

Posudek na doktorskou disertační práci MUDr. Evy Froňkové

Detekce přestaveb genů pro imunoreceptory u akutní lymfoblastické leukemie a u zdravých buněk.

Disertační práce Dr. Froňkové shrnuje výsledky několika studií z nichž tři byly publikovány v mezinárodních časopisech s impakt faktorem (Journal of Immunology, Leukemia a Leukemia Research). Téma předkládané práce je aktuální a zajímavé. Specifické cíle jsou rozděleny do dvou oddílů. První část je zaměřena na zavedení a využití kvantitativního PCR (RQ-PCR) pro detekci klonálních přestaveb genů pro imunoglobuliny (Ig) a T-buněčné receptory (TCR) k monitorování minimální reziduální nemoci (MRN) u pacientů s ALL a porovnání této metody s jinými systémy monitorování MRN. Ve druhé části autorka předkládá studii klonálních přestaveb genů pro Ig a TCR v buňkách periferní krve rozdělených na základě liniově specifických znaků.

Teoretický úvod je důkazem toho, že autorka je s problematikou dobře seznámena. Koncise shrnuje dosavadní poznatky o ALL v dětském věku, metodách detekce MRN a mechanismech přestavby Ig a TCR. Zřetelně jsou zdůrazněny otázky, které nejsou dosud vyřešeny.

Dr. Froňková používá ve své práci moderní laboratorní metody a adekvátní postupy. Metodická část je dobře zpracovaná i když zde podle mého mínění chybí některé informace, např. metody statistického zpracování dat, které lze ovšem dohledat v příložených člancích.

Dr. Froňková dosáhla několika významných výsledků. Za nejvýznamější pokládám identifikaci přestaveb TCR-delta genů v buňkách lymfoidního původu (T, B a NK buňky) na rozdíl od buněk myeloidního původu (monocyty, granulocyty) u kterých nedochází k přestavbě TCR-delta genů. Tento výsledek ukazuje, že u NK buněk dochází k TCR-delta rekombinaci stejně jako u T a B lymfocytů a nepřímo podporuje teorii existence společného lymfoidního progenitoru.

K práci nemám zásadní kritické připomínky, musím však konstatovat, že v úvodu do problematiky str. 13. autorka definuje MRN jako „...subklinická úroveň leukémie, kdy v průběhu terapie již maligní buňky nejsou detekovatelné v periférii běžnými cytologickými metodami a jejich zastoupení v kostní dřeni je nižší než 5%“. Předpokládám, že se jedná o neobratný překlad slova „blast“, tj. obecné označení pro některé nezralé buňky, které jsou běžně detekovatelné v kostní dřeni zdravých jedinců. Dále bych v práci uvítal přehlednější znázornění klinických prognostických příznivých a rizikových faktorů ALL například ve

formě tabulky. Dále v práci postrádám přehledný souhrn dosažených výsledků a jejich interpretaci. Tyto nedostatky poněkud znepříjemňují čtení a orientaci v disertační práci, ale rozhodně nesnižují její vědeckou hodnotu a potenciální praktický přínos.

Chtěl bych autorce položit následující otázky:

- Autorka uvádí, že u pacientů s přestavbou TEL/AML1 byla detekována zvýšená exprese genů RAG1 a RAG2 což může být příčinou většího množství Ig/TCR přestaveb. Zajímalo by mě, zda se autorka zabývala také možností defektní exprese genů zodpovědných za opravu DNA (DNA dependentní proteinkinaza, Ku70, Ligaza IV) a jaký je její názor na tuto možnost zvýšeného množství přestaveb Ig/TCR u ALL?
- Má allogenní transplantace kostní dřeně u ALL pacientů vliv na výsledky analýzy přestaveb Ig/TCR genů, popřípadě na výběr Ig/TCR cílů? (např. vzhledem k potenciální oligo-klonální imunitní „graft vs. leukemia /host“ odpovědi).

Závěr

Disertační práce dokazuje výbornou teoretickou připravenost autorky a schopnost samostatné vědecké práce. Přináší původní výsledky, které mohou mít potenciální význam pro klinickou diagnostiku a terapii ALL a rozšiřují teoretické znalosti v oblasti hematopoezy. Doporučuji přijetí práce jako podkladu pro udělení vědecké hodnosti „Ph.D.“.

29. března 2006

MUDr. Jan Živný, Ph.D.
Ústav patologické fyziologie
Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta