



UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE

2. lékařská fakulta

Klinika dětské hematologie a onkologie

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

přednosta Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.

Tel.: +420 2 2443 6400

Fax: +420 2 2443 6420

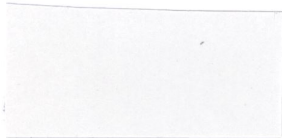
V Praze dne: 31.5.2007

Posudek školitele diplomové práce Bc. Soni Hubáčkové

Soňa Hubáčková se ve své práci zabývá jedním aspektem fenoménu minimální residuální nemoci (MRN) u dětských akutních lymfoblastických leukemií. Věnuje se velmi aktuálnímu tématu, kterým je vztah detekce MRN pomocí průtokové cytometrie a kvantitativní PCR. Výsledky tohoto projektu jsou zajímavé a mají jak biologické, tak i přímé klinické implikace. Projekt je z technického hlediska i logistického hlediska velmi komplikovaný. Soňa musela zvládnout kompletní metodický postup při detekci cílů (klonálně specifických přestaveb imunoreceptorových genů) pro sledování MRN pomocí kvantitativní PCR. Tento postup zahrnuje řadu kroků: screening přestaveb pomocí komplexní sady PCR, identifikaci monoklonálních cílů, sekvenaci a analýsu sekvencí pomocí specializovaných programů i manuálně, design specifických primerů a optimalisaci desítek kvantitativních PCR systémů. Teprve potom je možno přistoupit ke kvantitativní detekci leukemických buněk nesoucích klonálně specifické přestavby. Tento postup zvládá Soňa zcela samostatně. Připravovala i vzorky k sortování subpopulací buněk ze vzorků pacientů pomocí průtokového cytometru a optimalisovala extrakci DNA z malých objemů buněk. Provedla i analýsu výsledků a připravila jejich grafickou podobu. Soňa v naší laboratoři působí již od druhého ročníku studia a tento předložený ucelený projekt představuje jen část jejích výsledků.

Výsledky studie jsou zajímavé, přestože ne zcela potvrdily naši vstupní hypotézu. Sonina práce dokázala, že jsme schopni spolehlivě kvantifikovat MRN pomocí kvantitativní PCR i v malých subpopulacích buněk připravených pomocí sortování. Nepotvrdilo se, že by v případě B prekursorových leukemických buněk bylo možno v časných stádiích léčby oddělit jednoduše definovanou subpopulaci obsahující leukemické buňky od ostatního materiálu u všech pacientů. Ukazuje se, že exprese vytipovaných antigenů (CD45) se u některých leukemických klonů mění v časném průběhu léčby. Praktickým výstupem ale je, že v jednotlivých případech může průtoková cytometrie díky „zahuštění“ leukemických buněk v definovaných subpopulacích přispět k ověření nejasných, hraničních nálezů positivity MRN a tím přímo ovlivnit další navrženou léčbu. Předběžné výsledky Soniny práce, presentované na XV. pracovní konferenci dětských hematologů ČR a SR v listopadu 2005, byly oceněny cenou za nejlepší posterové sdělení.

Při zpracování výsledků projektu do podoby diplomové práce kladla Soňa (s ohledem na moji představu) hlavní důraz na srozumitelnost a možnost pochopit projekt v celé jeho komplexitě. To se podle mého názoru podařilo a přesto, že při konečném zpracování unikly některé formální nedostatky, považuji práci za velmi zdařilou a doporučuji ji k obhajobě.



Prof. MUDr. Jan TRKA, Ph.D.

CLIP – *Childhood Leukaemia Investigation Prague*

Vedoucí Laboratorního centra

Klinika dětské hematologie a onkologie

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta

Tel.: +420224436580

Fax: +420224436521

E-mail: jan.trka@lfmotol.cuni.cz