

Oponentský posudek disertační práce

Liniová plasticita leukemických buněk

Nový subtyp BCP ALL s liniovým přesmykem

Autorka práce: MUDr. Lucie Slámová

Autor posudku: Mgr. Tomáš Brdička, Ph.D.

Předkládaná práce má klasickou formu uceleného rukopisu, který vychází ze dvou publikací, z toho jedné prvoautorské. Obě práce byly publikovány ve vynikajících zahraničních časopisech (Leukemia a Blood) s impaktovým faktorem blížícím se deseti. K disertaci je pak ještě přiložena publikace v českém časopise Transfuze a hematologie dnes. Všechny publikace souvisejí s tématem disertace a jejich kvalita bez problémů splňuje požadavky oborové rady.

Těžištěm disertace jsou zejména výsledky prvoautorské publikace, která popisuje novou skupinu B prekurzorových akutních lymfoblastických leukemií charakteristickou liniovým přesmykem do monocytoidní linie v časně fázi léčby a označovanou jako „switching“ ALL (swALL). Práce popisuje její incidenci v rámci BCP-ALL, definuje povrchové znaky, klonální příbuznost, a další genetické, epigenetické charakteristiky. Důležitým výsledkem je nález zvýšené exprese myeloidního transkripčního faktoru C/EBP α v buňkách swALL, a hypometylace promotoru C/EBP α , která je za zvýšenou expresi pravděpodobně zodpovědná. Práce se též zabývá vývojem in vitro a in vivo modelů, které by byly vhodné pro sledování liniového přesmyku za kontrolovaných experimentálních podmínek. Druhá publikace se pak zabývá podrobným mapováním povrchových znaků odlišujících zdravé a leukemické buňky a jejich využitím pro diagnostiku pomocí průtokové cytometrie. Pouze jako příloha je zahrnuta třetí práce, která se věnuje detekci leukemických buněk v periferní krvi a mozkomíšním moku, a to zejména v souvislosti se sledováním minimální reziduální nemoci.

Literární úvod je dostatečně podrobný a přiměřeným způsobem shrnuje dosavadní poznatky vztahující se k tématu této práce. Zároveň svědčí o autorčině výborné orientaci v problematice. Použité experimentální postupy jsou popsány v kapitole **Materiál a metody** v rozsahu běžném pro standardní vědecké práce. Je třeba vyzdvihnout, že práce je metodicky poměrně náročná a demonstruje zvládnutí řady špičkových a obtížných metod. **Výsledková část** pak popisuje konkrétní experimenty a jejich výsledky vedoucí k dosažení jasně a srozumitelně formulovaných cílů práce. **Diskuse** v dostatečném rozsahu shrnuje a interpretuje získané poznatky, vysvětluje souvislosti a výsledky uvádí do širšího kontextu. Výsledky experimentů prezentované v této práci i diskuse jsou velmi dobré kvality a jsou v souladu se závěry práce. Velká většina výsledků byla publikována ve vynikajících impaktovaných časopisech, a tak úspěšně tak prošla i nezávislým recenzním řízením. Práce je psána česky a po formální stránce je dobře zpracována a přehledně členěna. Gramatické chyby a překlepy se vyskytují v akceptovatelné míře.

Tuto disertaci lze jako celek hodnotit jako práci vysoké kvality. Přesto mám jako oponent také několik kritických připomínek. Tyto připomínky pak doplňuji i otázkami pro následnou diskusi:

- 1) Pochopení práce do jisté míry ztěžovaly příliš stručné popisky u celé řady obrázků v literárním úvodu a ve výsledkové části. Bylo by určitě lepší, kdyby obrázky byly popsány tak, aby si čtenář nemusel různá fakta domýšlet nebo dohledávat v publikacích, ze kterých byly obrázky převzaty. Konkrétně např. legenda k obr. 6 je zcela nedostačující k jeho pochopení. U Obr. 10, 11, 14 a 15 není jasné, co představují vodorovné čáry v grafech, tedy zda jde o medián, průměr nebo jinou hodnotu. Popis obr. 11 („Vývoj lymfoidních a myeloidních genů v průběhu swALL“) je velmi zavádějící, zřejmě chybí slovo „exprese“. Nepříliš informativní legendy jsou i u některých dalších obrázků a tabulek.
- 2) U obr. 10b z polohy vodorovných čar v grafech usuzuji, že označují hodnoty průměrů pro jednotlivé skupiny. Myslím si, že v tomto případě by bylo mnohem vhodnější použít medián, který není tolik ovlivněn extrémními hodnotami jednoho nebo dvou vzorků.
- 3) V práci jsem nikde nenašel informaci o tom, jaká byla přesná kritéria pro zařazení pacientů do skupiny swALL. Existovala ostrá hranice mezi CD2 pozitivními non-swALL a swALL, nebo šlo spíše o určité kontinuum, kde bylo potřeba hranici stanovit arbitrárně? Z práce vyplývá, že tzv. mezipopulace byla přítomná i u CD2 pozitivních non-swALL. Jaký je váš názor na příbuznost těchto dvou skupin CD2 pozitivních leukemií (CD2⁺ swALL a CD2⁺ BCP ALL bez liniového přesmyku)? Je nějaký praktický nebo klinicky důležitý důvod proč tyto dvě skupiny od sebe oddělovat? Může CD2 hrát nějakou roli v indukci liniového přesmyku?
- 4) U poměrně velké frakce swALL jste pozorovali delece v genu ERG. Pozorovali jste tyto delece také u ostatních CD2 pozitivních BCP ALL?
- 5) Používali jste v experimentech s transplantací swALL buněk do NSG myši i kontrolní leukemické buňky ze skupiny ostatních ALL? Pokud ano, jak se v podobných experimentech chovaly?
- 6) Na str. 11 opakovaně uvádíte, že k léčbě BCR/ABL-like leukemií se používají „tyrosinové inhibitory“. Ve skutečnosti zřejmě jde o inhibitory protein tyrozin kináz.

Závěrem mohu říci, že tuto práci považuji za velmi dobře a na odpovídající úrovni zpracovanou. Publikace, na kterých je tato práce založena, jsou vynikající kvality. Nedostatky, na které upozorňuji v tomto posudku, jsou převážně formálního charakteru a nepovažuji je za podstatné pro celkové hodnocení této práce. **Jsem jednoznačně přesvědčen, že tato disertační práce prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci, a že vyhovuje požadavkům kladeným na disertační práce oborovou radou. Doporučuji tedy, aby na základě této práce byl autorce udělen titul Ph.D.**