

## Cena předsednictva ČLS JEP za vědecké práce za rok 2017

udělena členům České hematologické společnosti ČLS JEP:

**Prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.**, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno a Centrum molekulární medicíny CEITEC MU

**prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.**, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno a Centrum molekulární medicíny CEITEC MU

předkladatelé za kolektiv studentů - doktorandů a post-doktorandů (B. Kubešové, K. Brázdilové, B. Kantorové, H. Plešingerové, E. Vávrové, J. Malčíkové, Š. Pavlové, K. Plevové a dalších)

### **Soubor 9 prací na téma: Studium genetických změn u hematoonkologických onemocnění a jejich význam pro stanovení prognózy a volbu terapie**

Všechny uvedené práce byly publikovány nebo přijaty k publikaci v mezinárodních impaktovaných časopisech v roce 2017.

**Souhrnný impakt faktor předloženého souboru publikací: 64,177**

- 1) Kubešová B., Pavlová Š., Malčíková J., Kabáthová J., Radová L., Tom N., Tichý B., Plevová K., Kantorová B., Fiedorová K., Sláviková M., Bystrý V., Kissová J., Gisslinger B., Gisslinger H., Penka M., Mayer J., Kralovics R., **Pospíšilová Š., Doubek M.**: Low-burden TP53 mutations in chronic phase of myeloproliferative neoplasms: association with age, hydroxyurea administration, disease type and JAK2 mutational status. **Leukemia**; 32(2) (2018): 450-461, online publication 15 August 2017. IF=11,702
- 2) Brázdilová K., Plevová K., Skuhrová Francová H., Kočková H., Borský M., Bikos V., Malčíková J., Oltová A., Kotašková J., Tichý B., Brychtová Y., Mayer J., **Doubek M., Pospíšilová Š.**: Multiple productive IGH rearrangements denote oligoclonality even in immunophenotypically monoclonal CLL. **Leukemia**; 32(1) (2018): 234-236, online publication 22 September 2017. IF=11,702
- 3) Kantorová B., Malčíková J., Brázdilová K., Borský M., Plevová K., Šmardová J., Radová L., Tom N., Trbušek M., Divíšková E., Skuhrová Francová H., Navrkalová V., **Doubek M., Brychtová Y., Mayer J., Pospíšilová Š.**: Single cell analysis revealed a coexistence of NOTCH1 and TP53 mutations within the same cancer cells in chronic lymphocytic leukaemia patients. **British Journal of Haematology** (2017); 178(6): 979-982. IF=5,67

- 4) Plešingerová H., Librová Z., Plevová K., Libra A., Tichý B., Skuhrová Francová H., Vrbacký F., Smolej L., Mayer J., Bryja V., **Doubek M., Pospíšilová Š.**: COBLL1, LPL and ZAP70 expression defines prognostic subgroups of chronic lymphocytic leukemia patients with high accuracy and correlates with IGHV mutational status. **Leukemia and Lymphoma** (2017); 58(1):70-79. IF=2,755
- 5) Vávrová E., Kantorová B., Vonková B., Kabáthová J., Skuhrová Francová H., Divišková E., Letocha O., Kotašková J., Brychtová Y., **Doubek M., Mayer J., Pospíšilová Š.**: Fragment analysis represents a suitable approach for the detection of hotspot c.7541\_7542delCT NOTCH1 mutation in chronic lymphocytic leukemia. **Leukemia Research** (2017); 60:145-150. IF=2,501
- 6) Plešingerová H., Janovská P., Mishra A., Smyčková L., Poppová L., Libra A., Plevová K., Ovesná P., Radová L., **Doubek M., Pavlová Š., Pospíšilová Š., Bryja V.**: Expression of COBLL1 encoding novel ROR1 binding partner is robust predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. **Haematologica** (2018); 103(2):313-324, online publication 9 November 2017. IF=7,702
- 7) Malčíková J., Tausch E., Rossi D., Sutton LA., Soussi T., Zenz T., Kater AP., Niemann CU., Gonzalez D., Davi F., Gonzalez Diaz M., Moreno C., Gaidano G., Stamatopoulos K., Rosenquist R., Stilgenbauer S., Ghia P., **Pospíšilová Š.**: ERIC Recommendations for TP53 Mutation Analysis in Chronic Lymphocytic Leukemia – Update on Methodological Approaches and Results Interpretation. **Leukemia**; 32(5) (2018): 1070-1080, Accepted 8 December 2017. IF=11,702
- 8) Rodríguez-Vicente AE., Bikos V., Hernández-Sánchez M., Malčíková J., Hernández-Rivas JM., **Pospíšilová Š.**: Next-generation sequencing in chronic lymphocytic leukemia: recent findings and new horizons. **Oncotarget** (2017); 8(41):71234-71248. IF=5,168
- 9) Delgado J., **Doubek M.,** Baumann T., Kotašková J., Molica S., Mozas P., Rivas-Delgado A., Morabito F., **Pospíšilová Š.,** Montserrat E.: Chronic lymphocytic leukemia: A prognostic model comprising only two biomarkers (IGHV mutational status and FISH cytogenetics) separates patients with different outcome and simplifies the CLL-IPI. **American Journal of Hematology** (2017); 92(4):375-380. IF=5,275

