

Oponentský posudek disertační práce

Kvantitativní detekce exprese genu *WT1*: prognostický význam a sledování reziduální nemoci u dětských hematologických onemocnění

Autor: RNDr. Markéta Kalinová

Oponent: Doc. RNDr. Jaroslav Mareš, CSc., Ústav biologie a lékařské genetiky UK II. LF, Praha

Téma disertační práce RNDr. Markéty Kalinové „Kvantitativní detekce exprese genu *WT1*: prognostický význam a sledování reziduální nemoci u dětských hematologických onemocnění“ se soustřeďuje na diferenciální diagnostiku a prognostiku exprese genu *WT1* u dětských hematologických onemocnění.

Předložená česky psaná disertační práce je souhrnem výsledků pěti původních vědeckých prací, kde byla kandidátka dvakrát prvním autorem, dvakrát druhým a jednou pátým spoluautorem. Tři články byly publikovány v renomovaných mezinárodních časopisech a jedna práce byla zaslána do Brit. J. Haematol. Soubor prací vytváří celek logicky propojený klinickým přístupem. V předložené disertaci hodnotím kladně úvodní část, která představuje zasvěcený přehled hematologických onemocnění dětského věku. Tato část by mohla sloužit jako základ přehledného článku. Kapitola zabývající se metodami ukazuje, že autorka perfektně zvládla moderní metody hodnocení genové exprese. Ve všech případech studia exprese *WT1* a jejího prognostického významu byla volba metody adekvátní testovaným hypotézám. Další kapitola shrnuje výsledky všech publikací uvedených v příloze. I když se ukazuje, že v diagnostice dětských nádorových onemocnění má exprese genu *WT1* pravděpodobně s výjimkou akutní myeloidní leukémie jen omezený význam, získala RNDr. Kalinová se spolupracovníky některé zajímavé výsledky. Autorka se spolupracovníky zjistila signifikantně horší prognózu u dětských pacientů s ALL s extrémně zvýšenou nebo naopak s minimální expresí *WT1*. U dětí s AML byla signifikantně lepší prognóza při hladině exprese menší než 100 kopií *WT1*. Při srovnání exprese u pacientů s aplastickou anémií a s MDS typu refrakterní anémie byl nalezen rovněž signifikantní rozdíl. I přes malý soubor pacientů se zdá, že exprese *WT1* může mít prognostický význam. V případě onemocnění ALCL jde o první publikovanou práci, popisující detekci reziduální nemoci u pacientů s lymfomy. Studie RNDr.

Kalinové tedy z části pomohla objasnit některé kontroverzní výsledky týkající se diagnostického hodnocení a prognostického využití exprese genu *WT1*.

Po stránce formální je práce zpracována na dobré úrovni. Vytknout lze použití anglického popisu obrázku na str. 8. Kromě toho autorka používá některé anglismy (amino konec, WAGR syndrom, Denis-Drash syndrom, G1/S progresse) především při popisu genu *WT1*, i když někdy u téhož výrazu volí správný ekvivalent. Na druhé straně z pohledu genetika musím konstatovat, že autorka jinak používá vzorné pojmenování syndromů. Dizertace je přehledně a logicky členěna a představuje ucelenou výzkumnou studii. K dobré orientaci v odborně náročném textu pomáhá seznam použitých zkratk, kde doporučuji, pokud je to možné, používat české ekvivalenty vedle anglických termínů, od nichž je zkratka odvozena. Ve vlastní tématice a věcném obsahu nemá práce zásadní slabiny, které by bylo třeba vytknout; a získané výsledky jsou hodnotné. Svědčí to o velmi dobrém vedení školitelem a o odborných kvalitách řešitelského teamu. Proto mám kromě několika málo věcných otázek pouze formální připomínky:

- 1) na str. 10 jde patrně o imanitib mesylát,
- 2) názvy enzymů v češtině jsou jednoslovné str. 16, 17 atd.,
- 3) na str. 16 je kináza, -y f.,
- 4) pro výraz housekeepingový máme i český termín provozní,
- 5) v popisu obrázků doporučuji uvádět důslednější popis os (str. 27-29, 31-34),
- 6) přimlouvám se za doporučovaný způsob psaní zkratk genů a proteinů u prokaryot, obratlovců a člověka, tj. zkratky lidských genů se doporučují psát podle konvence velkými písmeny kurzívou, zatímco zkratky proteinových produktů velkými písmeny normálního písma, podobně se rozlišují i zkratky genů a proteinů nižších organismů, měly by se však psát malými písmeny,
- 7) českým ekvivalentem pro německé Tuebingen jsou Tubinky,
- 8) výraz „mutace v genu *WT1* typu bodových mutací“ na str. 6 bych nahradil výrazem „bodové mutace v genu *WT1*“,
- 9) citace 13. není úplná.

Zmíněné otázky jsou následující:

- 1) Výběr srovnávacího provozního genu jste celkem velmi dobře zdůvodnila, přesto se ptám, jestli jste sledovala expresní stabilitu Vámi zvoleného provozního genu.
- 2) Jak lze vysvětlit absenci transkriptu vyšetřovaného pomocí RQ-RT-PCR v případech, kdy byl detekován protein *WT1* u akutních leukémií?

Kandidátcin pohled na moderní přístupy používané v moderní diagnostice při studiu exprese genu *WT1* jako prognostického faktoru je komplexní a fundovaný, je doložen kvalitními výsledky vlastního výzkumu a má prokazatelně klinický význam. Celkově lze disertační práci hodnotit pozitivně jako užitečný příspěvek, poskytující souborný pohled na problematiku prognostických faktorů dětských hematologických malignit. Předloženou disertační práci i přes formální připomínky považuji za kvalitní a její výsledky za originální. RNDr. Markéta Kalinová prokázala schopnost samostatné vědecké práce, a proto doporučuji, aby práce byla přijata jako podklad pro dizertační řízení a jmenování RNDr. Markéty Kalinové PhD.

V Praze 5. října 2007.

Doc.RNDr. Jaroslav Mareš, CSc.
jaroslav.mares@lfmotol.cuni.cz