



Fakultní nemocnice Olomouc

I.P.Pavlova 6, 775 20 Olomouc

Hemato – onkologická klinika

Přednosta kliniky Prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.
tel./fax. 00420-588 444 181 e-mail: indrak@fnol.cz

Vážený pan

Prof. MUDr. RNDr. Miroslav Červinka, CSc.

proděkan pro vědu a výzkum

Lékařská fakulta v Hradci Králové

Univerzity Karlovy v Praze

Šimkova 870/13

P.O.Box 38

500 03 Hradec Králové

V Olomouci 29.3.2008

Věc: **Oponentský posudek disertační práce MUDr. Davida Belady**

K oponování mi byla předložena doktorská disertační práce MUDr. Davida Belady s názvem: **Stanovení transkriptu BCL-2/IgH u nemocných s folikulárním B-nehodgkinským lymfomem léčeným chemoterapií event. v kombinaci s monoklonální protilátkou anti CD20 – Rituximabem.**

Disertační práce má klasickou strukturu tvořenou 88 stranami textu s 11 tabulkami, 12 obrázky a 208 recentními literárními odkazy ze světové i české literatury.

Zvolené téma je vysoce aktuální. Molekulárně genetické metody přinášejí v posledních letech řadu nových poznatků o etiopatogenezi nehodgkinských lymfomů, nejčastějšího a co se týče incidence stále se početně zvyšujícího hematonekologického onemocnění na západní polokouli. Folikulární lymfomy (FL) jsou 2. nejčastější podjednotkou nehodgkinských lymfomů. Nové poznatky z molekulární biologie jsou důležité i pro zpřesnění diagnostiky, rozvoj diferenciální diagnostiky, možný rozvoj cílené léčby, hodnocení léčebných výsledků a sledování minimální zbytkové choroby. Řadu molekulárně genetických výsledků a jejich klinický význam se teprve učíme chápat a právě stanovení významu transkriptu BCL-2/IgH pro sledování prognózy nemocných s folikulárním lymfomem (FL) patří ke sledovaným, nicméně dosud nedorušeným tématům.

Podrobný přehled názorů opřený o recentní literaturu věnovanou problematice Bcl-2 genu, t(14;18), proteinu Bcl-2, variantním translokacím, úloze t(14;18) pro vznik lymfomů, problematice t(14;18) negativních FL, možnostem detekce a optimálního kompartmentu pro sledování t(14;18) a rozboru současných názorů na význam molekulární remise stanovené pomocí měření transkriptu BCL-2/IgH svědčí o hlubokých literárních znalostech disertanta.

V práci hodnotí MUDr. Belada výskyt transkriptu BCL-2/IgH v kostní dřeni a periferní krvi 50 nemocných s folikulárním lymfomem při diagnóze resp. v době relapsu před chemoterapií a po chemoterapii a analyzuje souvislosti mezi těmito výsledky a typem léčby, dosaženou léčebnou odpovědí, celkovým přežitím, přežitím bez progresu choroby, přežitím bez události a také vztah k dalším prognostickým faktorům - věku, pohlaví, performance status, histologickému gradingu, hladině LDH, beta 2-mikroglobulinu, klinickému stádiu a FLIPI. Transkript BCL-2/IgH je pro tuto práci stanován metodou dvoukolové nested PCR. Analyzovaný soubor 50 nemocných s FL byl léčen na II. Interní klinice v HK od r. 2002. Medián sledování souboru je 29,5 měsíce.

Vzhledem k indolentnímu charakteru FL je hodnocení celkového přežívání po 2 letech relativně krátký úsek. Příkladnější jistě bude vyhodnocení po 5 letech.

Z metodického hlediska nepovažují za šťastné, že bylo k sestavě 43 nově diagnostikovaných nemocných s FL zařazeno 7 nemocných s FL v době relapsu choroby. Parametry typu PFS, OS, čas do vzniku relapsu, ale i léčebná odpověď a další se u relabovaných a nově diagnostikovaných nemocných mohou lišit již z podstaty rozdílu mezi chováním lymfomu při diagnóze a u relabované choroby.

