

Doc.RNDr.Jan Černý, PhD  
Katedra buněčné biologie  
Přírodovědecká fakulta UK  
Praha

V Praze 11.9.2012

Posudek na diplomovu práci:

**Liniová plasticita fyziologických a maligních lymfocytárních prekurzorů.**

Autor: Leona Rezková Řezníčková

Vedoucí práce: MUDr. Eva Froňková, PhD

V předložené práci autorka studuje mechanismy přesmyku z jednotlivých základních vývojových linií krevních buněk u pacientů s hybridními leukemiemi. Testuje hypotézu, že leukemické buňky vycházející z B lymfocytů, které začaly zároveň exprimovat myeloidní znaky pocházejí z původního B-ALL klonu. Základním postupem je detekce klonálních přestaveb IgH a TCR $\delta$  metodami molekulární biologie. Dále testuje hypotézu, že u přesmyknutých ALL buněk, t.j. těch co začaly exprimovat myeloidní znaky jsou exprimovány regulátory myeloidní hematopoézy jako je transkripční faktor CEBP $\alpha$ , či povrchové receptory pro M-CSF, GM-CSF a trombopoietin. V poslední části autorka sledovala přítomnost přestaveb TCR u pacientů s T-ALL a zjišťovala zdali přítomnost přestavby TCR koreluje s léčebnou odpovědí. Analýzy ukázaly, že přítomnost přestavby nekoreluje s přežitím což je v mírném rozporu s jinými pracemi jak autorka zdůraznila. Výsledky dále ukazují, že leukemické buňky exprimující myeloidní antigeny nesou stejnou klonální IgH přestavbu jako původní B-ALL klon a tyto buňky dále exprimují výše zmíněné regulátory myeloidní hematopoézy.

Experimentální výstupy jsou přehledně uvedeny, metodické postupy jsou přesně popsány, práce splňuje formální kritéria. Výsledkem snažení autorky je tedy nejen výborně zpracovaná diplomová práce, ale i spoluautorství dvou publikací (přiloženy k diplomové práci). Jedná se o velmi dobře zpracovanou práci, kterou hodnotím výborně.

Níže příkládám otázky k diskuzi.

MUDr. Pavel Otáhal, PhD

I.interní klinika VFN a I.LF UK, Praha  
&  
Ústav molekulární genetiky AVČR, Praha

### **Formální připomínky:**

Str. 22: ...modifikace dle Trizolu.

Co se přesně myslí tímto termínem, co to je TRIzol?

Str. 43: ... Proteklou část vylejeme a přidali 500  $\mu$ l pufru.  
Gramaticky nesprávně.

Str. 53, obr. 10

V dotplotu jsou zobrazeny pouze leukemické blasty? Byly klonální přestavby detekovány i v normálních myeloidních buňkách vysortovaných ze vzorků swALL?

Str. 58. „Expresí cytokinových receptorů...“

Nepochybně správně napsáno, ale bylo by vhodné uvést, že se jedná o receptory pro cytokiny M-CSF a GM-CSF, což jsou všeobecně akceptované názvy, jména genů jsou správná, ale matoucí.

### **Obecné otázky:**

Zvýšená exprese CEBP $\alpha$ , CSFR1, CSF2RA je příčina nebo důsledek zvratu do myeloidní linie?

Co přesně znamená, že nebyla zjištěna přestavba TCR u T-ALL (str.55)? V metodách se uvádí, že se stanovoval přestavba TCR $\gamma$ . V těchto nezralých T-blastech tedy není vůbec zrekombinován T-receptor? Exprimují tyto buňky na povrchu TCR $\alpha\beta$ ?

Existují současně přestavby TCR a Ig genů v ALL buňkách? Existuje switch T-B ?