

Oponentský posudek

kandidátské disertační práce Mgr. Vladimíry Vroblové

„Prognostický význam exprese ZAP-70 u nemocných s chronickou lymfocytární leukémií“

Předložená kandidátská práce se zabývá problematikou flowcytometrické detekce znaku ZAP-70 u pacientů s B-chronickou lymfocytární leukémií (B-CLL) a jeho prognostickým významem u této diagnózy. Práce má celkem 107 stran a přílohy. Z toho připadá na úvod 42 stran, na vlastní práci 31 stran, na diskuzi 4 strany. Závěr je na jedné straně, literatura se 160 citacemi zahrnujícími články do roku 2010 včetně tvoří celkem 12 stran. Vlastní přehled celkem bohaté publikační činnosti je na 4 stranách. V příloze je pak kopiemi tří článků doloženo opublikování výsledků práce v tuzemském časopisu a ve dvou zahraničních časopisech s impact faktorem 2,237 a 0,921.

Téma práce je vhodně zvoleno. B- CLL patří mezi nejčastěji se vyskytující formu leukémie v západním světě. Vyskytuje se převážně ve věkové kategorii nad 50 let. V Evropě její incidence je přibližně 3 případy na 100 000 obyvatel a rok. S přihlédnutím ke stárnutí naší populace lze očekávat další zvyšování incidence i prevalence B-CLL. Při rozhodování o způsobu terapie hraje významnou roli přítomnost či nepřítomnost negativních prognostických znaků, mezi které patří i pozitivita znaku ZAP-70.

Otázka stanovování ZAP-70 pomocí průtokové cytometrie (FCM) je stále aktuální. Ač se jedná o celkem rychlou a „jednoduchou“ metodu, je stále problematická její standardizace. Na uvedené téma již byla v zahraničí publikována řada prací s cílem najít přesnou a reprodukovatelnou metodu. Testovali se například různé klony protilátek anti ZAP-70, různé permeabilizační postupy i různé způsoby hodnocení: podle negativní kontroly, podle „pozitivní“ kontroly i pomocí poměru MFI (mean fluorescein intenzity) T lymfocytů a leukemických buněk. Výhodou posledně jmenované metody je vyloučení subjektivního faktoru při rozhodování o umístění hranice negativity/pozitivity.

Hodnocená práce je zaměřena na tuto problematiku. Zvolené metody zpracování plně odpovídají řešené problematice. V práci je porovnána spolehlivost hodnocení ZAP-70 podle negativní kontroly a podle poměru MFI. Ze srovnání vychází jako přesnější metoda hodnocení exprese pomocí poměru MFI. Takto zjištěné hodnoty byly použity při multivariantních analýzách vlivu ZAP-70 na délku období bez léčby a na celkovou dobu přežití nemocných s B-CLL. Byla provedena i kombinovaná analýza vztahu ZAP-70

k ostatním prognostickým znakům. Výsledky analýz jsou doloženy pečlivě zhotovenými grafy a tabulkami. Další oblastí studia bylo sledování stability exprese ZAP-70 v čase u 44 nemocných. U malého počtu nemocných byla zjištěna změna exprese ve smyslu nové pozitivivity či naopak negativity.

Výsledky disertační práce v plné míře potvrdily již dříve v zahraničí publikovaná data různých studií o významu ZAP-70 u pacientů s B-CLL a o jeho vztahu k dalším prognostickým znakům. Ze závěru práce vyplývá jednoznačné splnění všech předem vytýčených cílů.

Z hlediska nových poznatků za hlavní přínos práce považuji:

1. zavedení metody hodnocení exprese znaku ZAP-70 pomocí poměru MFI do české flowcytometrické praxe;
2. prokázání lepší korelace takto získaných výsledků s klinickými parametry (TTT, OS);
3. prokázání kolísání intenzity exprese ZAP-70 v čase a jeho vztahu ke klinickým parametrům. Stejně jako autorka, i já se domnívám, že tyto výsledky bude ale nutno ověřit v dalších studiích s delším sledováním a větším počtem nemocných.

Závěr:

Autorka prokázala v předložené práci dokonalou znalost problematiky, literárních údajů a schopnost vědecké práce. Potvrdila význam antigenu ZAP-70 jako důležitého prognostického znaku u pacientů s B-CLL. K hodnocené práci nemám zásadních připomínek. Disertace splňuje požadované podmínky k udělení vědecké hodnosti, proto **doporučuji** práci k obhajobě a po úspěšném obhájení práce, aby byla autorce udělena vědecká hodnost Ph.D.

V Praze dne 26.8.2010

MUDr. Josef Karban, CSc.