

**Oponentský posudek na doktorskou dizertační práci MUDr. Karla Švojgra.****Název práce: Funkce adaptorových molekul v procesu leukemogenezy.**

Předkládaná dizertační práce MUDr. Švojgra se zabývá studiem úlohy signalizačních adaptorových molekul při vzniku dětských akutních lymfoblastických leukémií (ALL). Autor se spolupracovníky sledovali dynamiku exprese adaptorových molekul PAG, LAT a NTAL u nejčastějších subtypů ALL a srovnávali ji s expresí v průběhu fyziologického vývoje B- a T-lymfocytů. Zjistili, že v průběhu vývoje T-buněk dochází ke snižování exprese NTAL a zvyšování exprese LAT, zatímco při vývoji B řady dochází ke snižování exprese PAG. Dále prokázali, že nízká hladina NTAL v blastech pacientů s T-ALL signifikantně koreluje se špatnou odpovědí na iniciační léčbu prednisonem. Zjištěné poznatky modelovali v *in vitro* experimentech, kdy ke studiu funkce vybraných adaptorových molekul u ALL použili leukemické buněčné linie. Pomocí těchto experimentů potvrdili, že blasty pacientů s T-ALL, které mají vyšší hladinu NTAL mRNA, jsou citlivější na léčbu glukokortikoidy. V neposlední řadě se autor ve spolupráci s kolegy z Akademie věd ČR podílel na stanovení exprese signalizační molekuly CD148 u lidských prekurzorů T-lymfocytů.

Teoretická část práce je rozdělena na dvě hlavní kapitoly. První kapitola představuje stručný úvod do problematiky dětských ALL a je věnována etiopatogenezi, klasifikaci a léčbě tohoto onemocnění. Ve druhé kapitole autor na základě literárních údajů shrnuje současné poznatky o transmembránových adaptorových molekulách a jejich úloze v signalizačních drahách. Na straně 24 jsou jasně formulované cíle dizertační práce. V praktické části, která je rozdělena na tři podkapitoly, autor komentuje a shrnuje hlavní výsledky, které byly v průběhu řešení dosaženy a publikovány v odborných časopisech. V každé příslušné podkapitole jsou rovněž uvedeny metody a postupy použité ve studii, přičemž jejich detailní popisy jsou v příložených publikacích. Zvolené metody představují současný trend v analýze leukemických buněk a jsou ve světě široce využívány v diagnostice různých typů nádorových onemocnění. Jako biologický materiál pro analýzy byly v práci použity diagnostické vzorky aspirátů kostní dřeně nemocných s ALL a vzorky tkáně thymu získané od dětí podstupujících kardiologickou operaci. *In vitro* experimenty byly provedeny na buněčné linii Jurkat.

Po odborné i formální stránce je dizertační práce MUDr. Švojgra velmi dobře promyšlená a přehledně zpracovaná. Má 28 stran textu a je doložena velkým množstvím citací použité literatury (celkem 104 referencí), které svědčí o širokém obeznámení autora se současnými poznatky v dané problematice. Práce je rovněž doplněna dvěma ilustrativními obrázky, seznamem použitých zkratk a přehledem dosavadní publikační aktivity autora (3 publikace v časopise s IF, 1 publikace v recenzovaném časopise) včetně abstrakt z českých (3x) a mezinárodních (2x) konferencí a prací, které přímo nesouvisí s daným tématem (1x publikace, 1x abstrakt). Nedílnou součástí dizertační práce jsou pak tři příložené publikace, které dokumentují a shrnují dosažené výsledky. Všechny tři práce byly publikovány v kvalitních zahraničních odborných časopisech ohodnocených impakt faktorem, což dokládá jejich vysokou odbornou úroveň. U dvou z těchto publikací je MUDr. Švojgr prvním autorem, u poslední práce je spoluautorem. K dizertační práci je přiložen autoreferát shrnující stručně její obsah a přehled dosažených výsledků včetně seznamu vlastních publikací vztahujících se k tématu dizertační práce.

Práci považuji za velmi kvalitní a v podstatě jí nemám co vytknout, snad jen kromě dvou drobností. Zprv jako cytogenetik upozorňuji na to, že při zmiňování translokací je

vhodné vždy (nebo alespoň při první zmínce v textu) uvádět celý popis aberace včetně zlomových míst, aby bylo zcela jasné, o kterou konkrétní aberaci se jedná a které geny jsou v translokaci zahrnuty (kromě specifických aberací, které má v tomto případě autor na mysli, byla popsána i řada nespecifických translokací zahrnujících stejné chromosomy ale jiná zlomová místa). Za malý nedostatek lze možná rovněž považovat velké množství zkratk, které činí některé pasáže textu velmi obtížně srozumitelné, i když je pravda, že všechny zkratky jsou vysvětleny v již zmíněném seznamu. V obou případech se však jedná skutečně jen o formality, které nijak nesnižují vynikající úroveň dizertační práce. Žádné zásadní kritické připomínky k práci nemám.

**Závěr:** Předkládaná dizertační práce má vynikající odbornou úroveň, dosažené výsledky jsou doloženy a dobře zdokumentovány v příložených publikacích. Zvolené téma je aktuální a pro onkohematologii velice přínosné. Za významné považuji zejména pozorování, že rozdílná exprese NTAL mRNA u nemocných s T-ALL významně ovlivňuje odpověď na iniciační léčbu prednisonem a tím i prognózu onemocnění a že molekula CD148 má aktivační a inhibiční vliv na T-lymfocytární signalizaci. Domnívám se, že dosažené poznatky mohou sloužit nejen jako východisko pro další experimenty při studiu leukemogeneze, ale mohou být i přímo využity v klinické praxi při diagnostice a stratifikaci léčby ALL. Použité metodiky jsou moderní a tematicky práce navazuje na současné výsledky zahraničních pracovišť. Rovněž dosavadní odborná činnost a publikační aktivita MUDr. Švojgra jednoznačně prokazuje, že autor má všechny předpoklady k samostatné vědecké práci.

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem doporučuji postoupení práce k obhajobě před komisí a v případě, že bude úspěšně obhájena, doporučuji MUDr. Karlu Švojgrovovi udělit akademický titul Ph.D. podle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc.  
Centrum nádorové cytogenetiky  
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky  
Všeobecná fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze  
U nemocnice 2, 128 08 Praha 2

**Dotaz:** Autora bych se ráda zeptala, jaký je jeho názor na to, zda a případně jakým způsobem by zjištěné poznatky mohly přispět k vývoji nových léků či léčebných přístupů.