Bcl-2/IgH přestavba v MCR a mbr oblastech byla identifikována metodou nested PCR u 52% nemocných. Dá se očekávat, že při použití FISH technik by procento nemocných s identifikovanou t(14;18) bylo jistě vyšší. Při srovnávání pravděpodobnosti dosažení KR po léčbě, OS či délce PFS mezi původně Bcl-2/IgH pozitivními a Bcl-2/IgH negativními nemocnými v hodnocených skupinách tedy nemůžeme hovořit o Bcl-2/IgH negativních a pozitivních nemocných obecně, ale o Bcl-2/IgH negativních a pozitivních nemocných se zlomy v MCR a mbr, protože ostatní variantní zlomy nebyly vyšetřovány. Bylo by zajímavé doplnit u celé sestavy nemocných při diagnóze vyšetření na translokaci t(14;18) pomocí FISH z histologických bločků.

Při analýze léčebných výsledků byl potvrzen signifikantně vyšší výskyt molekulárně genetických remisí po léčbě s Rituximabem (64%) ve srovnání s chemoterapií bez Rituximabu (14%). Nemocní, kteří dosáhli molekulární remise měli v porovnání se skupinou Bcl-2/IgH pozitivních nemocných nižší riziko relapsu/progrese (27% vs. 75%) a ve 2 letech vyšší pravděpodobnost přežití bez progresu (81% vs. 38%), bez události (74% vs. 38%) a hraničně delší celkové přežití (87% vs 74%; p=0,05). Dosažení Bcl-2/IgH negativity je dle zkušeností disertanta a v souladu s literárními údaji spojeno s lepší prognózou. Účinnost rituximabu při eliminaci Bcl-2/IgH se jevila větší v periferní krvi než v KD. Disertant svou práci končí vyjádřením, že přestože Bcl-2/IgH přestavba zatím představuje nejschůdnější způsob sledování MRN u nemocných s FL, k úplnému pochopení biologie a její role pro stanovení jednoznačné prognózy nemocných s FL je třeba dalších výzkumů.

K předloženým výsledkům mám 3 otázky:

1. Jestliže ve skupině 24 vstupně Bcl-2/IgH negativních nemocných 4 nemocní při léčbě zemřeli, zatím co ve skupině 26 Bcl-2/IgH pozitivních zemřel jen jeden nemocný, znamená to, že Bcl-2/IgH negativní nemocní mají větší riziko úmrtí v souvislosti s určitým typem léčby? Byli mezi zemřelými relabovaní nemocní?
2. Jak si autor vysvětluje vyšší pravděpodobnost dosažení klinické odpovědi ve smyslu uCR+CR ve skupině pacientů s grade 3 FL? Je to v souvislosti s typem zvolené léčby?
3. Ve skupině 8 nemocných s přetrvávající Bcl-2/IgH pozitivitou po léčbě 4 zemřeli s mediánem přežití (str. 59 Obr. 11) 38 měsíců. Byla u některého ze zemřelých nemocných zaznamenána transformace FL lymfomu? Jaký byl v této skupině podíl relabovaných FL?

Disertační práce MUDr. Davida Belady má vysokou odbornou úroveň, je psána čtivě s nečetnými překlepy, má perfektně zpracovaný úvod do problematiky s bohatými odkazy na recentní literaturu, které svědčí o hlubokém zvládnutí problematiky. Podrobná analýza získaných výsledků podpořená jasnou diskusí svědčí o schopnosti precizní vědecké práce a diskuse o schopnosti obhájení dosažených výsledků. Mohu proto konstatovat, že autor ve své práci zcela naplnil všechny deklarované cíle.

Doporučuji předloženou habilitační práci MUDr. Davida Belady k obhajobě.

prof. MUDr. Karel Indrāk, DrSc.