



Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Vážená paní
doc. MUDr. Milada Kohoutová, CSc.
děkanát 1. lékařské fakulty UK
Kateřinská 32
121 08 Praha 2

Oponentský posudek disertační práce MUDr. Adély Berkové „Přínos molekulárně genetických a cytogenetických analýz k diagnostice a predikci léčebné odpovědi u pacientů s non-Hodgkinskými lymfomy“.

Vážená paní docentko,
dovoluji si Vám zaslat posudek výše uvedené disertační práce.

Předložená disertační práce se zabývá problematikou cytogenetických a molekulárně-biologických vyšetření u chronické lymfocytární leukémie (CLL). Toto onemocnění je nejčastější leukémií dospělých v západní populaci, postihuje převážně starší nemocné a vyznačuje se mimořádnou různorodostí klinického průběhu s celkovým přežitím od několika měsíců po desítky let; snaha o objasnění mechanismů progresu a léčebné rezistence u CLL je zásadní pro možnost optimalizace a individualizace léčby. Z tohoto důvodu má studium této oblasti CLL klíčový význam a disertační práce tedy řeší velmi aktuální a vysoce důležité téma.

Předložená disertační práce má standardní členění; vlastní práce má 92 stran, v rámci literatury je uvedeno 149 relevantních a aktuálních citací. Přílohy obsahují poměrně rozsáhlou publikační aktivitu doktorandky (celkem 16 publikací, z toho 12x v časopisech s impakt faktorem, 4x první autorka). Za nejvýznamnější pokládám práci „Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia studied by interphase fluorescence in-situ hybridization“ publikovanou v roce 2009 v časopisu Neoplasma (impakt faktor 1,192).

V rámci disertační práce byl vyšetřován klasický karyotyp a dále čtyři nejčastější cytogenetické aberace u CLL (del 13q, del 11q, del 17p, trisomie 12) metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) na velkém souboru nemocných. U 292 nemocných bylo provedeno opakované vyšetření FISH k posouzení klonálního vývoje. Dále byla u 66 nemocných s CLL vyšetřována délka telomer a u 21 nemocných aktivita telomerázy. Zjištěné výsledky byly analyzovány ve vztahu k dalším prognostickým ukazatelům a parametrům klinického průběhu.

V rámci disertační práce MUDr. Adély Berkové bylo mj. dosaženo těchto výsledků:

- 1) V souladu s literaturou bylo vyšetření klasického karyotypu u CLL velmi málo výtěžné.
- 2) V souladu s literaturou byla potvrzena četnost výskytu FISH aberací a jejich prognostický význam (příznivá prognóza u negativního výsledku či samotné del 13q; nepříznivý vliv del 17p a del 11q).
- 3) Klonální vývoj byl zachycen u 27 % z 292 nemocných.



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

- 4) Přežití nemocných od záchytu del 17p v rámci klonálního vývoje bylo významně kratší než nemocných s del 17p zjištěnou při prvním FISH vyšetření.
- 5) Klonální vývoj byl významným prediktorem přežití v multivariální analýze.
- 6) Zkrácení telomér bylo zjištěno u 58 % nemocných a spojeno s nepříznivými prognostickými faktory; nebyla však zjištěna souvislost délky telomér s cytogenetickými aberacemi.

Připomínky k disertační práci:

Disertační práce je celkově vypracována velmi pečlivě a výsledky byly podrobeny důkladnému statistickému hodnocení včetně multivariální analýzy. Velmi oceňuji autorčino kritické hodnocení dosažených výsledků, včetně zmínění metodických nedostatků. V rámci teoretického úvodu týkajícího se prognostických faktorů u CLL mohly být alespoň stručně zmíněny tzv. nové mutace (NOTCH1 a další). V metodice k vyšetření FISH v rozšířeném souboru nemocných je uvedeno, že bylo vyšetřováno 1686 nemocných se suspektní CLL. Není však uvedeno, kolik nemocných mělo skutečně potvrzenou diagnózu CLL průtokovou cytometrií či imunohistochemií; nemocní s jinými diagnózami měli být z analýzy výskytu jednotlivých aberací vyřazeni. V multivariální analýze vlivu klonálního vývoje na přežití měly být zahrnuty také další prognostické faktory jako pohlaví či klinické stádium.

Z formálních hledisek hodnotím práci jako přehledně a srozumitelně uspořádanou. Včlenění části týkající se fyziologie diferenciacce a maturace v B řadě mezi části týkající se již CLL (úvod a etiologie) nebylo příliš vhodné. Ojedinele jsou přítomny překlepy, terminologická nejednotnost (např. chronická „lymfocytární“ vs. „lymfatická“ vs. „lymfocytická“ leukémie) či drobné faktické chyby (autorka např. uvádí, že CLL je v naprosté většině onemocnění vycházející z B lymfocytů – ve WHO klasifikaci 2008 však již diagnóza T-CLL neexistuje, tzn. CLL je vždy onemocnění z B lymfocytů). Obrázky či grafy by měly být převzaty z jiných prací pouze se souhlasem autora a vydavatele.

Na otázky stěžejní k posouzení disertační práce odpovídám:

- 1) Zvolené téma hodnotím vzhledem k závažnosti problematiky cytogenetických a molekulárně-biologických vyšetření u CLL jako aktuální a velmi důležité.
- 2) Cíle práce, které si autorka stanovila, byly splněny. Na otázky, které si položila, dává odpověď.
- 3) Metody vyhodnocení výsledků odpovídají cílům práce.
- 4) Výsledky disertační práce přinesly nové poznatky v oblasti cytogenetiky a molekulární biologie CLL, přispěly tedy k dalšímu rozvoji vědního oboru.



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

Na MUDr. Adélu Berkovou mám v souvislosti s disertační prací tyto otázky:

- 1) Hodnotili jste spojitost bialelické delece 13q s dalšími prognostickými faktory a vliv na celkové přežití?
- 2) V kolika případech ze všech opakovaných odběrů FISH nebyla v mezidobí žádná léčebná intervence? Lišil se výskyt klonálního vývoje a prognóza této skupiny v porovnání se skupinou, ve které byli nemocní v období mezi FISH vyšetřeními léčení?
- 3) Doporučujete na základě Vašich výsledků význam opakovat při vyšetření FISH celý panel čtyř aberací nebo by postačovala pouze del 11q a del 17p?
- 4) Budete na základě Vašich výsledků nadále rutinně používat vyšetření klasického nestimulovaného karyotypu u CLL?

Závěr:

MUDr. Adéla Berková předloženou disertační prací prokázala vynikající znalosti problematiky cytogenetiky a molekulární biologie u CLL, stejně tak schopnost naplánovat a provést náročné laboratorní experimenty včetně interpretace jejich výsledků. Disertační práce tedy prokázala předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem. Disertační práci proto **doporučuji** k obhajobě podle § 47 vysokoškolského zákona 111/98 Sb.

V Hradci Králové, dne 6.10.2014

doc. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D.
předseda České CLL skupiny ČHS ČLS JEP
IV. interní hematologická klinika
Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta UK
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: lukas.smolej@fnhk.cz
tel. 495832649, fax 495832011