od září 2007 do června 2012. Jednalo se o pacienty v klinických stádiích UICC II a UICC III. Výsledky byly následně zpracovány a vyhodnoceny předem určenými statistickými metodami. Soubor tvořilo 94 mužů a 58 žen, ve skupině UICC II bylo 63 pacientů, z toho 27 pacientů s karcinomem rekta, v UICC III 89 pacientů, z toho 40 pacientů s karcinomem rekta. Průměrný věk mužů v obou skupinách byl 67,27 roku, u žen 69,20 roku. Pacienti s postižením kolon byli starší než s karcinomem rekta. Deskripce souboru a doby přežití jsou shrnuty na čtyřech stranách a zaznamenány na sedmi přehledných grafech, tabulkách 6-12. Porovnání mezi skupinami UICC II a UICC III na

14 grafech, tabulkách 13-26. Analýza vlivu onkologické léčby ve čtrnácti tabulkách (27-40). Prognostické faktory na dvou grafech, tabulkách 41 a 42. Diskuzi je věnována devátá kapitola (5 stran). Je obširná, vzhledem k hodnocení sledovaných parametrů a některé výsledky jsou porovnávány se závěry literárními. Ve studii se nepodařilo signifikantně prokázat postižení lymfatických uzlin jako prognostický faktor, ale rozdíl v délce DFI ve prospěch kohorty UICC II (bez postižení lymfatických uzlin). Neprokázal se signifikantní rozdíl v délce pětiletého celkového přežití mezi těmito skupinami. U pacientů bez metastatického postižení uzlin byly odečteny signifikantně vyšší hustoty tumor infiltrujících CD4+ i CD8+ lymfocytů, což představuje pozitivní prognostický faktor DFI a celkového přežití. Ve skupině UICC II se podařilo prokázat signifikantně vyšší hustotu lymfocytů pozitivních na imunohistochemické značení proti granzymu B, což lze interpretovat jako zvýšenou cytotoxickou aktivitu tumor infiltrujících lymfocytů u pacientů bez metastatického postižení lymfatického systému. Jako nejsilnější pozitivní prognostický faktor představuje vysoká hustota CD57+ buněk, do které spadají maturované NK buňky a vysoce diferencované oligoklonální subpopulace CD8 T lymfocytů. Jsou i pozitivním nezávislým prognostickým faktorem DFI a celkového přežití. Nízká denzita těchto buněk má výpovědní hodnotu pro zvážení indikace adjuvantní chemoterapie u pacientů po radikálním chirurgickém výkonu. Analýza vlivu adjuvantní chemoterapie ale neprokázala signifikantní rozdíl v DFI a v dlouhodobém přežívání. Vysvětlením by mohl být i nesrovnatelný počet nemocných, kteří v obou skupinách podstoupili tuto léčbu. Výsledky podporují hypotézu, že serpin B9, produkovaný nádorovými buňkami kolorektálního karcinomu, podporuje metastatické šíření do lymfatických uzlin pomocí inhibice cytotoxické imunitní odpovědi zprostředkované granzymem B. V závěru autor shrnuje a krátce komentuje výsledky své práce a cíle.

V dalších samostatných kapitolách je postupně předložen seznam použité literatury. Je citováno 292 prací, převažuje literatura zahraniční (88 %). Dále souhrn disertační práce v českém a anglickém jazyce a publikační a přednášková činnost autora včetně článků k tématu, které byly publikovány v našich i zahraničních časopisech.

Přínos poznatků a význam pro praxi:

Práce je ve svém zaměření velice zajímavá, má určitou originalitu a zcela jistě je přínosem pro obor. Velmi podrobně a přehledným způsobem se zabývá problematikou, která se chirurgům, v obecném měřítku, svým způsobem vzdaluje. Je důkazem, že pohled na kolorektální karcinom z hlediska léčby a prognózy je mnohem širší a měl by být středem zájmu všech odborníků, kteří se tomuto onemocnění věnují.

Připomínky:

K formální stránce nemám zásadní připomínky.

Dotazy:

Molekulární genetiky v současné době se řadí mezi důležité metody nejenom diagnostiky, ale i stanovení prognózy nemocných s různými typy nádorů. Kolorektální karcinom není výjimkou.

1. Výsledky Vaší práce jsou velmi zajímavé. V rámci prevence, diagnostiky, léčby a dispenzarizace je chirurg mezičlánkem, který je spíše zaměřen na terapeutickou fázi. Komu byste přisoudil hlavní roli v této problematice (imunologovi, internistovi, onkologovi...), kterou jste se zabýval?

2. Mohl byste ze získaných výsledků definovat několik výstupů pro praxi?

Hodnocení:

Cíl práce byl splněn. Téma je vysoce aktuální. Text je kvalitní a napsán téměř bezchybnou češtinou. Vložené tabulky (grafy) jsou přehledné a s jasným komentářem, obrazová dokumentace vhodně a názorně vystihuje sledovanou problematiku. Autor prokázal teoretické znalosti podpořené rozsáhlými klinickými zkušenostmi.

Doporučení:

V předložené práci MUDr. Ondřej Vyčítal prokázal tvůrčí schopnosti a práce splňuje požadavky kladené na disertaci standardně v daném oboru. Disertační práci „Molekulárně biologické mechanismy progresu kolorektálního karcinomu ve vztahu k individualizované onkochirurgické léčbě“ doporučuji k obhajobě.

V Pardubicích dne 24.4.2017

Nemocnice Pardubického kraje, a.s.
Pardubická nemocnice
Chirurgická klinika
Chirurgické oddělení
Kyjevská 44, 532 03 Pardubice
IČ: 275 20 536, tel.: 466 011 111

doc. MUDr. Jiří Šiller, PhD.