Vážený pan
Prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.
Předseda oborové rady DSP VN
LF UP v Olomouci – děkanát
tř. Svobody 8
771 00 Olomouc

Věc: Oponentský posudek doktorandské disertační práce MUDr. Tomáše Piky

V Olomouci dne 8. 8. 2011

Vážený pane profesore,

k oponentuře mi byla předložena doktorandská disertační práce **MUDr. Tomáše Piky** s názvem: **Hodnocení sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu u mnohočetného myelomu a jejich vztahu k vybraným klinicko – laboratorním ukazatelům nemoci.**

Práce má celkem 150 stran a je rozdělena do 10 kapitol. Seznam zkratek, souhrn a přehled klíčových slov, seznam tabulek (22 tabulek) a grafů (25 grafů) jsou zařazeny na počátek rukopisu.

Souhrn disertační práce velmi dobře a přehledně sumarizuje výsledky vlastního bádání a jeho struktura odpovídá jednotlivým kapitolám disertační práce. Klíčová slova jsou zvolena adekvátně studované problematice.

Cíle disertační práce doktorand uvádí v kapitole 4. Práce má dva hlavní cíle, první cíl je dále rozveden na 6 užších a parciálních úkolů, vše ve shodě s hlavním námětem předložené práce.

Souhrnná **úvodní část** v rozsahu 27 stran charakterizuje mnohočetný myelom (MM), uvádí jeho moderní diagnostická kritéria a v současnosti nejvíce používané stážovací systémy. Dále následují části o laboratorních vyšetřeních u MM, kde se autor podrobně věnuje problematice analýzy patologických imunoglobulinů, respektive metodice stanovení hladin volných lehkých řetězců (VLŘ) a stanovení párů imunoglobulinů (zařazeno na konci kapitoly). V oddíle o vyšetření kostní dřeně doktorand zmiňuje přínos vyšetření průtokovou cytometrií a cytogenetické analýzy. Dle osobního mínění by si tato část v současné době zasloužila více prostoru s širším popisem biologických konsekvencí nejvýznamnějších genetických změn u MM a zhodnocení jejich nezávislého prognostického významu v éře moderní terapie choroby. Jak autor sám konstatuje, cytogenetická klasifikace onemocnění je dnes základem pro individuální moderní léčebnou stratifikaci MM (mSMART klasifikace). Kapitola o zobrazovacích vyšetřeních zmiňuje použití moderních metod (MRI a PET/CT) při diagnostice a zhodnocení efektu

terapie u této choroby. Následná část zabývající se léčbou MM poskytuje velmi dobrý přehled o současných možnostech terapie, doktorand se podrobněji věnuje vysokodávkované chemoterapii a moderním (biologickým) lékům, které v současnosti patří k základním kamenům úspěšné terapie onemocnění (thalidomid, bortezomib, lenalidomid). Nutno konstatovat, že celá úvodní část je psána moderně, svěžím jazykem, zároveň velmi přehledně a s logickým uspořádáním podkapitol. I přes moji poznámku týkající se problematiky cytogenetiky je nesporné, že tato kapitola svědčí o velmi dobré orientaci doktoranda v studované problematice a jeho celkové erudici.

Vlastní studie (kapitola 6) je rozdělena přesně dle cílů práce na 7 jednotlivých problematik. Prvních 6 se týká analýzy VLŘ Ig, poslední pak významu stanovení párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu u monoklonálních gamapatií. Každá subkapitola obsahuje úvod, charakteristiku vyšetřeného souboru, výsledky a diskuzi. Text je vždy názorně kombinován s grafickými informacemi a přehlednými tabulkami.

V první části autor analyzoval **sérové hladiny VLŘ u 191 nemocných s monoklonální gamapatií nejistého významu (MGUS)** a zjistil, že 119 jedinců (62,3%) mělo patologické hladiny VLŘ a u 106 vyšetřených (55,5%) byla přítomna patologická hodnota κ/λ indexu. V průběhu sledování souboru došlo u 11 nemocných (5,7%) k transformaci v maligní formu monoklonální gamapatie (roční míra 0,95%), její frekvence odpovídala stupni rizika dle stratifikačního systému MGUS. V diskuzi autor svá pozorování uvádí v kontextu s údaji světového písemnictví a připojuje doporučení, jakým způsobem nemocné s MGUS a patologií VLŘ dále klinicky a laboratorně sledovat.

Druhá část práce se týká **stanovení VLŘ u MM**. Soubor tvořilo 261 pacientů s nově diagnostikovaným MM. U 94,5% z nich byly nalezeny abnormální hladiny dominantního VLŘ, patologické hladiny indexu VLŘ byly přítomny u 96% jedinců. Analýza potvrdila skutečnost, že hladiny VLŘ nekorelují s hladinami monoklonálního imunoglobulinu, což je v souladu s údaji dříve publikovaných studií. Autor uvádí, že několik publikací prokázalo význam indexu VLŘ pro predikci přežití nemocných, užitečnost při stanovení stringentní kompletní remise (sCR), naopak malý význam pro monitorování léčebné odezvy v průběhu terapie. Dále autor rozebírá fenomén „light-chain escape", který se vyskytuje u některých nemocných při relapsu choroby. Doktorand se samostatně věnoval i významu stanovení hladiny VLŘ u nesekretorické, oligosekreční, B-J a IgD formy MM.

V třetí kapitole doktorand hodnotil přínos **sérových hladin VLŘ Ig v diferenciální diagnostice MGUS a MM**, která je v některých případech velmi obtížná. Soubor čítal úctyhodných 255 nemocných s MM a 166 jedinců s MGUS. U nemocných s MGUS byly nalezeny statisticky významně rozdílné hladiny dominantních VLŘ a hodnoty indexu κ/λ ve srovnání s nemocnými s MM. Autor však potvrdil, že existuje významný překryv hodnot VLŘ

a indexu κ/λ mezi jedinci s MGUS a jedinci s MM, a proto jsou tyto hodnoty pro lékaře jen pomocným vodítkem při diferenciálně diagnostické rozvaze.

Čtvrtá kapitola je věnována vztahu **VLŘ ke stupni pokročilosti MM**. Autor v souboru 255 nemocných s MM analyzoval sérové hladiny VLŘ a jejich index u jednotlivých stádií MM. Signifikantní rozdíly byly nalezeny mezi počátečním a pokročilým stádiem choroby (st. I a III dle Durieho-Salmona). Při srovnání sérových hladin VLŘ v jednotlivých stádiích MM dle ISS kritérií nebyly také ve shodě s literaturou nalezeny významnější rozdíly. Jak však doktorand zdůrazňuje, poslední literární zprávy naznačují, že kombinace systému ISS a hodnot indexu κ/λ může představovat nový prognostický model u MM.

V pátém oddíle doktorand sledoval vztah **hladin VLŘ a některých vybraných biologických ukazatelů MM**. Z rozboru nalezených výsledků autor vyvozuje závěr, že zatím žádný z těchto markerů (či jejich vzájemná korelace) nemá významnější přínos pro klinickou praxi.

V další analýze se autor pokusil odhalit **prediktivní sílu iniciálních hodnot indexu κ/λ ve vztahu k přežití** 239 nemocných s nově diagnostikovaným a symptomatickým MM. I když při hodnocení zjistil určitý trend k lepšímu přežití u méně patologických hodnot indexu VLŘ, statisticky významné rozdíly – až na jednu výjimku - nalezeny nebyly. Ve shodě s literaturou autor potvrdil, že vysocedávkovaná léčba smazává prognostický význam indexu κ/λ, stejně jako řady dalších používaných prediktivních ukazatelů.