### **Zdůvodnění:**

Do soutěže o Cenu předsednictva ČLS JEP za rok 2017 byl přihlášen **soubor 9 prací**, které byly v roce 2017 publikovány v tištěné nebo elektronické formě v klíčových hematologických časopisech, jako např. *Leukemia* (IF=11,702), *Haematologica* (IF=7,702), *British Journal of Haematology* (IF=5,670), *American Journal of Hematology* (IF 5,275) a dalších. Všechny tyto publikace byly vypracovány dominantně na pracovišti v ČR – na Interní hematologické a onkologické klinice LF MU a FN Brno a v Centru molekulární medicíny CEITEC MU.

Zaměřili jsme se v nich na **studium klonální evoluce u chronické lymfocytární leukémie (CLL) a Ph-negativních myeloproliferativních neoplázií (MPN)** s využitím analýz prognosticky významných genetických markerů onemocnění. Za velmi významné lze považovat také publikování **mezinárodních doporučení pro analýzy mutací v TP53 genu u chronické lymfocytární leukémie**, jejichž vznik byl koordinován z ČR (první i korespondující autor těchto Evropských doporučení je z Interní hematologické a onkologické kliniky LF MU a FN Brno – viz

publikace č. 7). Velký význam pro stanovení prognózy CLL má také publikování **nového prognostického modelu** založeném na analýze 2 biomarkerů, který byl vyvinut v rámci spolupráce hematologických klinik a Barceloně a v Brně – viz publikace č. 9.

---

### **Stručný popis získaných výsledků:**

Uvedený soubor 9 prací publikovaných v roce 2017 přináší jak významné poznatky o patologii a klonální evoluci hematologických malignit, tak popisuje konkrétní metodiky vhodné pro analýzy nejvýznamnějších prognostických a prediktivních markerů v klinické praxi.

U pacientů s myeloproliferativními neopláziemi jsme se zaměřili na detekci klonální evoluce nádoru za pomoci analýz minoritních klonů s mutovaným genem *TP53* (**Kubešová et al., Leukemia**). Vztahovali jsme jejich přítomnost ke klinickým parametrům, především k předchozí terapii cytoreduktivními látkami, a sledovali jsme klonální vývoj v čase. Výskyt a expanze klonů s *TP53* mutacemi byly dříve popsány v souvislosti s transformací MPN do sekundární akutní myeloidní leukémie (sAML). Jako nejsilnější faktor ovlivňující výskyt mutací genu *TP53* se ukázal věk pacientů a nebyla nalezena žádná na věku nezávislá asociace mezi výskytem mutací a předchozí terapií. Sledování klonů v čase ukázalo, že mutace mohou u pacientů perzistovat v malých klonech po mnoho let bez přímého rizika transformace.

