



V Olomouci 31. srpna 2015

Zápis o konání obhajoby disertační práce ve studijním programu Patologická anatomie a soudní lékařství

MUDr. Patrik Flodr, odborný asistent Ústavu klinické a molekulární patologie LF UP a student kombinované formy doktorského studijního programu *Patologická anatomie a soudní lékařství* LF UP v Olomouci.

Téma disertační práce: „Analýza imunohistochemického expresního profilu konkrétních lymfoproliferativních onemocnění a jeho klinicko-patologický význam.“

Obhajoba se konala v Olomouci 31. srpna 2015 v 10:00 hodin.

Komise:

předseda: prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc. ✓

místopředseda: prof. MUDr. Jiří Ehrmann, Ph.D. ✓

členové: doc. MUDr. Svetlana Brychtová, Ph.D. ✓

doc. MUDr. Jaroslav Horáček, CSc. ✓

doc. MUDr. Leoš Křen, Ph.D. ✓

Oponenti:

doc. MUDr. Leoš Křen, Ph.D. ✓
Ústav patologie LF MU a FN Brno

doc. MUDr. Jaroslav Horáček, CSc. ✓
Ústav patologie LF OU Ostrava

Školitel: doc. MUDr. Martin Tichý, CSc. ✓

Předsedající přednesl stručnou charakteristiku uchazeče, hodnocení školitele. Poté uchazeč vyložil podstatný obsah své disertace. Oponenti přednesli své posudky. Uchazeč odpověděl na připomínky a dotazy oponentů. Ve vědecké rozpravě vystoupili: viz příloha – zápis o diskusi.

Hlasování se účastnilo⁵..... členů komise. Kladně hlasovalo⁵..... členů, záporně⁰..... členů, neplatných lístků bylo odevzdáno¹⁰..... .

Usnesení:

Přítomní členové komise tajným hlasováním rozhodli, že **MUDr. Patrik Flodr** obhájil disertační práci a doporučili udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

.....
prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc.
předseda komise

Obhajoba disertační práce, MUDr. Patrik Flodr, 31. srpna 2015

Dotazy od oponentů:

Doc. MUDr. Jaroslav Horáček, CSc.:

1. Difuzní velkobuněčný B-lymfom patří mezi nejčastěji se vyskytující lymfomy. Do jaké míry je ovlivněn jeho vznik imunodeficientními stavy?

V patogenezi DLBCL hraje imunodeficience významnou roli z důvodu patologické anti-neoplastické a anti-virové imunologické odpovědi. V široké skupině onemocnění DLBCL jsou známky jednotky, které mají prokázaný přímý vztah mezi imunodeficiencí a rozvojem onemocnění. Dobrým příkladem a zároveň experimentálním modelem pro tuto problematiku je AR-DLBCL, který ve srovnání se sporadickým DLBCL vykazuje vyšší angiogenezi a proliferaci a snížený počet CD4 a FOXP3 pozitivních T-helper lymfocytů, zvýšenou aktivaci cytotoxických T-buněk a málo makrofágů asociovaných s nádorem. Z dalších fenoménů, které ovlivňují rozvoj B-lymfomů, můžeme jmenovat také infekci HHV8 nebo HHV4.

2. Jak se za posledních 10 let změnila u difuzního velkobuněčného lymfomu (DLBCL) diagnostika a úspěšnost terapie?

Největší změnou v diagnostice DLBCL v poslední dekádě byla jistě nová klasifikace WHO z roku 2008, která ve srovnání se svou předchozí verzí z roku 2001 přinesla implementaci nových patofyziologických poznatků a zejména rozšíření počtu diagnostických jednotek a podjednotek. Byla postavena na klinickém, morfologickém, imunohistochemickém a genetickém konsensu.

Vývoj terapie je možno sledovat od počátečního režimu CHOP k současnému režimu R-CHOP po zavedení rituximabu přibližně na přelomu tisíciletí. To s sebou přineslo i potřebu změny klinických prognostických ukazatelů, např. původně používaný IPI na R-IPI. V současnosti dosahuje čtyřletého přežití asi 59% pacientů v pokročilém stádiu (stádium IV). Relabující pacienti s DLBCL po režimu R-CHOP mohou profitovat z aplikace bortezomibu, lenalidomidu, ibrutinibu.

3. Jaká je úspěšnost idiotypické vakcinace v léčbě B-lymfomů?

S idiotypickou vakcinací proti buňkám B-lymfomů se v medicíně setkáváme již více než dvacet let a patří mezi vyhraněné personalizované a málo zatěžující léčebné přístupy. Nádorové B-buňky nesou znaky, jejichž imunogenicitu lze s úspěchem využít k přípravě individualizovaných terapeutických vakcín, které účinkují díky tumor-specifické imunitní odpovědi a mohou dokonce vést k remisi onemocnění i na molekulární úrovni (literárně popsáno u folikulárního lymfomu). Jedná se však o časově i finančně značně náročný proces. Selhání této léčby jde na vrub mutací, které v nádorové populaci narůstají díky vakcinačnímu „selekčnímu“ tlaku.

Doc. MUDr. Leoš Křen, PhD:

Použitá metodika hodnocení imunohistochemické exprese je již z principu semikvantitativní a nevyhnutelně subjektivní. Byly některé případy ze souboru na některé markery hraničně negativní resp. pozitivní? Pokud ano, jak byly vyhodnoceny? Dosažením konsenzu po diskuzi u sprážené optiky?

Imunohistochemická analýza je subjektivní metodou s možnou objektivizací „počítačovou“ analýzou obrazu. Byly hodnoceny intervaly positivity v % a malé procento hraničních případů bylo nezávisle analyzováno dvěma patologi včetně hraničních případů. Použitý software pro morfometrické hodnocení LUCIA 5.20, NIS-Elements 2.20

Dotazy v diskuzi:

Doc. MUDr. Svetlana Brychtová, PhD:

1. Jaký je vztah zkoumaných a v disertační práci uvedených proteinů dráhy NFκB a jejich využití jako terapeutických cílů? Dle výsledků uvedených v dis. práci se zmíněné tři proteiny nejeví jako slibné cíle z důvodu jejich nízké detekované exprese.

Získané výsledky mohou být do určité míry ovlivněny velikostí souboru. Vlivem terapie je prokázána určitá stabilizace genomu nádorové buňky a tím i možná změna exprimovaných proteinů.

V jednotlivých fázích vývoje onemocnění dochází také ke změnám v aktivaci signálních drah (konstitutivní/nekonstitutivní) a s tím může souviset variabilní exprese jednotlivých proteinů.

Využitím většího spektra specifitějších protilátek a také nových moderních analytických metod, jako je například hmotnostní spektrometrie, lze docílit zpřesnění detekce proteinů dráhy NFκB. Dle literárních údajů je prokázán vliv exprese p65 na prognózu pacientů.

2. Bylo v rámci studie provedeno srovnání fenotypu nádorových buněk také v době relapsu onemocnění?

Vzhledem k běžnému klinickému postupu, podle kterého je relaps lymfoproliferativních onemocnění diagnostikován většinou zobrazovacími metodami (PET-CT) nikoliv biopsicky, není k dispozici dostatečný počet vzorků pro tuto analýzu. Několik jednotlivých případů bylo vyšetřeno, jejich počet však nebyl dostatečný pro statistické zpracování. V pokračování studie s dalším rozšířením souboru lze předpokládat získání dostatečného počtu vzorků pro validní statistické zhodnocení a osvětlení této otázky.