Jako poslední cíl své práce zvolil doktorand **stanovení sérových hladin páru těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinů u monoklonálních gamapatií.** Díky prioritnímu zavedení metody HevyLite™ v olomouckém centru autor vyšetřil 31 nemocných s IgA monoklonální gamapatií a 31 nemocných s IgG monoklonální gamapatií. U nemocných s aktivními formami MM nalezl v obou skupinách vysoce patologické hladiny dominantního Igκ nebo Igλ s výrazným ovlivněním poměru Igκ/Igλ, stejný jev pozoroval také u MGUS. Nálezy dobře korelovaly s hladinami MIG stanoveného konvenční metodikou. U nemocných v CR byly pak hodnoty Igκ nebo Igλ normální. V diskuzi autor zdůrazňuje, že metoda dovoluje mnohem citlivěji detekovat reziduální onemocnění po proběhlé terapii, ale také časný relaps či progresi onemocnění.

V kapitole 7 autor uvádí **závěry disertační práce**. Ty korespondují s cíli práce, jsou formulovány logicky, přehledně a jasně.

Kapitola 8 (**literatura**) obsahuje 240 odkazů na literární prameny, nechybí zde citace významných českých prací na téma MM.

Přehled **publikační a přednáškové činnosti autora** (kapitola 9) je úctyhodný. Doktorand je prvním autorem 11 prací v recenzovaných časopisech, spoluatorem řady

dalších prací (6x v časopise s IF), bohatá je jeho přednášková činnost, resp. aktivní účast na mezinárodních kongresech ve formě posterového sdělení.

Práce je zakončena **anglickým názvem práce, souhrnem** a klíčovými slovy.

Předložená doktorandská disertační práce MUDr. Tomáše Piky:

a. je zvolena na aktuální téma

b. metodika zpracování disertace je adekvátní, přehledná a graficky pečlivě provedená

c. práce má nesporně význam pro další rozvoj diagnostiky a léčby nemocných s monoklonálními gamapatiemi

d. k předložené práci mám tyto komentáře a doplňující otázky:

1. *V práci je poměrně malý prostor věnován popisu použité statistické metodiky, nejsou uvedeny intervaly spolehlivosti, hladiny významnosti a také definice jednotlivých kategorií přežití nemocných. Statistické zpracování medicínských dat, resp. jeho dokumentace pro použití v publikacích je však určitou obecnou bolestí LF UP, k jejímuž zlepšení bude zapotřebí vyvinout společnou aktivitu všech zainteresovaných.*

2. *Rád bych se doktoranda zeptal, jak vidí postavení metody stanovení VLŘ Ig v současné klinické praxi. Jde o vyšetření, které by mělo být zavedeno do praxe i na menších pracovištích nebo zůstává vyhrazeno pro velká univerzitní centra, kde je používáno v rámci diferenciální diagnostiky složitých případů plasmocytárních neoproliferací, klinického výzkumu monoklonálních gamapatií a sledování účinnosti moderní nepaliativní terapie u jednotlivých typů MM?*

3. *Doktorand konstatuje, že index klonality κ/λ jako prediktivní rizikový faktor je přínosný pouze u nemocných léčených konvenční terapií nebo moderní biologickou terapií. Bude tento ukazatel dále ve vztahu k celkovému přežití či přežití bez události či progrese onemocnění dále sledovat? Pokud ano, nezvolí třeba alternativní diskriminační hodnoty indexu pomocí ROC analýzy?*

e. úroveň předložené práce hodnotím celkově vysoce kladně a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb.

Doc. MUDr. Tomáš Pavlík, CSc.

Hem [redacted] ci

Posudek práce pana doktora Tomáše Piky
s názvem
Hodnocení sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu u mnohočetného myelomu a jejich vztah k vybraným klinicko-laboratorním ukazatelům nemoci

K posouzení byla předložena písemná práce o rozsahu 150 stran.
Z pohledu na formální složení práce jsem nenašel nic, co by bylo možné práci vytknout. Jednotlivé kapitoly obsahují vždy jasně a velmi pochopitelně psaný úvodní přehled problematiky a pak následující vlastní výsledky. Slohově je práce excelentně napsána.

Z pohledu odborného zpracování cílů, které si autor stanovil, musím konstatovat, že má dostatečně velké soubory pro jeho závěry a že použil odpovídají vědecké řešení a statistické metody.

Z pohledu vědeckého přínosu chci podtrhnout, že stanovení volných lehkých řetězců je zcela novou metodikou a tak vyhodnocení přínosu tohoto vyšetření u jednotlivých skupin pacientů má aktuální vědecký přínos pro odbornou veřejnost.

Autor disertační práce hledal odpovědi a otázky, jakým přínos představuje toto vyšetření pro jednotlivé podskupiny pacientů s monoklonální gamapatií. Skupiny pacientů přesně definoval a výsledky vyšetření koreloval s dalšími parametry nemoci. Z metodického hlediska nelze práci nic vytknout. Autor tak perfektně splnil cíle, které definoval v úvodu.

V práci je uveden i seznam publikací, které překračují svým rozsahem kritéria kladené na doktorandy.

Přeloženou práci proto jednoznačně doporučuji k obhajobě a doporučuji, aby na základně úspěšné obhajoby byl autorovi udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. dle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Otázky:
1) Dovoluji autora požádat aby v přednášce definoval situace, kdy by se v medicíně mělo toto vyšetření používat, tedy při kterých diferenciálně diagnostických otázkách.
2) Má analýza volných lehkých řetězců přínos i pro jiné maligní lymfoproliferace než je mnohočetný myelom a MGUS?
3) Mělo by význam analyzovat volné lehké řetězce u pacientů s myelomem a ve výpotku v peritoneální či pohrudniční dutině, případně v likvoru, když je podezření na souvislost výpotku s monoklonální gamapatií?
4) Autor zmiňuje zobrazovací vyšetření. Může autor okomentovat rozdíly v přínosu PET –CT zobrazení, MIBI zobrazení a MR zobrazení a vysvětlit, zda takzvané MR obohacené o difúzi je zásadním přínosem?

Prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc.
Interní hematoonkologická klinika
LF MU a FN Brno

OPONENTSKÝ POSUDEK

na doktorskou dizertační práci

„Hodnocení sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu u mnohočetného myelomu a jejich vztah k vybraným klinicko-laboratorním ukazatelům nemoci“

Autor doktorské dizertační práce: MUDr.Tomáš Pika

Pracoviště: Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, III.interní klinika

Školitel: prof.MUDr.Vlastimil Ščudla,CSc.

Obecná charakteristika práce

Dizertační práce MUDr.Tomáše Piky je zaměřena na problematiku stanovení koncentrací volných lehkých řetězců imunoglobulinů v séru nemocných mnohočetným myelomem (MM) a v séru osob s monoklonální gamapatií nejistého významu (MGUS).Autor si kladl náročné cíle zhodnocení významu stanovení sérových koncentrací volných lehkých řetězců u mnohočetného myelomu a MGUS, posouzení případného přínosu tohoto vyšetření k diferenciální dignostice MM a MGUS, použití této nové laboratorní metody k určení stupně pokročilosti MM,srovnání získaných výsledků s jinými markery používanými u MM a posouzení prognostického významu volných lehkých řetězců u MM.Posledním cílem dizertace,ale v žádném případě cílem okrajovým bylo zavedení stanovení monoklonálního proteinu metodou HevyLite a získání prvních zkušeností s klinickým využitím tohoto velmi aktuálního vyšetření u monoklonálních gamapatií.

Vlastní práce má 150 stran, z toho rozsáhlý seznam použité literatury je na 22 stranách a uvádí 240 velmi aktuálních literárních pramenů .V práci je 22 tabulek a 25 grafů.

Seznam autorem publikovaných a přednesených prací k tématu dizertace je na 9 stranách.