V případě CLL jsme se zaměřili na klonální heterogenitu leukemické populace, a to jak na úrovni imunoglobulinových přestaveb (**Brázdilová et al., Leukemia**), tak na úrovni defektů v genech spojených s prognózou CLL (**Kantorová et al., British J. Haematology**). Detekce více imunoglobulinových přestaveb u CLL, onemocnění považovaného za zpravidla monoklonální, může komplikovat zařazení pacienta do prognostické kategorie s mutovaným, nebo nemutovaným IGHV. V práci publikované v časopise *Leukemia* (2) jsme prokázali na úrovni jednotlivých buněk (tzv. „single cell analýzami“), že více imunoglobulinových přestaveb zachycených u CLL pacientů identifikuje expanzi více B-buněčných klonů. V práci jsme také stanovili dopad tohoto jevu na prognózu onemocnění a poukázali na možné společné faktory ovlivňující klony během jejich selekce.

V práci publikované v časopise *British Journal of Haematology* (3) jsme se zabývali studiem CLL pacientů nesoucích souběžné mutace v prognosticky významných genech *TP53* a *NOTCH1*. Pomocí sekvenačních studií a analýzy jednotlivých buněk jsme u těchto pacientů prokázali častou koexistenci *NOTCH1* a *TP53* mutací ve stejných nádorových buňkách, ale také samostatný výskyt těchto aberací. Podrobnou analýzou případů s vícečetnými mutacemi jsme poukázali na změny v klonálním zastoupení mutovaných buněk v průběhu onemocnění po podání léčby.

Práce **Plešingerová et al.** publikovaná v časopise **Leukemia and Lymphoma** popisuje novou metodiku stanovení prognózy chronické lymfocytární leukémie, na základě analýz genové

exprese vybraných genů (COBLL1, LPL a ZAP70). Srovnáním metodik pro stanovení mutací v genu NOTCH1, který má u CLL velký prognostický potenciál, se zabývá práce pregraduální studentky LF MU **E. Vávrové et al.**, publikovaná v časopise **Leukemia Research**.

Definováním nových prognostických faktorů u CLL se zabývá i další práce **H. Plešingerové** publikovaná v časopise **Haematologica**. Práce nově identifikovala význam genu COBLL1, který je součástí tzv. nekanonické WNT dráhy a interaguje s povrchovým receptorem B-lymfocytů ROR1, novým cílem potenciálních terapií B-buněčných malignit. Míra exprese genu COBLL1 byla prokázána jako významný prediktor délky přežití pacientů s CLL.

**Mezinárodní doporučení ERIC**, jejichž formulace byla koordinována Š. Pospíšilovou a J. Malčíkovou (**Malčíková et al., Leukemia**) mají zásadní význam pro stanovení prognózy CLL a predikci odpovědi na léčbu. Analýzy genu *TP53* musí být na základě získaných výsledků prováděny vždy před první terapií a následně i před každou další terapií CLL pacientů a jejich výsledek ovlivní volbu terapeutického režimu. Jde tedy o klíčovou publikaci relevantní pro všechna hematologická pracoviště zabývající se léčbou chronické lymfocytární leukémie.

Přehledný článek **Rodriguez-Vicente** publikovaný v časopise **Oncotarget** se věnuje možnostem využití DNA sekvenování nové generace z CLL a byl vypracován společně se španělskými kolegy z University v Salamance (v rámci společného IMI2 H2020 projektu). Technologie sekvenování nové generace jsou nyní úspěšně využívány jak pro analýzy celých genomů a exomů onkologických pacientů, tak pro analýzu jednotlivých genů s velmi vysokou senzitivitou, např. antionkogenu TP53 – viz výše.

V publikace **Delgado et al., American Journal of Hematology**, byl definován nový prognostický model chronické lymfocytární leukémie založený pouze na stanovení dvou základních biomarkerů, který rozděluje pacienty do 3 prognostických skupin a už začal být využíván v klinické diagnostice.