



**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

Vážený pan

Prof. RNDr. Ivan Raška, DrSc.

předseda OR studijního programu Biologie a patologie buňky

3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy - děkanát

Ruská 87

100 00 Praha 10

Věc: oponentský posudek disertační práce MUDr. Martina Špačka „Nové biologické markery u lymfoproliferativních onemocnění“.

Vážený pane profesore,

dovoluji si Vám zaslat posudek výše uvedení disertační práce.

Posudek:

Předložená disertační práce se zabývá problematikou nových prognostických faktorů u chronické lymfocytární leukémie (CLL), Hodgkinova lymfomu (HL) a Ne-Hodgkinových lymfomů (NHL). Tato onemocnění patří mezi nejčastější hematologické malignity a v řadě případů (např. u CLL) se vyznačují významnou různorodostí klinického průběhu. Zavedením nových prognostických parametrů by bylo možné zpřesnit individuální prognózu těchto nemocných a přizpůsobit tomu i plánovanou léčbu. Z tohoto důvodu má studium moderních prognostických faktorů u CLL i dalších maligních lymfoproliferací zásadní význam a zvolené téma disertační práce tedy považuji za vysoce aktuální.

Předložená disertační práce má standardní členění; vlastní práce má 96 stran, teoretický úvod 39 stran, vlastní výsledky pak 55 stran; v rámci literatury je uvedeno 158 aktuálních a relevantních citací. Přílohy zahrnují poměrně bohatou publikační aktivitu doktoranda, zejména 10 publikací v časopisech s impakt faktorem (2x první autor, 8x spoluautor), z nichž 3 původní práce s IF (+1x bez IF) jsou podkladem disertační práce. Za nejvýznamnější pokládám práci „Plasma EBV-DNA monitoring in Epstein-Barr virus positive Hodgkin lymphoma patients“ publikovanou v APMIS 2011, impakt faktor 1,944.



Univerzita Karlova v Praze Lékařská fakulta v Hradci Králové

Z disertační práce MUDr. Martina Špačka vyplývají následující skutečnosti:

- 1) Na souboru 165 dospělých nemocných s HL prokázalo monitorování nálože EBV-DNA možný význam pro hodnocení prognózy a sledování nemocných s EBV-pozitivním HL (nová pozitivita EBV-DNA po úspěšné léčbě jako možný časný ukazatel relapsu).
- 2) Hodnocení polymorfismu R72P genu *TP53* u 340 nemocných s NHL a 298 nemocných s HL ukázalo, že R72P není prognostickým faktorem ani u jedné z těchto skupin (i po rozčlenění na nejčastější diagnózy NHL - folikulární lymfom, difúzní B-velkobuněčný lymfom).
- 3) Prospektivní studie u 73 nemocných s CLL hodnotila expresi nitrobuněčné tyrosin kinázy ZAP-70 v kontextu s dalšími silnými prognostickými faktory (mutační stav IgVH, mutace genu *TP53*, exprese CD38). Shoda mezi expresí ZAP-70 a mutačním stavem IgVH byla 85 %, analýza exprese ZAP-70 byla ověřena srovnáním s imunohistochemickou detekcí ZAP-70 v preparátech kostní dřeně a kvantitativní PCR v reálném čase. Exprese ZAP-70 byla stabilní v průběhu onemocnění.

K obsahové stránce disertační práce nemám zásadnějších připomínek. Z formálních hledisek hodnotím práci jako jasně, přehledně a srozumitelně uspořádanou. Drobné připomínky je možno mít ke sklonu k nadměrnému užívání anglicismů.

Na otázky zásadní k posouzení disertační práce odpovídám takto:

- 1) Zvolené téma hodnotím vzhledem k závažnosti a komplexnosti problematiky molekulárně-biologických prognostických faktorů u CLL a dalších lymfoproliferací jako vysoce aktuální.
- 2) Cíle práce, který si autor stanovil, byly splněny. Na otázky, které si položil, dává jasnou a srozumitelnou odpověď.
- 3) Metody vyhodnocení výsledků plně odpovídají cílům práce.
- 4) Výsledky práce, zejména hodnocení ZAP-70 u CLL a monitorování EBV-DNA u Hodgkinova lymfomu, rozšířily poznatky o molekulárně-biologických prognostických ukazatelích u CLL a dalších lymfoproliferací.



Univerzita Karlova v Praze Lékařská fakulta v Hradci Králové

Na MUDr. Martina Špačka mám v souvislosti s disertační prací tyto otázky:

- 1) Která metodika hodnocení EBV-DNA se na základě Vašich výsledků jeví jako vhodnější z hlediska senzitivity a specifity - použití plazmy nebo plné krve?
- 2) Porovnávali jste při hodnocení exprese ZAP-70 metodiku poměru střední fluorescenční intenzity (MFI) T-lymfocytů/CLL lymfocytů s „klasickou“ metodou procentuální exprese ZAP-70 CLL lymfocyty v porovnání s izotypovou kontrolou či T-lymfocyty?
- 3) Z hlediska stability ZAP-70 během klinického průběhu byla ve Vaší skupině významná změna v expresi ZAP-70 zaznamenána pouze u 1 ze 73 nemocných (při mediánu 12 měsíců mezi prvním a posledním odběrem). Byly opakované odběry na ZAP-70 prováděné v předem daných časových intervalech či pouze při změně klinického stavu (relapsu, progresi)? Mohla by mít volba metodiky (poměr MFI vs. procentuální exprese) vliv na stabilitu exprese ZAP-70 v čase?

Závěr:

MUDr. Martin Špaček předloženou disertační prací prokázal hluboké znalosti problematiky prognostických faktorů u CLL a dalších lymfoproliferací, stejně jako schopnost naplánovat a provést náročné klinicko-laboratorní projekty a interpretovat jejich výsledky. Disertační práci proto **doporučuji** k obhajobě podle § 47 vysokoškolského zákona 111/98 Sb.

V Hradci Králové, dne 24.7.2012

doc. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D.

IV. interní hematologická klinika

Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta UK

Sokolská 581

500 05 Hradec Králové

e-mail: lukas.smolej@fnhk.cz

tel. 495834688, fax 495832011