



UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA
ÚSTAV PATOLOGICKÉ FYZIOLOGIE
12853 PRAHA 2, U Nemocnice 5
Přednosta: Doc. MUDr. Martin Vokurka, CSc.

Posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Karoliny Kramarzove

Role genu WT1 a jeho izoforem v hematopoéze a leukemogenezi

V disertační práci se Mgr. Karolina Kramarzova zabývá analýzou expresního profilu genu WT1 a jeho hlavních izoforem u dětské akutní myeloidní leukemie (AML) a myelodysplastického syndromu (MDS). Cílem disertační práce bylo vytvoření a validace metody, která by umožnila využití WT1 a jeho izoforem jako diferenciálně diagnostického a prognostického biomarkeru dětských AML a MDS. Disertační práce vychází ze dvou prací v časopise Leukemia, u kterých je Mgr. Kramarzová první autorkou. Publikace jsou součástí předkládané disertační práce.

Disertační práce má 127 stran včetně příloh. Je psána srozumitelnou češtinou a je rozčleněna do 5 očíslovaných kapitol: 1. Literární přehled, 2. Vymezení cílů a základní hypotézy práce, 3. Materiál a metody, 4. Výsledky, 5. Diskuze a dalších částí, které nejsou číslovány (úvod, závěr, souhrn, obrázky, seznam použitých zkratk, citovaná literatura a přílohy).

V „Úvodu“ autorka definuje základní hypotézy a cíle studie. „Literární přehled“ (1) je přiměřený rozsahem. Autorka v něm uceleně shrnuje informace o studovaných hematopoetických onemocněních dětského věku a strukturu, funkci, diagnostický a terapeutický potenciál WT1 genu, transkriptu a proteinu. Obrázky a tabulka vhodně doplňují text a umožňující snadnou orientaci ve studované problematice. V následné části nazvané „Vymezení cílů a základní hypotézy práce“ (2) autorka seznamuje čtenáře s 9 dílčími cíli, přičemž hypotéza a hlavní cíle jsou definovány v úvodu. Metody experimentů (3) jsou popsány srozumitelně a s přehledem, který svědčí o tom, že Mgr. Kramarzová dosáhla přiměřeného stupně laboratorních dovedností. Výsledky (4) jsou prezentovány v 7 podkapitolách, jsou popsány srozumitelně. Grafické zpracování výsledků je prezentováno ve zvláštní sekci disertační práce na str. 63 - 88. V kapitole „Diskuze“ (5) autorka své výsledky interpretuje, kriticky hodnotí a konfrontuje se současným stavem znalostí. V „Závěru“ a „Souhrnu“ autorka shrnuje nejdůležitější výsledky práce, přínos práce k řešení problematice a hodnotí využitelnosti dosažených výsledků v praxi.

Práce je opatřena více jak 150 citacemi. Citace jsou voleny přílehavě, přiměřený je i počet recentních prací. Kopie publikací autorky představují přílohovou část disertační práce. K práci nemám žádné zásadní připomínky z hlediska vědecké kvality a obsahu.

Formální připomínky:

1. Chybí abstrakt
2. V textu se opakují některé nepřesné formulace – některé i opakovaně, např. pojem „varianta genu“ (např. str. 17 „...odlišných variant genu WT1,...“, str. 59 „...více než 36 variant genu WT1,...“. Z následujícího textu je pak zjevné, že se nejedná o varianty

genu, ale o transkripční varianty nebo postranskripční modifikace, které vedou k odlišným variantám proteinu WT1.

3. Na str. 21 je v textu uvedeno „... ve dvou tzv. „hot spot“ oblastech, které se nacházejí na 7. a 9. exonu (viz. obr. 4). Zatímco na obrázku jsou „hot spot“ místa pouze na exonu 7.
4. V kapitole „Vymezení cílů a základní hypotézy práce“ neodpovídá název obsahu.
5. Chybí základní charakteristika jednotlivých použitých hematopoetických linií.
6. Legendy k obrázkům jsou dle mého názoru příliš stručné.
7. Chybí přehledné shrnutí výsledků řešení jednotlivých dílčích cílů definovaných v kapitole 2.

Chtěl bych autorce položit následující otázky:

1. Na grafech obr 35 a 36 jsou pacienti rozděleni do dvou skupin dle hladiny exprese WT1 mRNA na WT1 < normí a WT1 > normální. Jak byla definována normální hladina exprese WT1 mRNA v kostní dřeni a periferní krvi? Kolik pacientů bylo testováno v jednotlivých skupinách?
2. Jsou známy nějaké funkčně významné posttranslační modifikace WT1 proteinu, případně jeho isoformem?

Závěr

Disertační práce přináší kvalitní, nové a významné informace. I před určité formální nedostatky práce dokazuje výbornou teoretickou připravenost autorky a schopnost samostatné vědecké práce. Přináší metodiku kvantifikace hlavních isoformem WT1 a původní výsledky, které rozšiřují znalosti o možnostech využití WT1 v diferenciální diagnostice dětských AML a MDS. Doporučuji přijetí disertační práce Mgr. Karoliny Kramarzove jako podkladu pro udělení vědecké hodnosti „Ph.D.“

V Praze 11. září 2013

Doc. MUDr. Jan Živný, Ph.D.
Ústav patologické fyziologie
Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta