

Oponentský posudek

Disertační práce **Mgr. Tatiány Burjanivové „Etiológia dětských akutních leukémií“** se věnuje poznání etiologie akutních dětských leukémií, které jsou charakteristické svou heterogenní povahou s různým terapeutickým dopadem. Mechanismus leukemogeneze se na genetické úrovni dnes vykládá pomocí vícezásahového modelu. Je prokázáno, že některé typy leukémií mohou být iniciovány již v průběhu intrauterinního života s klíčovou rolí tzv. preleukemických buněk. K jejich studiu lze využít archivovaný genetický materiál, nejčastěji ve formě Guthrieho kartiček (metoda tzv. leukaemia backtrackingu). Guthrieho kartičky jsou odebírány za jiným účelem u každého novorozence a uchovávány po dobu až 10 let. Sofistikovanými metodami z nich lze izolovat DNA, která se používá pro průkaz preleukemických klonů. Tato metoda se s velkou většinou případů využívá zejména na studium leukemogeneze kojeneckých leukémií, které mají významně horší prognózu.

Disertační práce je rozdělena do dvou hlavních částí. V první autorka v krátkém úvodu sumarizuje recentní poznatky o dětské myeloidní leukémií, etiologii a prenatálním původu leukémie a o sekundární leukémií. V samostatných částech se věnuje backtrackingu sekundárních leukémií a stručně charakterizuje jednotlivé studované znaky (tandemovou duplikaci genu FLT3, translokaci AML/ETO, fúzní gen CBFbeta/MYH11, translokaci MPL/RARalfa a přestavby genu MLL).

Ve druhé části disertační práce popisuje cíle, metodiku práce a prezentuje dosažené výsledky a své závěry. Součástí disertačního spisu je i 198 dobře vybraných literárních odkazů a stručně uvádí i své vědecké výsledky formou přednášek, posterů, publikovaných abstrakt v časopisech s IF a publikace v českém a světovém písemnictví. Vysoká úroveň dosažených výsledků je doložena publikací v BMC Cancer a jeden připravený rukopis k publikaci rovněž do impaktovaného časopisu.

Cíle práce jsou charakterizovány velmi aktuálně, ve své práci si snaží vyhledat klonální znak pro leukemické buňky u dětských pacientů s ALL a AML starších 1 rok v čase diagnózy onemocnění. Dále navrhnout pacient-specifické primery pro jednotlivé znaky a optimalizovat PCR systémy s dostatečnou citlivostí, tak aby bylo možné zachytit minimum buněk na Guthrieho kartičkách. Třetím cílem autorky byl analyzovat Guthrieho karty od pacientů s AL a pokusit se detekovat na DNA úrovni specifické leukemické změny. V druhé části výtýčených cílů si klade autorka disertační práce vyhledat klonální změny pro leukemické buňky pacientky s primární diagnózou AML a následnou diagnózou sekundární ALL leukémie. Rozhodla se analyzovat vzorky v různých časových intervalech (bodech) před nástupem diagnózy sekundární leukémie a odhalit přítomnost jednotlivých znaků a objasnit dynamiku a postoupnost událostí před diagnózou sekundární leukémie. Autorka vyšetřila vzorky KD odebrané při diagnóze/relapsu u 13 dětských pacientů s diagnózou AML a u 12 dětí s diagnózou ALL. K detekci přestaveb Ig, TCR genů, FLT3/ITD i fuzního genu MLL genů byly použity různé systémy PCR, FISH a SNP array. Výsledky disertační práce jsou přehledně uvedeny ve dvou tabulkách. U 12 ALL pacientů se podařilo metodou heteroduplexní analýzy najít 15 Ig/TCR přestaveb. Pro jednotlivé přestavby byly navrženy klonálně specifické primery. Pro TEL/AML1 pozitivní pacienty byly navrženy primery na detekci fuzního genu TEL/AML1 na DNA úrovni. Pro analýzu z Guthrieho kartiček u 26 pacientů s AML se podařilo sehnat až 75% z nich. Úspěšnost detekce zlomových míst na DNA úrovni byla velmi vysoká. CBFbeta/MYH11, PML/RARalfa a MLL přestavby byly identifikovány všechny. U pacientů s AML/ETO fuzním genem se podařilo úspěšně analyzovat jen dvakrát. U třech pacientů

s ALL byly znaky leukemických buněk detekovány aj z Guthrieho kartiček. Celkově byl prenatální původ potvrzen u 25% pacientů s ALL. U pacientů s AML nebyly preleukemické buňky na Guthrieho kartičkách nalezeny. Výsledky dosaženy u pacientů s ALL byly srovnatelné s publikovanými kasuistickým případy. U pacientů s AML je detekce prenatálních leukemických buněk pro nepřítomnost specifického markeru daleko obtížnější. Velký význam předložené práce vidím zejména v doplnění již publikovaných případů, vědecký tým vedený MUDr. Zunou, Ph.D. patří mezi několik světových center, které se výše uvedené problematice systematicky věnují. Každá nová kasuistika, která buď potvrdí nebo doplní stávající vědomosti má svou nenahraditelnou hodnotu a může přispět k dalšímu posunu znalostí o prenatálním původu dětské leukémie.

Předloženou disertační práci považuji z mnoha hledisek za velmi přínosnou, jak z metodického, technologického tak medicínského hlediska. Mnohé dosažené výsledky jsou prioritní a velmi významně rozšířily stávající poznání mechanismů leukemogeneze. Pro disertantku mám následující otázky:

1. Všeobecně je přijímaná tzv. infekční teorie vzniku akutní leukémie u dětí. Může nízký věk matky a délka kojení ovlivnit riziko akutní leukémie u dětí?
2. Jak můžeme využít nedávno publikovanou adrenální hypotézu Kjelda Schmiegelowa, která doplňuje a rozšiřuje pozorování Alexandra Kinlena a Mel Greavesa?
2. Byla již vaše hypotéza o možnosti lokalizace genu pro maligní transformaci preleukemického klonu v oblasti dlouhého raménka 19. chromozomu potvrzena i jinými autory.

Výše uvedené problematice se autorka věnuje systematicky delší dobu. Výsledky disertační práce splnily vytýčené cíle a v mnoha směrech doplnily dnešní poznání této problematiky. Předložená práce je velkým přínosem pro dětskou onkohematologii a s velkou pravděpodobností i dalším východiskem pro pokračování mezinárodní spolupráce.

Závěr: Předložená práce splňuje všechna kritéria, která jsou kladena pro vědeckou disertační práci k dosažení vědeckého titulu Ph.D.

V Olomouci 11. ledna 2009

prof. MUDr. Vladimír Mihál, CSc.
Dětská klinika LFUP a FN v Olomouci