



Ústav patologické fyziologie

1. lékařská fakulta

Univerzita Karlova

U Nemocnice 5, 12853 Praha 2

Přednosta: prof. MUDr. Martin Vokurka, CSc.

Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Radky Bokorové

Předložená dizertační práce ověřuje možnost využití exprese proteinu cereblonu jako možného biomarkeru očekávané odpovědi na léčbu lenalidomidem u pacientů s myelodysplastickým syndromem.

Téma práce je zajímavé a aktuální. V kapitole 2 je uvedeno šest cílů, které autorka v kapitole 6 uspokojivě obhájí. Jako taková je práce přínosem ke sledované problematice.

Práce bohužel trpí řadou formálních nedostatků a nepřesností. Velmi závažnou slabinou je úroveň anglického jazyka. Špatný překlad vede k nesrozumitelným formulacím typu „Nrf2 is expendable for murine development... where is requested for the protection of hematopoietic stem cells“. Jazyková úroveň tak výrazně snižuje celkový dojem z práce.

Jako konkrétní nepřesnosti je možno zmínit:

Strana 34: Mezi tkáněmi exprimujícími EPO autorka neuvádí ledviny (!).

Strana 35: Thalidomid nepoškozuje děti (babies), nýbrž plod.

Strana 80: Výraz „weight“ pro označení molekulární hmotnosti je chybný.

Strana 99: Anémie rozhodně není definována jako Hb pod 100 g/l; WHO uvádí jako hraniční hodnoty 120 g/l pro ženy a 130 g/l pro muže.

S ohledem na metodiku by měly být vysvětleny následující připomínky:

Klíčovou součástí práce je stanovení mRNA pro cereblon. První obrázek s konkrétními výsledky PCR, Fig. 9 na straně 58, uvádí popis osy y jako „Relative fold change of CRBN mRNA level“. Následující obrázek, Fig 10, popisuje stejnou osu jako „CRBN ddCT“. Pokud jde skutečně o Relative change (Fig 9), pak relative k čemu? A jak je definován výpočet CRBN ddCT? Pro pochopení PCR výsledků je bezpodmínečně nutné tyto popisky osy y vysvětlit. Koncentrace cDNA byla pravděpodobně upravena tak, aby CT pro GAPDH byl přibližně 20 cyklů. Kolik je typický CT pro *CRBN* cDNA?

Nepochybně zcela chybné je použití popisku CRBN ddCT pro Fig 11, kde je kvantifikován protein.

U obrázku 14 A a dalších opět není jasné, jak je kvantifikována *CRBN* cDNA. Relativně k čemu?



Ústav patologické fyziologie

1. lékařská fakulta

Univerzita Karlova

U Nemocnice 5, 12853 Praha 2

Přednosta: prof. MUDr. Martin Vokurka, CSc.

Prezentace imunoblotů na obrázku 26 a dále je nevyhovující. Každý blot musí být označen symbolem proteinu (nelze čekat od čtenáře, že bude popis pracně hledat v legendě na další straně). Rovněž musí být označena osa x. Asi je zjevné, že body osy x představují jednotlivé časové úseky, pak ale není jasný obrázek 28, kde panel A má 16 bodů a panel B jen devět bodů. Obecně je možno konstatovat, že prezentace imunoblotů v předkládané práci není příliš profesionální. Na druhé straně je nutné ocenit, že autorka alespoň uvádí molekulové hmotnosti – řada prací v renomovaných časopisech je postrádá.

Zajímavé informace jsou uvedeny na straně 104, kde autorka konstatuje, že protilátka proti cereblonu je pravděpodobně nespecifická. V této souvislosti by bylo užitečné zobrazit alespoň jeden kompletní blot a ne jen úzký výřez kolem 50 kDa. Stránka výrobce prezentuje protilátku jako poměrně specifickou, bylo by užitečné ukázat, kolik bandů v rozsahu celého gelu protilátka ukáže. Dále autorka uvádí, že množství proteinu získané ze vzorku je příliš nízké. Průměrný výtěžek by rozhodně měl být zmíněn na straně 52 v sekci Immunoblotting.

Závěrem je možné konstatovat, že přes některé nedostatky práce představuje přínos pro výzkum patofyziologie myelodysplastického syndromu a je možné doporučit udělení titulu její autorce.

V Praze 20.ledna 2022

Ing. Jan Krijt, PhD