

## Oponentský posudek disertační práce

Název práce: **Molekulární diagnostika a prognóza u akutních myeloidních leukémií**

Autor práce: MUDr. Zuzana Jiráková Trnková  
Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta

Hlavním cílem disertační práce bylo u pacientů s akutní myeloidní leukémií prozkoumat vliv prognosticky příznivých chromozomálních aberací a zvýšené exprese jednoho z rodiny genů mnohočetné lékové rezistence na dosažení kompletní remise a na celkové přežívání a identifikovat tak potenciální prognosticky významné faktory. Experimenty byly zaměřeny na zavedení rutinní diagnostiky dvou prognosticky příznivých fúzních genů, AML1/ETO a CBF $\beta$ /MYH11, a genu mnohočetné lékové rezistence MDR1. Toto testování bylo provedeno pomocí reverzní transkripce, následnou PCR a elektroforetickou analýzou jeho produktů. Autorka při statistickém vyhodnocení získaných výsledků sledovala dva metodické cíle: 1) Vyhodnotit prognostický význam těchto nově zavedených vyšetření a porovnat je s rutinně sbíranými klinickými a laboratorními daty. 2) Vyhodnotit prognózu nemocných s akutní myeloidní leukémií ve vztahu k nálezům molekulárních aberací a k expresi MDR1/Pgp.

Přímým výstupem této disertační práce jsou 4 původní práce v zahraničních časopisech s faktorem impaktu  $IF > 1,0$ , jedna z nich je v zahraničním časopisu s faktorem impaktu  $IF = 2,7$ . Autorka je uvedena jako první autor na dvou z nich. Tři z těchto prací jsou kazuistiky. Čtvrtá, kde je autorka uvedena jako první autor, je práce zabývající se prognostickým významem semikvantitativně detekované míry exprese genu MDR1.

Dále je spoluautorkou dvou klinických prací, přičemž jedna je v tisku v zahraničním časopisu s faktorem impaktu  $IF = 4,2$  a druhá je teprve připravovaným literárním přehledem. Tyto dvě práce žádný vztah k disertaci nemají.

Samotná práce je rozdělena do osmi kapitol: 1. Teoretický přehled problematiky (Úvod, Akutní myeloidní leukémie, Akutní promyelocytární leukémie, CBF AML, Mnohočetná léková rezistence), 2. Projekt - cíle a hypotézy, 3. Pacienti, materiál a metody, 4. Výsledky, 5. Diskuse, 6. Závěr, 7. Seznam použité literatury (145 citací), 8. Přílohy – vlastní publikace (4 původní práce). Kapitolám předchází Poděkování, Obsah, Seznam použitých zkratk, Seznam obrázků (46 barevných obrázků) a Seznam tabulek (16 tabulek).

Souhrnem mohu říci, že disertační práce je napsaná čtivým stylem bez překlepů. Nejsou v ní zásadní formální chyby (Malé chybičky jsou např. 1) opomenutí v nadpise kapitoly 1.3.5 fúzního proteinu STAT5b/RAR $\alpha$ , který je potom v podkapitole 1.3.5.3 charakterizován, nebo 2) na 3. řádku kapitoly 1.4.2 má být místo nesprávně „Gen nebyl...“, správně „Genová exprese nebyla...“, nebo 3) na straně 72 by mělo být správně „respektive s CD14+“, „viz Obr.32“). Teoretická část se logicky rozvíjí od obecného úvodu, obsahujícího základní charakteristiku onemocnění, přes velice detailně strukturně i funkčně popsané fúzní proteiny a jejich původní geny, k diagnostice a léčbě, komentovanou s ohledem na charakteristiku fúzních proteinů, a završenou kapitolou o mnohočetné lékové rezistenci. Ve výsledcích je sledována prognóza choroby podle různých kritérií (diagnózy, věku, počtu leukocytů, cytogenetických aberací, genové exprese fúzních proteinů, imunofenotypu).

Předložená disertační práce se zabývá rolí molekulárně-cytogenetických metod v diagnostice a prognóze určitých typů leukémií. Je na ni trochu vidět, že nevznikla jako součást systematické vědecké práce určité badatelské skupiny, ale byla vytvořena na pracovišti, nutno říci velice specializovaném, zabývající se rutinní diagnostikou. Je naprosto neoddiskutovatelný její velký praktický význam. Stanovení prognosticky příznivých i nepříznivých faktorů společně s aplikací odpovídající speciální terapie má zásadní vliv na dosažení kompletní remise a prodloužení celkového přežívání pacientů.

Dotazy a připomínky k disertační práci:

1. Ve své práci uvádíte, že fúzní protein PML/RAR $\alpha$  nepřímo ovlivňuje aktivitu jiných jaderných receptorů, jako jsou thyroïdní receptory či receptory vitamínu D. Funguje jako transkripční represor cílových genů kyseliny retinové a signální antagonist a vitamínu D. Retinoidy, obdobně jako thyroïdní hormony, regulují transkripci cílových genů ovlivňováním acetylce histonů. RAR $\alpha$  (alfa jaderný receptor pro kyselinu retinovou) je spojen s myeloidní diferenciací. Mohla byste také okomentovat roli vitamínu D v regulaci transkripce a jeho význam u imunitních reakcí, popřípadě jeho podíl při zrání myelocytů?
2. Můžete na základě současných postupů navrhnout moderní diagnostický protokol, který by vystihoval, kdy a u čeho použijete jaké molekulárně-cytogenetické vyšetření, o kterých se zmiňujete v teoretickém přehledu problematiky (RT-PCR, G pruhování, FISH, mFISH, mBAND, CGH, CpG island microarray, microRNA expression microarray, high-throughput DNA sequencing, mass spectrometry-based proteomics a další).
3. Při stanovení imunofenotypu byla zjištěna statisticky významná korelace mezi expresí CD13, CD14 a kompletní remisí. Plánujete využívat tyto prognostické faktory také v rutinní diagnostice a proč? Neexistuje molekulárně-cytogenetický faktor, který by s daným imunofenotypem korespondoval a mohl by je nahradit?
4. Které v disertační práci uvedené metodiky jste prováděla sama a jak dlouho jste se v laboratoři tímto výzkumem zabývala? Jak dlouho trvala Vaše stáž na dánském pracovišti a na čem jste tam pracovala?

Závěr: Disertační práce je prezentována ve čtyřech původních pracích publikovaných v zahraničních časopisech s faktorem impaktu IF>1,0. Autorka je uvedena jako první autor na dvou z nich. I když cíle doktorandské práce by mohly být jistě vyšší a nesměřovat pouze do rutinní klinické aplikace, disertace splňuje publikační kritéria, a proto doporučuji udělení titulu PhD.

Posudek vypracován: 25. 9. 2009



Doc. MUDr. Marie Černá, CSc.  
Ústav obecné biologie a genetiky  
3. LF UK Praha