

Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.
Oddělení molekulární genetiky
Email: katerina.machova@uhkt.cz
Tel.: 221 977 181

**Oponentský posudek na disertační práci
MUDr. Markéty Žaliové**

**„Fúzní geny TEL/AML1, BCR/ABL a TEL/ABL
u dětských akutních lymfoblastických leukémií“**

Předložená doktorská disertační práce řeší velice aktuální problematiku týkající se biologických a klinických aspektů fúzních genů TEL/AML1, BCR/ABL a TEL/ABL dětských BCP-ALL, přičemž nejvíce práce bylo věnováno TEL/AML1 pozitivním leukémiím. Autorka si osvojila a použila široké spektrum molekulárně biologických nástrojů, pomocí kterých dosáhla řadu originálních výsledků. Disertační práce obsahuje poznatky z pohledu teoretického, metodického i z pohledu praktického uplatnění výsledků pro klinickou praxi.

Práce je členěna do 7 kapitol, přičemž nejobsáhlejší kapitolu tvoří 6 přiložených původních prací. Úvodní kapitola shrnuje dosavadní informace o akutní lymfoblastické leukémii u dětí se zaměřením na heterogenitu onemocnění, etiopatogenezi a terapii ALL a minimální reziduální nemoc. Další 3 podkapitoly úvodu detailněji rozebírají všechny 3 fúzní geny, rovněž jsou popsány dosavadní poznatky o fyziologických formách genů. Úvod disertace, který zahrnuje rešeršní práci bezmála 394 publikací, je zpracována a psána v nadstandardní kvalitě na úrovni skript či odborné monografie. Tato část by mohla okamžitě posloužit jako studijní materiál pro studenty a odbornou veřejnost. Kapitola cíle a výsledky velmi vhodně a přehledně představuje zaměření a obsah přiložených původních prací. Ty sestávají ze 3 původních prací, které byly publikovány v prestižních odborných zahraničních časopisech (2x Leukemia IF 8,63; 1x Clin Cancer Res IF 6,25), přičemž v jednom případě je doktorandka první autorkou a ve dvou je spoluautorkou. Tři další původní práce jsou v současné době v recenzním řízení. Ve dvou případech je doktorandka první autorkou a v jednom je společně s jejím kolegou hlavní autorkou. Výsledky prezentované v tomto souboru jsou velmi cenné, pokrývají všechny vytyčené cíle disertační práce a svědčí o značné vědecké erudici autorky disertace. Jsem přesvědčena o úspěšném publikování původních prací, které v současnosti podléhají oponentnímu řízení. V původní práci popisující klinický dopad TEL/AML1 fúzního genu bez přítomnosti exonu 5 v genu TEL „TEL/AML1-positive patients lacking TEL exon 5 resemble canonical TEL/AML1 cases: central region of TEL is not essential for TEL/AML1 driven leukemogenesis“, chybí Tabulka č. 1, na kterou autorka odkazuje klinické charakteristiky 2 pacientů s TEL/AML1 s chybějícím exonem 5 v genu TEL. Bylo by vhodné, kdyby disertační práce byla obohacena o suplementární obrázky 1-5, které jsou k dispozici pouze v on-line verzi k již publikovanému článku, který popisuje vysokou hladinu miR-125b-2 zjištěnou u dětských TEL/AML1 leukémií „Hsa-mir-125b-2 is highly expressed in childhood ETV6/RUNX1 (TEL/AML1) leukemias and confers survival advantage to growth inhibitory signals independent of p53“. Pro úplné posouzení práce disertantky, dopadu a zhodnocení její práce by bylo vhodné uvést její podíl na dosažených publikovaných výsledcích u dvou publikovaných prací, kde je uvedena jako spoluautorka. Kapitola diskuze a závěr velice přehledně, stručně a jasně popisuje dosažené výsledky,

příčemž zásadní výstupy jsou relevantně diskutovány s dosavadními poznatky publikovanými jinými autorskými kolektivy. Oceňuji přehled všech publikovaných původních prací a původních článků v recenzním řízení, seznam publikovaných abstrakt a přehled 6 přednášek, které shrnuje kapitola 5. Pro rychlou orientaci, je disertační práce obohacena o seznam použitých zkratk. Seznam použité literatury čítá 397 položek.

Novým vědeckým poznatkem, kterým autorka přispěla na poli TEL/AML1 pozitivních leukémií u dětí, je zjištění, že funkce tohoto fúzního genu je již v definitivních leukemických buňkách nejspíše postradatelná. Autorka rovněž svou prací rozpoutala diskuzi na téma postradatelnosti centrální oblasti hybridního proteinu TEL/AML1, která je kódovaná exonem 5 v genu TEL. Autorka popisuje, že fenotyp TEL/AML1 pozitivních leukémií není absencí této domény změněn. Pro klinickou praxi bych vyzdvihla práci na případech s TEL/ABL pozitivní ALL, která představuje onemocnění se špatnou prognózou obdobně jako BCR/ABL pozitivní ALL. Souhlasím s autorkou, že u TEL/ABL pozitivních ALL je předpoklad úspěšné aplikace terapie inhibitory tyrozinových kináz. Do klinické praxe je možné ihned implementovat poznatky z práce, ve které autorka poukazuje na význam monitorování hladiny BCR/ABL transkriptu vedle měření hladiny Ig/TCR u BCR/ABL pozitivních ALL.

Na doktorandku mám následující dotazy:

1) Mutace v kinázové doméně ABL fúzního genu BCR/ABL představují u chronické myeloidní leukémie (CML) a u Ph⁺ leukémií významný mechanismus rezistence vůči léčbě TKI. Byli pacienti s přestavbou TEL/ABL, u kterých byla aplikována léčba imatinibem a u nichž léčba selhala, vyšetřeni na přítomnost mutací v kinázové doméně ABL fúzního genu TEL/ABL?

2) Autorka velmi dobře hypotetizuje biologickou podstatu pozorované diskrepance měření MRN u pacientů s BCR/ABL pozitivní ALL pomocí měření hladiny BCR/ABL na úrovni mRNA a pomocí měření hladiny Ig/TCR na úrovni DNA.

U pacientů s CML byly detekovány unikátní body zlomu v intronech fúzního genu BCR/ABL (gBCR/ABL). Byly popsány případy, kdy byla detekována hladina BCR-ABL transkriptu, ale vyšetření na úrovni DNA bylo negativní. Byla vznesena hypotéza, že pozitivita na úrovni mRNA nemusí mít vždy souvislost s onemocněním. Autoři této hypotézy se odkazují na dřívější práce, které popisují pozitivní nálezy BCR/ABL transkriptu u zdravé populace. Co si autorka myslí o této hypotéze a zda by zvažovala identifikovat a kvantitativně měřit gBCR/ABL u dětských pacientů s BCR/ABL+ ALL.

3) Zajímá mě názor autorky na sekvenování celého genomu či transkriptomu jedince - pacienta. Jakou budoucnost zde vidí v oblasti dětské ALL?

Autorka předložené disertační práce výrazně prokázala schopnost samostatné vědecké práce, práce s literaturou a interpretace získaných dat. Předložená práce splňuje všechny požadavky a dokumentuje vysokou kvalitu dosažených výsledků.

Práci doporučuji k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení doporučuji udělit MUDr. Markétě Zaliové akademický titul „Doktor“.

V Praze dne 14.6.2010

Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.