

Oponentský posudek disertační práce „ Buněčná signalizace leukemických buněk a nemaligních B-lymfocytů“

Autor práce: Mgr. Veronika Kanderová

Autor posudku: MUDr. Pavel Otáhal, Ph.D.

Základem předkládané práce je soubor šesti publikací, z toho jsou tři práce přijaté k publikaci (či již opublikované) včetně jedné prvoautorské práce, ostatní tři publikace jsou zaslané k revizi. Společným bodem publikací je studium buněčné signalizace leukemických a normálních B -lymfocytů. Tento soubor prací je doplněn kvalitně zpracovaným literárním úvodem, který přehledným způsobem shrnuje současný pohled na akutní lymfatické leukémie (ALL) a dále detailním popisem použitých experimentálních metod studia. V první části předložené práce se autorka věnuje studiu signalizace u leukemických buněk. Bylo zjištěno, že a) aktivace molekuly CEACAM6 prostřednictvím monoklonální protilátky indukuje apoptózu ALL buněk in vitro, b) adaptorový protein NTAL potencuje glukokortikoidy navozenou apoptózu, ke které dochází po aktivaci povrchového T-buněčného receptoru u T-ALL buněk in vitro. V následující části se autorka věnuje zavedení nových cytometrických technik k detekci důležitých molekul asociovaných s leukemií. Podařilo se zavést (ve spolupráci Dr. Lund -Johansenem, Norsko) jedinečnou metodu „Microsphere-based Flow Cytometry Technology“ kterou lze kvantitativně stanovit cca 2000 proteinů z jednoho vzorku. Tato metoda je využita jednak k diagnostickým účelům, kdy lze stanovit najednou velký počet markerů a dále na vyhledávání nových potenciálně prognostických markerů leukemií. Uvedené dvě publikace v této části se zabývají zejména metodickými postupy a vývojem automatického zpracování dat. Výsledky přesvědčivě ukazují, že se jedná o funkční a naprosto unikátní (a také technicky velmi náročný) postup, který nepochybně vygeneruje v blízké budoucnosti mnoho důležitých poznatků. V poslední části předložené práce se autorka věnuje vývoji a funkční analýze B lymfocytů u pacientů s CVID (kombinovaný variabilní imunodeficit). Výsledky ukazují, že u některých pacientů s CVID lze detekovat dvě populace naivních CD21 neg. B lymfocytů lišících se expresí povrchových antigenů CD24 a IgM (CD24+ IgM+ vs. CD24+++ IgM+++), které odpovídají folikulárním FOI a FOII buňkám popsaným v myším modelu.

Publikace přesvědčivě demonstrují zavedení a zvládnutí řady špičkových a náročných metod a připravenost uchazeče pro případnou další samostatnou vědeckou dráhu. Po formální stránce je práce velmi kvalitně zpracována s minimem chyb. Celkově tedy považuji tuto práci za vyhovující požadavkům kladeným na disertační práce a doporučuji ji k přijetí.

Následují dotazy a podněty pro diskusi:

- 1) Výsledky Microsphere-based Array by bylo užitečné porovnat se standartní metodou, např. vybrat několik „typických“ proteinů a pomocí western -blottingu paralelně stanovit jejich expresi. Byly tyto kontrolní experimenty provedeny a jakým způsobem koreluje úroveň exprese zjištěná oběma způsoby?
- 2) Prostřednictvím Microsphere-based Array lze detekovat změny tyrosinové fosforylace mnoha proteinů současně. Jakým způsobem by se tato analýza provedla a jaké jsou možné problémy?
- 3) U pacientů s CVID bylo popsáno několik buněčných populací s typickým fenotypem, jedná se však v naprosté většině případů o analýzy buněk z periferní krve. Existují podobné populace, které byly popsány v příložené publikaci, také v kostní dřeni nebo v lymfatických orgánech? Jaký je fyziologický význam FOI a FOII buněk?

V Praze, 8.11.2011

Dr. Pavel Otáhal