

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Lucie Sládkové

Název práce: Frekvence a význam genetických změn v genomu leukemických buněk u dětí s T-ALL

Autor: Bc. Lucie Sládková

Posuzovatel: RNDr. Jana Březinová, Ph.D.

Datum: 2.2.2020

Cíl práce: Cílem diplomové práce Bc. Lucie Sládkové byla analýza genomu buněk kostní dřeně dětských pacientů s T-buněčnou akutní lymfoblastickou leukémií (T-ALL) s využitím kombinace molekulárně cytogenomických metod, vyhodnocení nejčastějších rekurentních kryptických chromosomových aberací a určení jejich významu pro prognózu onemocnění.

Struktura práce je přehledná, obsahově odpovídá požadavkům, kladeným na diplomovou práci. Uveden je anglický abstrakt a seznam zkratk.

V kapitole **Literární přehled** shrnuje autorka na 16 stránkách současné poznatky z odborné literatury. Citace jsou aktuální, jejich množství svědčí o tom, že si osvojila nejnovější poznatky ve studované problematice. Kapitola je rozdělena na čtyři části, první se zabývá početními a strukturními chromosomovými změnami v nádorových buňkách, druhá obecnou podstatou vzniku nádorové buňky, třetí část je věnována T-buněčné akutní lymfoblastické leukémii a jejím genetickým změnám. Možnosti detekce těchto změn popisuje část čtvrtá.

Cíle práce jsou sepsány na straně 27 a jsou přesně formulovány.

V kapitole **Materiál** je uveden soubor vyšetřených nemocných s T-ALL a dále laboratorní technika a seznam chemikálií a roztoků pro jednotlivé použité metody.

Kapitola **Metody** je členěna na podkapitoly, popisující použité metody: klasickou cytogenetickou analýzu, FISH, izolaci DNA, MLPA a statistickou analýzu.

Kapitola **Výsledky** shrnuje závěry jednotlivých analýz a popisuje i současný klinický stav pacientů. Výsledky jsou komentovány slovně, doplněny obrázky a grafy.

Diskuze je vedena přehledně, autorka zde srovnává vlastní výsledky s údaji, publikovanými v literatuře.

Kapitola **Závěr** shrnuje dosažené výsledky celé práce. Autorka na unikátním souboru 67 dětí s onemocněním T-ALL prokázala vysoké procento chromosomových aberací (91 %), velké množství z nich byly aberace kryptické, nedetekovatelné klasickou cytogenetickou analýzou. Přestože prognostický význam některých kryptických rekurentních chromosomových aberací není ještě přesně znám, přispívá studium těchto změn k pochopení vzniku a rozvoje onemocnění a tím i ke zlepšení diagnostiky a léčby dětských nemocných s T-ALL.

V práci jsou drobné formální chyby:

- Není jednotně uváděna metoda: molekulárně-cytogenetická (např. str. 1, str. 19), jinde v textu molekulárně-cytogenomická (str. 2), obě možnosti uváděné i bez spojovací čárky (str. 12, str. 19, 56, 57)

- Gen IgH je lokalizován v pruhu 14q32, ne 14q11.2 jak je uvedeno na str. 5
- Imerzní objektiv nezvětšuje 1000x, ale pouze 100x, další zvětšení je umožněno optickým systémem mikroskopu (okuláry) (str. 32, str. 34)
- V příloze u Tabulky č. 11 by bylo vhodné uvést vysvětlivky, SM patrně sekundární malignita, není jasné, zda pacient žije (pac. č. 16), v textu uvedeni 4 pacienti se sekundární malignitou (str. 51), rovněž u doby sledování by mělo být uvedeno, zda v měsících, letech
- U 2 pacientů nejsou výsledky v Tabulce č. 12 zapsány správně podle ISCN 2016 nomenklatury (pac. č. 23 - pokud se jedná o polyploidii s 96 chromosomy, nutno uvést, které 4 chromosomy jsou nadpočetné, případně že se jedná o marker chromosomy, pac. č. 67 – pořadí aberací uvedeno obráceně, nejprve delece chromosomu 9, pak derivovaný chromosom 14)

K práci mám 2 dotazy:

1. Ve výsledcích klasické cytogenetické analýzy je u pacienta č. 40 uvedena přítomnost isochromosomu pro dlouhá ramena chromosomu 7. V tabulkách č. 6 a 12 je u sondy pro gen *TRB* (7q34) uveden normální nález. Znamená to, že metoda I-FISH přítomnost isochromosomu nepotvrdila (nadpočetná kopie genu *TRB* potvrzena pouze u pacientů č. 9, 59 a 65)?
2. Dle údajů v literatuře mají aberace genů *TLX1* a *TLX3* podobný mechanismus buněčné transformace, avšak abnormální exprese genu *TLX1* je spojována s lepší prognózou a nižším rizikem relapsu, zatímco aberantní exprese genu *TLX3* je spojena s horší prognózou a vyšším rizikem relapsu. Měla by autorka pro tento jev nějaké vysvětlení?

Závěr:

Předkládaná diplomové práce má velmi dobrou obsahovou a odbornou úroveň, uvedené připomínky nijak nesnižují její kvalitu. Autorka při vypracování projevila znalost problematiky genetických změn u maligních hematologických onemocnění, konkrétně u dětské T- buněčné akutní lymfoblastické leukémie. Jsem přesvědčena, že splnila veškeré požadavky, kladené na diplomovou práci, doporučuji ji k obhajobě před komisí a navrhuji klasifikaci **v ý b o r n ě**.



RNDr. Jana Březinová, Ph.D.

Praha 2.2.2020