

## Posudek na diplomovou práci

- školitelský posudek  
 oponentský posudek

**Jméno a adresa posuzovatele:**

RNDr. Hana Španielová, PhD  
 Katedra genetiky a mikrobiologie PřF UK  
 Viničná 5, 128 43 Praha 2  
 e-mail: hs@natur.cuni.cz

**Datum:**

10.5.2007

Autor: **Tereza Lopotová**

Název práce:

**Změny v hladinách transkriptů WT1, Bcl-2, p21Cip, Ki-67 a mBCR-ABL v průběhu chronické myeloidní leukémie.**

**Text posudku:**

Diplomová práce má klasické členění a seznam literatury obsahuje 162 citací. Po formální stránce obsahuje práce všechny náležitosti, je velmi hezká, logicky členěná, přehledná, s minimem chyb a překlepů. Použité literární zdroje poskytují relevantní údaje a jsou bezchybně citovány.

Cíle práce jsou jasně definované již v úvodní kapitole: hledání nových potenciálních molekulárních ukazatelů dobré a špatné odpovědi na léčbu imatinibem (obchodní název Glivec) u pacientů s chronickou myeloidní leukémií, které by mohly doplnit a zpřesnit informace získané monitorováním hladiny transkriptů specifického markeru tohoto onemocnění (fúzního genu bcr-abl) a v dlouhodobém měřítku snad i pomoci k zavedení „individualizované“ terapie.

Kapitola nazvaná „Přehled literatury“ má 26 stran a dostává svému názvu - poskytuje čtenáři přiměřený přehled o biologii, léčbě a diagnostice chronické myeloidní leukémie (CML). Zároveň jsou již zde uvedeny důležité informace o potenciálních molekulárních markerech CML a přesně definované základní pojmy (kritéria odpovědi na léčbu) nutné pro pochopení výsledkové části práce.

Metodická část práce je pečlivě zpracovaná a obsahuje i velmi hezký popis principu stěžejní metody práce - PCR v reálném čase (real-time PCR), včetně vysvětlení a zdůvodnění použitých metod vyhodnocení a kvantifikace. Z této, i následující výsledkové kapitoly, je patrné, že diplomová práce vznikala pod pečlivým dohledem zkušeného školitele na pracovišti, kde je metodika dobře zavedená.

Kapitola nazvaná „Výsledky“ má 44 stran a obsahuje získaná data (při jejichž vyhodnocování bylo úzkostlivě dbáno o správné statistické zpracování) v podobě grafů opatřených vysvětlivkami a podrobným komentářem. Stěžejním obsahem této kapitoly je (1) statistické vyhodnocení rozdílnosti exprese 4 genů (WT1, Bcl-2, p21Cip, Ki-67) jakožto potenciálních nových ukazatelů odpovědi na léčbu na 127 vzorcích od 20 pacientů, (2) sledování kinetiky exprese těchto genů v průběhu léčby 18-ti pacientů, (3) sledování výskytu exprese fúzního genu bcr-abl vzniklého alternativním zlomem a dávající vznik proteinu p190 BCR-ABL (mBCR-ABL) u těchto pacientů (a porovnání výskytu u pacientů s/bez mutace kinázové domény). Jako nejlepší z uvedených markerů se pro sledování průběhu

onemocnění a předpovědi rezistence k léčbě jevil WT1 (exprese genu dobře korelovala s expresí BCR-ABL i klinickým stavem), zatímco ke změnám v expresi p21Cip a Bcl-2 docházelo pouze při přechodu do blastické fáze CML a exprese Ki-67 neměla prognostický význam. Výskyt transkriptu mBCR-ABL stoupal směrem k horší odpovědi na léčbu, pacienti dobře odpovídající na léčbu byli pro mBCR-ABL vždy negativní a mutace v kinázové doméně neměli na výskyt vliv.

V diskusi autorka na 7 stranách textu komentuje své výsledky, nabízí srozumitelná vysvětlení, porovnává je s údaji v literatuře a nepouští se do žádných divokých spekulací. Souhrn práce je korektním a střizlivým vyhodnocením dosažených výsledků.

#### Otázky a připomínky oponenta:

Připomínky k výsledkové části:

- domnívám se, že ve vysvětlivkách na str. 79 je chybně uvedeno barevné označení hladin exprese ve zdravých a BC buňkách a komentář na str. 74 uvádí, že pacient byl léčen hydroxyureou, zatímco z grafu vyplývá léčba IFN.
- v porovnání s grafem na obr. 4.24 (str.99), který je velmi informativní, vyžaduje rozluštění grafů na obr. 4.26 a 4.27 (str. 104 a 105) nezměrné úsilí a informace, které přinášejí jsou mnohem pochopitelněji vysvětleny v připojeném komentáři. Také rozdělení pacientů na pozitivní a částečně pozitivní nelze asi považovat za zcela korektní a zajímal by mě smysl tohoto dělení.
- v seznamu zkratk chybí zkratky: BCR-ABL, mBCR-ABL a MBCR-ABL

Otázky k práci:

- Jak a kde lze ověřit informaci uvedenou v diskusi a souhrnu na str. 107, že „u nejméně 40% relapsů se nárůst hladiny WT1 projevil o několik týdnů dříve než nárůst BCR-ABL“? Tento fakt z uvedených grafů (časové rozpětí v desítkách měsíců) ani komentářů nevyplývá.
- V přehledu literatury je uvedeno (str. 36), že WT1 přímo ovlivňuje expresi genů p21Cip a Bcl-2. Lze potom uvažovat o těchto 3 genech jako o nezávislých markerech průběhu CML (tj. hodnotit míru a kinetiku jejich exprese odděleně)? Nemělo by větší vypovídací hodnotu kombinované vyhodnocení kinetiky všech genů (deregulace vs. vzájemná regulace hladin)?
- Používá se pro vytipování nových markerů progresu CML metoda microarray?
- Může CML vzniknout i jinak než v důsledku exprese p210 BCR-ABL (bez Ph chromosomu)? Je takto podmíněna progresu nezávislá na BCR-ABL (str. 25)?
- Co se ví o závislosti hladin sestřihových enzymů a průběhu onemocnění (nejen?) CML (v diskusi uvedeno bez citace, str. 111)?

#### Závěr:

Závěrem lze konstatovat, že tato práce bezpochyby splňuje všechny požadavky kladené na práci diplomovou a s radostí ji lze doporučit k obhajobě.

**Návrh hodnocení oponenta** (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

**Podpis oponenta:**