

Oponent: RNDr. Júlia Starková, Ph.D.

Téma dizertačnej práce: Hľadání polymorfismů v promotorech genů superrodin ABC a SLC transporterů a jejich souvislosti s odpovědí na léčbu imatinibem u pacientů s chronickou myeloidní leukémií

Doktorand: MUDr. Monika Krutská

Školitel: doc. Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Konzultant: MUDr. Hana Klamová, CSc.

Jedná sa o veľmi kvalitne a prehľadne napísanú dizertačnú prácu. Doktorandka si kládla za cieľ identifikovať transportné proteíny z rodín SLC a ABC, ktoré sa môžu podieľať na transporte imatinibu (IM), kľúčového terapeutika v liečbe pacientov s CML. V promótorovej oblasti génov kódujúcich tieto proteíny následne detekovala polymorfizmy v diagnostických vzorkách pacientov s CML. Výsledky korelovala s liečebnou odpoveďou pacientov pomocou parametrov ako molekulárna lieková odpoveď, prežitie bez udalostí, halving time a ďalších. Gén SLC22A4 bol určený ako hlavný kandidát s predpokladanou predikčnou hodnotou. Ďalšou úlohou bolo porovnanie pacientov s rôznymi polymorfizmami v géne SLC22A4 a dĺžkou remisie bez liečby po vysadení IM, čo je momentálne jeden z hlavných cieľov súčasnej terapie. V poslednej časti sa zaoberali vplyvom polymorfizmov na expresiu daných transportných génov.

Dizertačná práca má štandardný rozsah a je rozdelená na abstrakt, teoretický úvod, metódy, výsledky, diskusiu a záver. Celkový počet publikácií, ktoré sa dotýkajú témy projektu sú jedna prvoautorská a tri spoluautorské publikácie. Dizertačná práca sa opiera v hlavnej miere o prvovautorský a jeden spoluautorský článok publikovaný v časopise Leukemia vo februári 2024. Oba články patria do prvého decilu. U spoluautorského článku by som odporúčila v rámci dizertačnej práce uviesť aký bol podiel práce doktorandky na vypracovaní tejto štúdie, a ktorých konkrétnych krokov projektu sa zúčastnila. Práca je po formálnej stránke veľmi dobre spracovaná, obsahuje minimum preklepov, väčšina skratiek je vysvetlených priamo v texte a opiera sa o relevantnú a aktuálnu literatúru.

1) Prvá otázka sa týka vyšetrenia expresie génu pre SLC22A4 a jeho vzťah k polymorfizmu rs460089. Doktorandka vyšetřila patientske vzorky a tiež bunkové línie, ale ani v jednom prípade nenašla koreláciu medzi expresiou génu a prítomnosťou polymorfizmu GG spojeného s horšou MMR, EFS. Predpokladom bolo keďže sa jedná o influxný transportér, že sa jeho expresia bude zvyšovať. Moja otázka sa týka obsahu periférnej krvi, z ktorej bola expresia génu pomocou qPCR detekovaná. V periférnej krvi pri diagnóze CML môžu byť zastúpené jednotlivé bunkové populácie v odlišnej frekvencii a expresia génu pre SLC22A4 sa u nich predpokladám môže líšiť. Zaujímalo by ma či mala doktorandka možnosť sa pozrieť na expresiu tohoto génu v jednotlivých populáciách periférnej krvi ako B, T bunky, granulocyty, monocyty, atď. Tieto merania by prípadne mohli použiť ako referenciu k jednotlivým meraným patientskym vzorkám.

2) Podľa čoho bol robený výber bunkových línií a aký bol zámer porovnať leukemické línie s rozdielnym pôvodom? Vyskytujú sa tam totiž okrem CML línií tiež ALL línie z B a T lymfoidnej rady.

3) CD34+ kmeňové bunky a ich odpoveď na liečbu hrá kľúčovú rolu v ochorení CML. V literárnej rešerši sa doktorandka zmienila o expresii transportéru SLC22A1, ktorého expresia bola veľmi nízka a tiež samotné vychytávanie IM. Zaujímalo by ma či mali možnosť expresiu SLC22A4 vyšetřiť v CD34+ bunkách. V prípade, že by bola jeho expresia podobne nízka, akým spôsobom si vysvetľujú, že polymorfizmus SLC22A4 ovplyvňuje TFR kde predpokladám, že práve Ph+ CD34+ bunky budú zodpovedné za možnú recidívu a expanziu leukemických buniek?

4) Ďalšia otázka sa týka porovnanie odpovede liečby 2. generácie TKI a polymorfizmu rs460089. V závere práce doktorandka navrhuje, že by mohlo byť vyšetrenie polymorfizmu zaradené ako ďalší parameter pri rozhodovaní o prechode z IM na TKI 2. generácie. Mali možnosť korelovať odpoveď TKI 2. generácie a prítomnosť polymorfizmu GG a GC SLC22A4 u pacientov CML? Ako špecifický je SLC22A4 pre IM, je možné, že transportuje aj iné TKI?

5) Posledná otázka sa týka populačnej frekvencie minoritnej alely s polymorfizmom rs460089 v zdravej populácii. Existujú údaje (prípadne ste sami merali) o frekvencii tohto polymorfizmu u zdravých jedincov nášho regiónu (etnika)? Je toto číslo porovnateľné s jeho zastúpením u CML pacientov?

Práca sa zaoberá veľmi aktuálnou témou z oblasti výskumu a liečby CML. Má významný klinický presah, ktorý v budúcnosti môže prispieť k zlepšeniu celkového prežívania pacientov a zvýšeniu ich kvality života.

Táto práca podľa môjho názoru splňuje všetky kritéria kvalitnej vedeckej dizertačnej práce, a preto ju odporúčam k obhajobe.

V Prahe 29.8. 2024

RNDr. Júlia Starková, Ph.D.

Klinika detské hematologie a onkologie

2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova

Praha