

ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVŇÍ TRANSFUZE
ODDĚLENÍ MOLEKULÁRNÍ GENETIKY

U nemocnice 1, 128 20 Praha 2

Tel. : 221977408

Fax : 221977371

email: haskovec@uhkt.cz

Oponentský posudek

disertační práce Mgr. Heleny Břízové

„Lymfom z buněk pláště, genová exprese v patogeneze onemocnění“.

Předložená práce se zabývá velmi aktuálním a z medicínského hlediska i velmi významným problémem studia molekulárních indikátorů buněk lymfomu pláštěvé zóny (MCL). Soustřeďuje se především na expresi klíčového regulátoru buněčného cyklu Cyklinu D1, který je u těchto buněk silně overexprimován a slouží jako marker tohoto onemocnění. Na rozdíl od jiných autorů nestanovuje přítomnost fuzního genu CCND1 (kódujícího Cyklin D1)/IgH, nebo proteinu Cyklinu D1, ale mRNA Cyklinu D1. Zavádí velmi objektivní reprodukovatelnou metodu na rozdíl od semikvantitativních a subjektivních metod, nebo metod uplatnitelných u podstatně nižšího procenta pacientů. Autorka pro svůj výzkum užívá jakerstvo odebraných buněk, tak i archivních fixovaných materiálů.

Práce vychází z výsledků publikovaných v periodických odborných lánkách, tito již publikovaných a jednoho zasláného do tisku, v mezinárodních impaktovaných časopisech, na nichž je předkladatelka první autorkou.

Práce obsahuje přímý literární přehled do dané problematiky s rozsáhlým přehledem citované literatury (citováno je více než 100 literárních odkazů). Dále jsou formulované cíle práce. Za nejčtenější považují shrnutí výsledků prezentovaných v publikacích v kontextu s výsledky publikovanými v odborné literatuře v částech výsledky a diskuze. Nejdůležitější výsledky jsou pak shrnuty v kapitole Závěr. Následuje seznam zkratk a kopie publikací, jejichž výsledky práce uvádí.

Za nejvýznamnější výsledky považují především ty, které ukazují, že autorkou použitou metodou qRT-PCR Cyklinu D1 lze detekovat overexpresi Cyklinu D1 až u 97% pacientů MCL. Rovněž za velmi přínosné považují možnost sledování reziduální nemoci metodou qRT-PCR Cyklinu D1 v kostní dřeních pacientů. Dále to jsou výsledky korelace exprese

n kterých marker proliferace s expresí Cyklinu D1. Z metodického hlediska považuji i za š astnou normalizaci výsledk stanovení Cyklinu D1 ke hladin Cyklinu D2+D3.

K práci nemám žádnou zásadní výhradu nebo kritickou p ipomínku, pouze drobnou p ipomínku a dotazy:

1. Na str. 31 se uvádí, že nebyl pozorován žádný rozdíl v efektivit qRT-PCR mezi vzorky fixovanými ve formolu a zmraženými. (Což mimochodem dokládá i obr. . 5 na str. 32.) Na druhé stran ale autorka na další ádce tvrd í, že vzorky fixované ve formolu mají nižší Cp (p edpokládám, že se jedná jen o jiné ozna ení pro Ct) než bu ky zmražené, což je dáno nižší kvalitou nukleových kyselin ve formolových vzorcích. Domnívám se, že to neodpovídá p edchozímu tvrzení. Navíc, vzhledem k tomu, že nižší Cp (Ct) zna í vyšší hladinu exprese daného genu, o ekával bych to obrácen .

2. Zajímalo by m , jestli zjiš ovala autorka, zda by reziduální nemoc mohla být, krom v kostní d eni, detekovat i v periferní krvi? Bylo by to totiž pro pacienty mén zat žující.

3. Nezkoušela autorka pomocí stanovení obsahu DNA v bukách pacient MCL korelovat procentuální zastoupení jednotlivých fází bun něho cyklu (G1, S, G2 a M) s expresí sledovaných molekulárních marker proliferace?

4. Rád bych se zeptal autorky na její názor na skute nost, pro u n kterých pacient s mnoho etným myelomem, kte í mají rovn ž translokaci t(11;14) a overexpresi Cyklinu D1, není tato skute nost pro n ne gativním prognostickým faktorem?

5. V zásad souhlasím s tvrzením autorky, že vyšší hladina Cyklinu D1 souvisí s vyšší prolifera ní aktivitou bun k. Nicmén toto nemusí platit zcela obecn . V naší práci (Polák J., et al. Expression of Cyclins D1, D2 and D3 and Ki67 in Human Leukemia. Leukemia Lymphoma, 46: 1605-1612, 2005.) jsme zjistili, že bu ky pacient s akutní lymfatickou leukemií, které mají obecn nízkou prolifera ní aktivitu, mají podstatn vyšší expresi Cyklinu D1, než bu ky pacient s chronickou myeloidní leukemií, které mají vysokou prolifera ní aktivitu. Rovn ž i indukce diferenciac leukemických bun k spojená s inhibicí proliferace m že být doprovázena zvýšením exprese Cyklinu D1 (Ullmannová V. et al.: Relationship of cyclin D1 and p21^{Waf1} during differentiation of human myeloid leukemia cell lines. Leukem. Res. 27: 1115, 2003).

Vcelku ale považuji práci za velmi kvalitní. Za nejpodstatn jší považuji p edevším skute nosti, že práce p ináší nové výsledky s možným využitím v klinické praxi a že výsledky studia byly publikovány v n kolika odborných impaktovaných mezinárodních asopisech.

Závěr: Z práce je zřejmé, že autorka práce si osvojila moderní metody v decké práci, získala řadu cenných v deckých poznatků, které publikovala v mezinárodních odborných impaktovaných časopisech. Navíc, i způsob zpracování a interpretace výsledků nesporně svědčí o schopnostech autorky k další tvorbě samostatné v decké práci.

Na základě těchto skutečností **doporučuji předloženou práci k obhajobě** a aby na základě úspěšné obhajoby byl Mgr. Helen Bízové **přiznán titul PhD.**

V Praze 21.1.2010

RNDr. Cedrik Haškovec, CSc