



## Posudek oponenta habilitační práce

<b>Masarykova univerzita</b>	Lékařská
<b>Fakulta</b>	Onkologie
<b>Obor řízení</b>	
<b>Uchazeč</b>	<b><i>Mgr. Martin Trbušek, Ph.D.</i></b>
<b>Pracoviště uchazeče</b>	Interní hematologická a onkologická klinika LF MU Brno
<b>Habilitační práce (název)</b>	<i>Dopad rekurentních mutací na patogenezi a léčbu chronické lymfocytární leukémie</i>
<b>Oponent</b>	Prof. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.
<b>Pracoviště oponenta</b>	Hemato-onkologická klinika LF UP v Olomouci

### Text posudku

Spectabilis, vážený pane děkane,

Honorabilis, vážený pane předsedo habilitační komise,

k oponentuře mi byla předložena habilitační práce odborného asistenta Interní hematologické a onkologické kliniky LF MU Brno Mgr. Martina Trbuška, Ph.D. nazvaná „Dopad rekurentních mutací na patogenezi a léčbu chronické lymfocytární leukémie“.

Práce je členěna do 6 kapitol a na 168 stranách představuje úctyhodný komentovaný soubor 15 prací na zmíněnou problematiku, které kolega Trbušek publikoval v renomovaných mezinárodních periodících s vysokým IF (impact factor) dle databáze Thomson Reuters a Journal Citation Report v období let 2006 – 2015, a to především jako hlavní / korespondující autor nebo jako významný člen mezinárodního autorského kolektivu.

V kapitole „Základní patogeneze chronické lymfocytární leukémie“ autor fundovaně a detailně popisuje význam B-buněčného receptoru (BCR), roli mikroprostředí a vnitřních genetických defektů pro vznik a vývoj této neoplázie, respektive také pro její možné terapeutické ovlivnění. Kapitola svědčí o přehledu vyplývajícím z dlouhodobého zájmu Mgr. Trbuška o podstatu této choroby.

Kapitola „Prognostická a prediktivní stratifikace pacientů s komentářem ohledně vlastního výzkumného přínosu k této problematice“ je uvedena shrnujícím textem, po kterém se dále dělí na 3 oddíly.

První oddíl se zabývá analýzou mutací v genu *TP53* a jejich funkčním dopadem. K tomuto tématu je přiloženo 9 z celkově 18 vysoce kvalitních prací, na kterých se Mgr. Trbušek autorsky podílel. Z uvedených prací jednoznačně vyplývá, že u chronické lymfocytární leukémie (CLL) se nejčastěji vyskytuje genetická delece jedné alely v podobě chybění chromosomálního úseku 17p doprovázená bodovou mutací alely druhé. Často se však vyskytují samostatné mutace genu *TP53*, a to bez přítomnosti genetické změny del17p (cca ve 20 %). Nejčastějším typem alterací jsou záměnové mutace. Prognóza těchto nemocných je špatná, ale zdá se, že přece jen o něco příznivější než v prvním případě bíalelického defektu. Velmi cenným zjištěním je to, že nejhorší prognózu mají pacienti se záměnovými mutacemi *TP53* v tzv. DNA-vazebných motivech (DBMs). Dále aspirant dokládá, že konvenční terapie výrazně přispívá k selekci nových mutací v genu *TP53* u pacientů, kde mutace před léčbou přítomna nebyla, a také, že mutace *TP53* se vysoce pravděpodobně selektují současně s del11q, tedy se ztrátou jedné alely *ATM*. Recentní výsledky na poli výzkumu *TP53* se týkají minoritních subklonů CLL nesoucích mutace tohoto genu. Pomocí vysoce citlivé metody sekvenování nové generace (NGS) se daří prokazovat malé subklony choroby nesoucí mutaci *TP53* před zahájením léčby (0,2 – 3,7 % mutované DNA), která je patrná v období relapsu nemoci v podobě významného klonu detekovatelného standardním sekvenováním.

Druhý oddíl je zaměřen na analýzu mutací v genech *ATM* a *SF3B1* a jejich funkční dopad. Kapitola obsahuje 4 přílohy z 5 publikovaných prací aspiranta na toto téma. Práce autorského týmu kolem aspiranta prokázaly asociaci výskytu mutací genu *ATM* s přítomností konkrétních stereotypních motivů genu *IGHV* a podporují tak názor, že patogeneze CLL v sobě zahrnuje řadu interakcí mezi signalizací z BCR a přítomností specifických genových defektů.

