

Oponentský posudek na doktorandskou disertační práci MUDr. Ester Mejstříkové

Název práce: **IMUNOLOGICKÁ DIAGNOSTIKA A MONITOROVÁNÍ LÉČEBNÉ ODPOVĚDI U NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ KRVETVORBY V DĚTSKÉM VĚKU.**

Předkládaná disertační práce MUDr. Ester Mejstříkové se zabývá zejména imunologickou klasifikací dětských akutních leukémií a možnostmi využití průtokové cytometrie při diagnostice, sledování účinnosti léčby a detekci minimální residuální nemoci (MRN) u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) a akutní myeloidní leukémií (AML).

První část práce představuje **úvod** do problematiky diagnostiky, klasifikace a léčby dětských akutních leukémií. V samostatných kapitolách autorka na základě literárních údajů shrnuje současné poznatky o prognostických faktorech, imunologické a genotypové klasifikaci a klinických a biologických projevech ALL a AML u dětí. Zabývá se rovněž principy terapie a metodami sledování odpovědi na léčbu u těchto nemocných. Na straně 34 jsou pak jasně formulovány **cíle** disertační práce, ke kterým patří zejména zhodnocení významu exprese myeloidních antigenů u ALL, posouzení prognostického významu antigenu CD10 u B prekurzorové ALL a využití průtokové cytometrie v monitorování léčebné odpovědi a detekci MRN. V kapitole **Výsledky a diskuse** autorka podrobně komentuje dosažené výsledky, které jsou doloženy vlastními publikacemi. K nejdůležitějším závěrům patří nový přístup k hodnocení prognostického významu aberantní exprese myeloidních antigenů, díky kterému autorka se spolupracovníky prokázali nepříznivý prognostický význam aberantní exprese molekuly CD33 u BCP ALL v rámci protokolů BFM 95 a ALL IC BFM 2002. Kromě toho autorský kolektiv prokázal význam exprese diferenciačního antigenu CD10 pro lepší stratifikaci dětí s B prekurzorovou ALL a zhodnotil význam monitorování hladiny MRN v časných i pozdějších stádiích různých subtypů ALL za použití 4 barevné průtokové cytometrie.

K předložené práci mám jednu faktickou poznámku a jeden dotaz:

- Na straně 12 autorka zmiňuje občasné diskrepance mezi výsledky konvenční cytogenetické analýzy a cytometrického DNA indexu při detekci hyperdiploidních buněčných klonů u dětí s ALL. Jako jedno z možných vysvětlení mimo jiné uvádí omezenou schopnost *in vitro* proliferace leukemických buněk a v důsledku toho někdy neúspěšnou konvenční cytogenetickou analýzu. V dnešní době je však nedílnou součástí cytogenetického vyšetření analýza genotypu nedělicích se interfázních buněk metodou I-FISH (tuto metodu používáme mimo jiné právě při detekci hyperdiploidii), která není závislá na proliferčních schopnostech analyzovaných buněk. Při porovnávání cytogenetických a cytometrických nálezů je tak vždy nutné brát v úvahu výsledky kompletní cytogenetické analýzy včetně I-FISH. Domnívám se proto, že případné diskrepance (které však nejsou nijak časté) lze spíše vysvětlit rozdílnou citlivostí obou metod, případně určitou chybou, kterou může být každá metoda zatížena a která může být způsobena různými technickými faktory.
- V této souvislosti bych se ráda zeptala, jaká je citlivost průtokové cytometrie (tj. jak velký buněčný klon je možné touto metodou zachytit) a jaká je její cut-off.

Po odborné i formální stránce je disertační práce MUDr. Mejstříkové velmi dobře promyšlená, pečlivě a přehledně zpracovaná. Má 57 stran textu a je doložena velkým množstvím citací použité literatury (celkem 280 referencí), které svědčí o širokém rozhledu autorky. Rovněž je doplněna ilustrativními grafy, tabulkami a seznamem použitých zkratk. Nedílnou součástí disertační práce je 12 příložených odborných publikací, které dokumentují a shrnují dosažené

výsledky. Většina příložených prací byla publikována v prestižních zahraničních časopisech ohodnocených impakt faktorem, což svědčí o jejich odborné úrovni. U dvou prací je MUDr. Mejstříková první autorkou (jeden článek vydán v časopise *Leukemia* a druhý před odesláním) u ostatních spoluautorkou. K disertační práci je rovněž přiložen autoreferát shrnující stručně její obsah a přehled dosažených výsledků. Jeho součástí je životopis autorky a přehled jejích publikací v impaktovaných a recenzovaných časopisech, včetně vybraných abstrakt z významných mezinárodních konferencí.

Předkládaná disertační práce má výbornou úroveň. Zvolené téma je aktuální a pro onkohematologii velice přínosné s možností okamžité aplikace do klinické praxe. Práce zdůrazňuje význam průtokové cytometrie pro stanovení přesné diagnózy a prognózy u dětských pacientů s ALL a AML. Za velmi významnou považují i skutečnost, že řada výsledků vznikla v rámci řešení mezinárodních studií, na jejichž koordinaci se podílel pracovní kolektiv, kterého je členkou i MUDr. Mejstříková. Použité metodiky jsou moderní a autorka se spolupracovníky přispěli k jejich standardizaci na mezinárodní úrovni. Dokumentace výsledků je adekvátní a interpretace kritická. Dosavadní odborná činnost a rovněž vysoká publikační aktivita MUDr. Mejstříkové jednoznačně prokazuje, že autorka 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. Ester Mejstříkové udělit akademický titul Ph.D. podle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Doc. RNDr. Zuzana Zemanová, Csc.
Centrum nádorové cytogenetiky VFN a 1.LF UK
Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky
U nemocnice 2, 128 08 Praha 2