

ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVNÍ TRANSFUZE

Oddělení molekulární genetiky
U Nemocnice 1, 128 20 PRAHA 2

Školitelský posudek diplomové práce

Tereza Lopotová

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

Úkolem diplomové práce Terezy Lopotové bylo hledání potenciálních markerů odpovědi na léčbu imatinibem u pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML). Důraz byl kladen na hledání časných markerů relapsu, dále se zaměřením na časné markery akcelerace onemocnění a terminální fáze nemoci – blastické krize. Tyto markery by měly upřesnit informace získané monitorováním hladiny transkriptu BCR-ABL, specifického znaku CML. Nalezení časných markerů by přispělo ke zkvalitnění léčby, která by mohla pružně reagovat na individuální vývoj onemocnění u každého pacienta. Časná změna a zintenzívnění léčby by mohly odvrátit nebo alespoň oddálit nástup agresivní terminální fáze. Diplomová práce se podílí na řešení jednoho z úkolů projektu podpořeného Interní grantovou agenturou Ministerstva zdravotnictví.

Jako potenciální markery byly testovány změny v hladinách transkriptů WT1, Bcl-2, p21Cip, Ki-67 a mBCR-ABL. Základní metodou diplomové práce byla metoda real-time RT-PCR s vyhodnocováním výsledků pomocí specifického počítačového programu. Během práce bylo užíváno velké množství dalších metod od izolace leukocytů z periferní krve, přes izolaci RNA, reverzní transkripci, kvalitativní RT-PCR, až po statistické analýzy. Dále byla také používána metoda přímého sekvenování pro detekci mutací.

Diplomová práce je přehledně členěna a jasně sepsána. V Přehledu literatury autorka vyčerpávajícím způsobem popisuje současné znalosti o CML, a to jak na molekulární, tak i klinické úrovni. Dokonalou znalost problematiky dokazuje 162 citovaných prací. V metodické části jsou popsány a na přehledných schématech objasněny principy používaných metod. Kapitola Výsledky je uvedena ověřením spolehlivosti metody i kvality práce autorky testem opakovatelnosti a reprodukovatelnosti. Kapitola obsahuje 6 tabulek a 27 obrázků většinou složených z několika grafů i vložených tabulek. Schopnost jednotlivých genů charakterizovat stav onemocnění byla testována na 127 vzorcích 20 pacientů rozřazených do různých skupin podle odpovědi na léčbu. Statistická významnost rozdílů hladin jednotlivých transkriptů při různých odovědích na léčbu byla sledována několika typy statistických analýz. Prognostický význam jednotlivých genů byl testován u 18 pacientů v průběhu onemocnění (bylo sledováno 4 - 30 vzorků na pacienta) a určen na základě vyhodnocení kinetik hladin jednotlivých transkriptů. Výsledky jsou dobře diskutovány a stručně shrnuty.

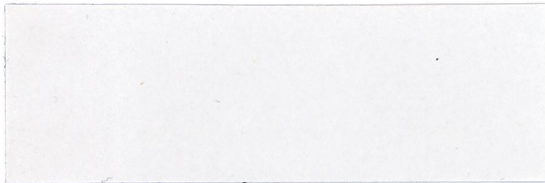
V průběhu diplomové práce se autorka projevila jako inteligentní, zvědavá, samostatná a velmi pracovitá studentka. Právě díky těmto vlastnostem získala velké množství výsledků, které kriticky vyhodnotila. Za velmi důležité považuji zjištění, že hladina a kinetika exprese genu WT1 má význam jako prognostický marker relapsu onemocnění. Relaps lze často předpovědět i o několik týdnů dříve než pomocí specifického markeru CML, fuzního genu BCR-ABL. Dalším důležitým poznatkem je, že zvýšená exprese genů Bcl-2 a p21Cip může být upřesňujícím znakem akcelerace onemocnění.

ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVNÍ TRANSFUZE
Oddělení molekulární genetiky
U Nemocnice 1, 128 20 PRAHA 2

Autorka bude své výsledky bude prezentovat jako první autor na Olomouckých hematologických dnech s mezinárodní účastí (červen 2007) a jako spoluautor dvou prezentací na mezinárodní konferenci Evropské hematologické společnosti (EHA) ve Vídni (červen 2007).

Diplomovou práci Terezy Lopotové jednoznačně doporučuji k obhajobě.

V Praze 24.5.2007



RNDr. Jana Moravcová, CSc.