Poslední oddíl se zabývá testováním látek s protinádorovým účinkem na buňkách CLL s charakterizovanými aberacemi. Ke komentáři jsou připojeny dvě práce aspiranta jako korespondujícího autora. V první z nich je experimenty doloženo, že samostatná del11q nevede k rezistenci buněk CLL na nukleosidový analog fludarabin. Druhá práce analyzuje *in vitro* citlivost buněk CLL s mutacemi v genech *TP53* a *ATM* na anti-CD20 protilátky rituximab a ofatumumab.

Habilitační spis ukončuje kapitola „Závěr“, kde Mgr. Trbušek jasně a výstižně shrnuje jak celý habilitační spis, tak i 14 let výzkumu, na kterém se spolu se svým týmem spolupracovníků podílel.

Poslední kapitoly obsahují „Seznam příloh“ a „Literaturu“.

**Habilitační práci Mgr. Martina Trbuška, Ph.D. hodnotím jednoznačně kladně a s velkým respektem.** Vzhledem k vysoké úrovni práce vynechám drobné připomínky a jen pro obohacení diskuze si dovoluji položit následující otázky.

1. Výsledky inhibitorů signalizace z BCR (BCRi) jsou i u pacientů s del17p či mutací *TP53* nadějně, přesto tato skupina pacientů má i při léčbě BCRi zřetelně horší prognózu než nemocní bez těchto změn. Lze tuto situaci vysvětlit selekcí a léčebnou rezistencí agresivního subklonu (podobně jako u imunochemoterapie) či jiným mechanismem?

2. V léčbě pacientů s del17p či mutací *TP53* dosahuje velmi dobrých výsledků inhibitor apoptózy (BH3 mimetikum) venetoclax. První studie naznačují, že tento lék lze i v klinických podmínkách kombinovat jak s anti-CD20 monoklonální protilátkou, tak také s ibrutinibem. Myslíte si, že u relabovaných / refrakterních pacientů s CLL s del17p či mutací *TP53* by současně podávaná trojkombinace zmíněných léků mohla mít zásadní efekt? Jsou pro takový efekt teoretické předpoklady?

**Předložená habilitační práce Mgr. Martina Trbuška, Ph.D. má celkově vynikající úroveň. Autor prokázal hlubokou znalost řešené problematiky a výborné předpoklady pro koncepční, systematickou vědeckou a výzkumnou práci, což dokládá úctyhodný soubor prací, který je jádrem habilitačního spisu. Ty přinášejí celou řadu nových a významných vědeckých poznatků v oboru Onkologie. Autor prokázal schopnost začlenění vlastních poznatků do rámce dosavadních znalostí v řešené problematice i harmonické propojení použitých diagnostických postupů s potřebami klinické praxe.**

Vzhledem k tomu, že předložený spis odpovídá nárokům kladeným na habilitační práci, doporučuji VR LF MU v souladu s ustanovením § 72 odstavce 3 zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů a podle Směrnice Masarykovy University 1/2016 „Habilitační řízení a řízení ke jmenování profesorem“, aby předložená habilitační práce byla přijata v předložené formě jako podklad pro habilitační řízení a na jejím základě byla odbornému asistentovi Mgr. Martinu Trbuškovi, Ph.D. udělena hodnost docenta v oboru Onkologie.

## Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

1. Výsledky inhibitorů signalizace z BCR (BCRi) jsou i u pacientů s del17p či mutací *TP53* nadějně, přesto tato skupina pacientů má i při léčbě BCRi zřetelně horší prognózu než nemocní bez těchto změn. Lze tuto situaci vysvětlit selekcí a léčebnou rezistencí agresivního subklonu (podobně jako u imunochemoterapie) či jiným mechanismem?

2. V léčbě pacientů s del17p či mutací *TP53* dosahuje velmi dobrých výsledků inhibitor apoptózy (BH3 mimetikum) venetoclax. První studie naznačují, že tento lék lze i v klinických podmínkách kombinovat jak s anti-CD20 monoklonální protilátkou, tak také s ibrutinibem. Myslíte si, že u relabovaných / refrakterních pacientů s CLL s del17p či mutací *TP53* by současně podávaná trojkombinace zmíněných léků mohla mít zásadní efekt? Jsou pro takový efekt teoretické předpoklady?

## Závěr

Habilitační práce Mgr. Martina Trbuška, Ph.D. “Dopad rekurentních mutací na patogenezi a léčbu chronické lymfocytární leukemie” **splňuje** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Onkologie.

V Olomouci dne 22. 12. 2016