



jednotlivé diagnostické jednotky a mají největší informativní přínos. Tyto kombinace byly následně vizualizovány pomocí datových sítí.

Poslední fází projektu byla vizualizace imunofenotypového profilu některých typů lymfomů pomocí datové sítě, kde byl každý případ umístěn na základě kombinace exprese všech analyzovaných znaků. Datové sítě ukázaly, že v rámci jednotlivých diagnóz lze nalézt jednotky, resp. podskupiny pacientů, s rozdílnými expresními profily.

Hodnocení disertační práce

Disertační práce je přehledně a srozumitelně uspořádána. Formální úprava i jazyková úroveň jsou v pořádku. Práce je napsána dobrou češtinou s minimem gramatických chyb či překlepů. Použité metody včetně statistických testů jsou adekvátní. Práce je doplněna bohatou a velmi zdařilou obrazovou dokumentací s popisem jednotlivých morfologických případů z archivu uchazeče.

Cíle práce, které si uchazeč stanovil, byly splněny a zasazeny do kontextu dostupných znalostí. Byl posouzen diagnostický význam jednotlivých antigenů, identifikovány informativní znaky a jejich kombinace, které umožňují spolehlivé odlišení jednotlivých CD5+ B-lymfomů, což umožnilo zpřesnění jejich diagnostiky. Využití matematických modelů optimalizuje hodnocení expresních profilů a zároveň nabízí možnost definování sofistikovaných rozhodovacích algoritmů.

Komentáře oponenta

1. V úvodu práce se zbytečně rozsáhle popisují obecně známé principy vyšetřovacích postupů a řada méně podstatných metodologických detailů.
2. Zastoupení některých histologických subtypů v testovaném souboru je velmi malé, což může negativně ovlivňovat validitu statistického hodnocení.
3. Výsledky předloženého výzkumu nebyly dosud publikovány *in extenso* a většina dostupných publikačních výstupů nesouvisí s tématem disertační práce. Před obhajobou musí být doložena publikace výsledků v recenzovaném časopise.

Dotazy oponenta na uchazeče

1. Jak byla prováděna standardizace průtokového cytometru, resp. zajištění identické pozice okna analýzy po celou dobu experimentu?
2. Použití relativních jednotek (MFI) pro vyjádření intenzity fluorescence je obtížně mezilaboratorně porovnatelné. Proč nebyly použity jiné jednotky, např. MESF, které jsou více vhodné pro porovnání kvantitativní dat v čase nebo mezi různými přístroji?
3. Jedním z cílů výzkumu bylo sestavení diagnostického panelu pro vyšetřování zralých B-lymfoidních neoplazií. Byl na základě výsledků výzkumu vstupně použitý panel modifikován?
4. Vizualizace imunofenotypizačních dat v datových sítích naznačila existenci podskupin pacientů s MCL event. CLL. Nalezli jste mezi těmito nemocnými nějaké jiné odlišné laboratorní nebo klinické charakteristiky, pokud byla taková analýza provedena?
5. Jaké konkrétní praktické využití mají matematické modely, které vyplynuly ze zpracování imunofenotypizačních dat? Jak byly tyto modely validovány?

Závěr oponenta

Jedná se o zdařilou disertační práci, která přes uvedené komentáře a dotazy splnila své cíle a přispěla k upřesnění možností laboratorní diagnostiky B-lymfomů. Uchazeč prokázal dostatečné teoretické a



Univerzita Karlova v Praze - Lékařská fakulta v Plzni

praktické znalosti problematiky a tvůrčí schopnosti, a proto doporučuji předloženou disertační práci k její obhajobě.

Disertační práce splnila stanovené podmínky, proto také doporučuji, aby na základě doložení publikačního výstupu, uspokojivého zodpovězení otázek oponentů a úspěšné obhajoby byl **MUDr. Davidu Starostkovi** udělen akademický titul PhD. podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.



Doc. MUDr. ^{uv} Daniel Lysák, PhD.
Hematologicko- onkologické oddělení
Fakultní nemocnice Plzeň

10.6.2017



OPONENTSKÝ POSUDEK

dizertační práce MUDr. Davida Starostky „Cytomorfologie a imunofenotyp zralých CD5-pozitivních B-lymfoidních neoplázií“.

Popis práce

Dizertační práce MUDr. Davida Starostky byla vypracována v doktorantském studijním programu Onkologie pod vedením prof. MUDr. Tomáše Papajíka, CSc. Rozsah práce (po odečtení úvodních stránek, obsahu, seznamu zkratk, vyobrazení a tabulek) činí 145 stran. Teoretický úvod zaměřený na přehled WHO klasifikace zralých B-lymfoidních neoplázií, základy metod cytomorfologie a imunofenotypizace a cytomorfologický obraz a imunofenotyp analyzovaných lymfoidních neoplázií tvoří z toho 44 stránek. Práce obsahuje 73 obrázků a 35 tabulek. Literární odkazy představují 133 citací, z toho 9 z domácích časopisů nebo monografií. Autor navíc cituje další 4 práce domácích autorů, které byly publikovány v zahraničních časopisech.

Cílem práce bylo podat komplexní a aktuální přehled o cytomorfologii a imunofenotypu zralých CD5-pozitivních B-lymfoidních neoplázií, sestavit vlastní diagnostický panel pro imunofenotypizaci B-lymfoidních neoplázií a analyzovat vlastní výsledky cytomorfologického a imunofenotypizačního vyšetření CD5-pozitivních B-lymfoidních neoplázií a zasadit je do známých údajů o imunocytologické diferenciální diagnostice těchto onemocnění.

Vyjádření k metodám a formálním aspektům práce

Autor sám vyhodnotil cytomorfologický obraz a imunofenotyp 233 vzorků odebraných od 197 pacientů se zralými B-lymfoidními neopláziemi exprimujícími antigen CD5. Jednalo se o 160 pacientů s chronickou lymfocytární leukémií případně lymfomem z malých lymfocytů, 20 pacientů s lymfomem plášťových buněk, 7 pacientů s lymfomem marginální zóny, 4 pacienty s difuzním velkobuněčným lymfomem a 6 pacientů, u nichž přesný typ lymfomu nebylo možno klasifikovat. Diagnóza byla stanovena ve všech případech podle standardně zavedených kritérií. Vzorky byly získány převážně z periferní krve, kostní dřeně nebo lymfatických uzlin. Cytomorfologická klasifikace vycházela z obvykle používaných variant převzatých z literatury. Pro imunofenotypizační vyšetření autor sestavil vlastní panel protilátek. Výsledky imunofenotypizace byly hodnoceny kvalitativně ale také kvantitativně, což si vynutilo rozsáhlou a nepochybně časově velmi náročnou statistickou analýzu dat s využitím multilineární diskriminační analýzy a převedení na síť s použitím algoritmu pro analýzu nejbližších sousedů s výpočtem podobnosti podle

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc

přednosta: doc. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.

tel.: +420 588 44 4305, fax: +420 585 428 102

e-mail: dana.bendova@fnol.cz

www.lf.upol.cz a www.fnol.cz



Gaussovy funkce. Výběr hodnocených parametrů a použité statistické metody plně vyhovovaly cílům práce.

Práce je napsaná precizně a pedantně s uvedením všech detailů v metodikách, popisu souboru a výsledků. Je patrna snaha o úplný výčet literárních odkazů, ať už v úvodu dizertační práce tak v diskusi, což dokumentuje autorovu výbornou orientaci v problematice. Jazyková úroveň práce je výborná, nepodařilo se mi objevit gramatické chyby nebo překlepy.

Výsledky a přínos práce

Autor ve své práci detailně popsal cytomorfologický obraz vybraných B-lymfoidních neoplázií, který podle jeho vlastních závěrů sice představuje důležitý, levný, rychlý a dostupný vyšetřovací nástroj, tento nicméně nepostačuje k jednoznačnému stanovení diagnózy vzhledem k možnosti podobné morfologie u různých diagnostických jednotek. Vyšetření imunofenotypu (zejména pokud je provedeno kvantitativně) umožňuje až na velmi malé výjimky přesnou diagnostiku. Analýza dat kvantitativní imunofenotypizace s využitím vizualizace pomocí sítí diagnostiku dále významně zpřesňuje. Autorem provedené analýzy by mohly posloužit po dalším ověření a úpravách jako jedno z východisk pro kompletně automatickou interpretaci výsledků kvantitativní imunofenotypizace.

Význam dizertace pro obor Onkologie

Výsledky autorovy práce představují v České republice ale i ve světovém písemnictví ojedinělý počín. Ve srovnání s jinými dříve publikovanými zahraničními studiemi je potřeba zdůraznit, že jde o soubor pacientů komplexně vyšetřený jediným expertem, což zvyšuje významně přesnost výsledků. Kvantifikace výsledků imunofenotypizace s využitím analýzy dat včetně datových sítí pak pravděpodobně představuje jeden z důležitých kroků k zavedení automatických expertních systémů pro interpretaci imunofenotypu.

Na autora mám následující otázky:

Po jakých stránkách je kvantitativní hodnocení imunofenotypu B-lymfoidních malignit náročnější ve srovnání s běžným kvantitativním hodnocením? Upravil jste na základě výsledků datových sítí kvantitativního hodnocení imunofenotypu svůj původní panel protilátek? Jaké jsou rozdíly mezi Vaším panelem a návrhem skupiny Euroflow?

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc

přednosta: doc. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.

tel.: +420 588 44 4305, fax: +420 585 428 102

e-mail: dana.bendova@fnol.cz

www.lf.upol.cz a www.fnol.cz



Lékařská fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci



Závěr:

MUDr. David Starostka ve své dizertační práci prokázal detailní znalost řešené problematiky a schopnost koncepční výzkumné práce. V práci se mu podařilo dosáhnout všech vytyčených cílů a rozšířit tak významně aktuální znalosti zejména o kvantitativní analýze výsledků imunofenotypizace B-lymfoidních neoplázií. Detailní popis a způsob hodnocení dosažených výsledků, formulace získaných závěrů i jejich obsáhlá diskuse svědčí v plné míře o odborné způsobilosti a vědecké zralosti autora.

Vzhledem k výše uvedenému doporučuji v souladu s ustanovením § 72 Zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb., aby dizertační práce MUDr. Davida Starostky byla předložena k obhajobě a při úspěšné obhajobě byla autorovi udělena vědecká hodnost Ph.D.

V Olomouci 12. června 2017.

Prof. I. P. Pavlova, CSc.
Hemato-onkologická klinika
Fakultní nemocnice v Olomouci
Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
I. P. Pavlova 6
CZ 775 20 Olomouc

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
přednosta: doc. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.
tel.: +420 588 44 4305, fax: +420 585 428 102
e-mail: dana.bendova@fnol.cz
www.lf.upol.cz a www.fnol.cz