

Posudek na disertační práci

MUDr. Pavel Klener

ANALYSIS OF TRAIL – INDUCED APOPTOSIS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA CELLS

Disertační práce se zabývá analýzou mechanismů rezistence leukemických buněk k účinkům tumor necrosis – related apoptosis inducing ligand (TRAIL). Pokusy byly prováděny in vitro, studie je doplněna experimentem in vivo spočívajícím v xenotransplantaci leukemických buněk s navozenou rezistencí k TRAIL imunodeficientním myším.

Disertační práce je založena na 7 impaktovaných publikacích (z toho 3 přímo souvisí s popsánými experimenty). Všechny publikace jsou v kvalitních periodických. Součet IF je 22.

Disertační práce má 81 stran a je psána srozumitelnou angličtinou, po jazykové stránce byl text pečlivě redigován. Práce je opatřena více jak 300 citacemi. Citace jsou voleny přiléhavě, přiměřený je i počet recentních prací. Je uveden i seznam publikací dizertanta opatřený hodnotami IF příslušných periodik.

Teoretický úvod je přiměřený rozsahem a dobře uvádí do studované problematiky. Hypotéza dizertanta je jasně formulovaná a hlavním kladem úvodního textu je skutečnost, že z této povýtce experimentální studie jasně vyplývají klinické implikace. Formálním problémem jsou schémata zřetelně převzatá z literatury, kdy původní zdroj není citován. V popisu ke schématům se paušálně odkazuje na text úvodu. Ten však schémata nevysvětluje vždy v úplnosti. V číslování schémat jsou duplicity.

Cíle studie jsou formulovány ve čtyřech konzistentních bodech. Ty pak tvoří osnovu pro kapitolu výsledků.

Metody experimentů jsou popsány srozumitelně, v logickém sledu a s přehledem, který svědčí o tom, že dizertant dosáhl přiměřený stupeň laboratorních dovedností. Chybí popis statistického zpracování výsledků. V textu výsledků se často odkazuje na signifikantnost rozdílů a není jasné jak tato byla testována a zejména jak četné byly jednotlivé srovnávané skupiny.

Kapitola výsledků je méně přehledná. Příčinou je snad snaha nahromadit všechny získané informace v malém prostoru. Jedná se vlastně sled grafů s popisem, které jsou propojeny minimem textu. Více výkladu vztahů by prospělo, zejména proto, že následující kapitola diskuse má převážně obecný charakter.

Ke kapitole výsledků mám následující formální připomínky a komentáře k jejich interpretaci:

Fig. 2 - Proč se tak výrazně liší hodnota po 80 μ M Z-VAD- FMK?

Fig. 3 –V grafu nelze spojovat body naměřené v odlišných časových vzdálenostech. Navíc tvrzení, že po 60 min bylo dosaženo maximální odpovědi je sporné bez

důkazu, že se % apoptosy v intervalu 60 min – 24 hod již neměnilo. Mohlo po hodině dále stoupat a pak klesnout.
Str. 44 - V disertační práci by se nemělo vyskytovat „data not shown“. Platí též pro str. 71

Str. 46 – Význam endogenní produkce TRAIL by měl být diskutován a ne pouze konstatován

Fig. 9 – Z popisu není zřejmé co je P1 a P2. To se čtenář dozví až na str. 51.

Fig. 15 - „full rhombus mark“ = plná kolečka? Část grafu C – platila „minimální aktivace“ i pro P1 a P2?

Fig 16 – na obrázek je odkaz v textu Fig. 14 (Str. 57, 7 ř zd.). Odkaz na obr. 16 v textu žádný není.

Str. 60, 7 a 6 ř. zd. OD = Optical Density?

Fig. 17 – v popisu je Fig 15

Str. 60, 4 ř. zd. „earlier onset“ – jak to bylo hodnoceno? Jistě to neplatí pro P1a a pro P2b, kde vlastně žádný vrchol není.

Fig. 20 – v popisu je to Fig. 13

Fig. 22 – v popisu je to Fig. 20

Tab. 3 – Je zvykem vyznačovat v tabulce jednotky. Např.: Mouse Weight – lépe Body Weight [g]. Odkaz, že popis je v textu a v kapitoly Metody je spíše velkorysý. Co je zkratka NA? Zkrácená doba přežití u skupiny P2 je jistě závislá na definici okamžiku, kdy byla zvířata utracena. Popis „...were sacrificed when developed hind-leg paralysis (paresis?) or appeared severely sick“ je vágní a nepřesný (Str. 36).

Str. 68, ř. 9 – „constant brain infiltration“ – to není z tabulky 3 patrné

Méně než čtyřstránková diskuse je obecná a kvalitně diskutuje hypotézu dizertanta a splnění jednotlivých cílů práce. Ocenil bych však i podrobnější diskusi metodických postupů a jednotlivých nálezů a též interpretaci nalezených odlišností od literatury. Zatímco, jak je v práci konstatováno, se v literatuře přisuzuje „decoy“ receptorům jistá úloha v určení rezistence k TRAIL, dizertant takový význam nenalezl. Spokojil se však s pouhým konstatováním této skutečnosti. Jaké je možné vysvětlení?

Závěry studie jsou velmi dobře formulované a jasně z nich vyplývá, že cíle výzkumného projektu byly splněny.

Dizertační práce přináší, přes zmíněné formální nepřesnosti, nesporně kvalitní, nové a významné informace. Jasně spolu s uvedenými publikacemi svědčí o tom, že dizertant zvládnul všechny atributy experimentální práce v biomedicině včetně způsobu interpretace výsledků a jejich publikování v mezinárodním písemnictví. Doporučuji, aby práce byla přijata a aby po úspěšné obhajobě byl MUDr Pavlu Klenerovi udělen titul Ph. D.

V Praze, dne 19. listopadu, 2007

Prof. MUDr Jan Herget, DrSc