Hodnocení dizertační práce

Rozsáhlá teoretická část předložené práce uvádí charakteristiky MM,diagnostická kriteria historická i aktuální IMWG,stážovací systémy u MM, používaná hematologická a biochemická laboratorní vyšetření,ale i vyšetření cytogenetická a zobrazovací.Autor se dále zabývá terapií MM,která prodělala v posledních letech velké pokroky.Další část teoretického úvodu informuje o volných lehkých řetězcích imunoglobulinů a o stanovení HevyLite.

Cíle práce jsou uvedeny na str.17,jsou formulovány jasně a byly soustředěny na hodnocení přínosu stanovení sérových koncentrací volných lehkých řetězců imunoglobulinů u MM a MGUS.Poslední kapitola informuje o stanovení HevyLite a o prvních zkušenostech s tímto testem.

Sérové hladiny volných lehkých řetězců imunoglobulinů byly stanoveny v souboru 191 osob s MGUS a v souboru 261 nemocných s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem.Sledované soubory jsou dobře charakterizovány a výsledky jsou zpracovány vhodnými statistickými metodami.

Závěry dizertační práce potvrzují v dnešní době již nezastupitelný význam a přínos stanovení koncentrace volných lehkých řetězců v séru u monoklonálních gamapatií.Autor prokázal patologické koncentrace volných lehkých řetězců(VLŘ) u 62% osob s MGUS.S nárůstem hodnot VLŘ a indexu kappa/lambda byl spojen během šestiletého sledování přechod MGUS v MM,s incidencí 0,95% za rok.Autor prokázal v souhlase s literárními údaji,že určení koncentrace volných lehkých řetězců v době stanovení diagnózy má doplňkový charakter,ale je velkým přínosem při průkazu remise a pro svou velkou citlivost i při určení relapsu onemocnění (např. u „light-chain phenomenu").Je prioritním vyšetřením u oligosekretorického a nesekretorického MM.Autor dále poukazuje na skutečnost, že hodnoty VLŘ a indexu kappa/lambda lze spolu s ostatními markery použít k olišení MM od MGUS.

Velmi zajímavé a inspirující jsou první výsledky získané stanovením koncentrací tzv.HevyLite,tj.párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinů.Tyto výsledky pilotní studie svědčí o možném významu Hevy/Lite pro přesnější stanovení koncentrace paraproteinu zejména jeho nízkých hodnot při hodnocení léčebné odpovědi.

Většina výsledků je v České republice prioritních a některé,např.zkušenosti s HevyLite mají i význam pro mezinárodní zveřejnění.

Zhodnocení práce po stránce formální

Doktorandská dizertační práce MUDr.Tomáše Piky je poměrně rozsáhlá (150 str.),je napsána dobrou češtinou.Sloh práce je kultivovaný,řazení myšlenek v textu je logické.Práce má obvyklé členění a nenašel jsem v ní formální chyby.O pečlivém seznámení s řešenou problematikou svědčí rozsáhlé písemnictví (240 citací). Literární zdroje jsou aktuální, vesměs z posledních 5 až 10 let.Použité statistické a laboratorní metody jsou adekvátní řešenému problému.Dílčí výsledky byly publikovány a předneseny na četných vědeckých setkáních.Přehled vlastních publikací autora je jak počtem,tak odbornou kvalitou důkazem

o publikačních schopnostech doktoranda a o splnění publikační aktivity požadované na uchazeči doktorského studia.

Dotazy oponenta

1. Jak vysvětlit občas negativní výsledky FLC při pozitivitě elektroforézy a imunofixace?

Závěr

Předložená dizertační práce jednoznačně prokazuje,že MUDr.Tomáš Pika je schopen řešit výzkumný problém na vysoké úrovni a zpracovat zajímavé a aktuální výzkumné klinicko-laboratorní tema za použití moderních analytických postupů.Proto doporučuji předloženou dizertační práci k obhajobě a po úspěšné obhajobě udělit MUDr.Tomáši Pikovi akademický titul doktor,ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb.

Prof. RNDr. Miloš Tichý, CSc.
Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice
Ústav klinické biochemie a diagnostiky
Sokolská tř. 581
500 05 Hradec Králové

V Hradci Králové 30.6.2011