

Oponentský posudek na doktorandskou disertační práci RNDr. Mileny Holzerové

Název práce: MOLEKULÁRNĚ CYTOGENETICKÉ STUDIUM CHROMOSOMOVÝCH ZMĚN U LEUKÉMIÍ (Klinický význam cytogenetiky a molekulární cytogenetiky u chronické myeloidní leukémie).

Předkládaná disertační práce RNDr. Mileny Holzerové je založena na detailní molekulárně cytogenetické analýze chromosomových aberací u rozsáhlého souboru dospělých nemocných s chronickou myeloidní leukémií (CML). V úvodní části autorka na základě literárních údajů shrnuje současné poznatky o epidemiologii, klinických a biologických projevech CML a zabývá se rovněž principy terapie tohoto onemocnění včetně moderních léčebných přístupů založených na cíleném využití inhibitorů tyrosinových kináz. Samostatná kapitola je věnovaná chromosomovým aberacím a molekulární patofyziologii CML. Na straně 42 jsou pak jasně formulovány cíle disertační práce, ke kterým patří zejména stanovení frekvence chromosomových změn u nemocných s CML, zhodnocení klinického významu tzv. přídatných chromosomových aberací v Ph-positivních buňkách a zhodnocení úspěšnosti terapie u nemocných s různými cytogenetickými nálezy. K cytogenetické analýze autorka použila metody konvenčního G-pruhování chromosomů a nejmodernější modifikace molekulárně cytogenetických technik včetně mnohobarevné FISH a array CGH. V kapitole věnované výsledkům studie autorka shrnuje a podrobně komentuje cytogenetické a molekulárně cytogenetické nálezy u pacientů v době stanovení diagnózy a v průběhu léčby, posuzuje klinický význam jednotlivých chromosomových změn a hodnotí cytogenetickou odpověď u nemocných léčených různými terapeutickými přístupy. Nedílnou součástí práce je i pět kazuistik, ve kterých autorka popisuje zajímavé nálezy u pacientů, u nichž došlo k manifestaci další malignity kromě CML.

Disertační práce je z pohledu cytogenetika velmi pečlivě zpracovaná a mám k ní pouze několik formálních připomínek, například:

- Čísla obrázků 8 a 9 na str. 23 a 24 nesouhlasí s číslováním uvedeným v textu (v textu uvedena čísla 9 a 10)
- V kapitole Obecná charakteristika souboru na str. 51 nesouhlasí součty mužů a žen s celkovým počtem nemocných léčených imatinibem v 1. a 2. linii léčby
- V tabulce 6 na str. 44 a v tabulce 9 na str. 51 jsou uvedeny rozdílné počty pacientů léčených alogenní transplantací a jiným typem terapie
- V některých popisech karyotypů v tabulkách s výsledky jsou drobné chyby v ISCN nomenklatuře (např. pořadí klonů, specifikace zlomových míst, zápis některých aberací), atd.

Uvedené nedostatky jsou však převážně formálního charakteru a významně nesnižují odbornou kvalitu předkládané práce. Práce je přehledně členěná, má 115 stran textu a je doložena velkým množstvím citací použité literatury (celkem 125 referencí), které svědčí o širokém rozhledu autorky v dané problematice. Je doplněna ilustrativními obrázky, tabulkami, grafy a seznamem použitých zkratek, v závěru je přiložen anglický souhrn. Součástí práce je rovněž přehled autorčiny publikační aktivity.

RNDr. Holzerová je první autorkou práce, která byla publikována v zahraničním impaktovaném časopise a ve které hodnotí účinnost léčby imatinibem u 72 nemocných s Ph-positivní CML a různými cytogenetickými nálezy. Na dalších třinácti publikacích se Dr. Holzerová podílela jako spoluautorka (z toho 9x v časopise s IF a 4x v recenzovaném časopise). Kromě toho byla autorkou patnácti přednášek a deseti posterů presentovaných na vědeckých konferencích v ČR i v zahraničí.

Doktorandky bych se chtěla zeptat, jaký je její názor na perspektivu konvenční cytogenetické analýzy při diagnostice CML a dalších hematologických malignit zejména v souvislosti s rychlým rozvojem nových molekulárně cytogenetických a molekulárně biologických metod.

Závěr: Předkládaná disertační práce má dobrou odbornou úroveň. Zvolené téma je aktuální a pro onkohematologii velice přínosné. Práce zdůrazňuje význam cytogenetických nálezů nejen pro stanovení přesné diagnózy a prognózy u pacientů s CML léčených podle nejmodernějších léčebných protokolů, ale i pro sledování klonálního vývoje a hodnocení úspěšnosti terapie. Použité metodiky jsou moderní a tematicky práce navazuje na současné výsledky zahraničních studií. Pracovní kolektiv, ve kterém Dr. Holzerová působí, patří v oblasti molekulárně cytogenetické diagnostiky hematologických malignit k nejlepším v republice, o čemž svědčí i řada výzkumných projektů, které na pracovišti jsou nebo byly úspěšně řešeny a na kterých se doktorandka aktivně podílí. Dosavadní odborná činnost RNDr. Holzerové jednoznačně prokazuje, že autorka má všechny předpoklady k samostatné vědecké práci.

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem doporučuji postoupení disertační práce k obhajobě před komisí a v případě, že bude úspěšně obhájena, doporučuji RNDr. Mileně Holzerové udělit akademický titul Ph.D. podle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc.
Centrum nádorové cytogenetiky
Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky
Všeobecná fakultní nemocnice a 1.LF UK v Praze
U nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Universita Palackého v Olomouci
Lékařská fakulta,
referát vědy a výzkumu,
K rukám paní Evy Řehulkové
Děkanát
tř.Svobody 8
771 26 Olomouc

Oponentský posudek na disertační práci: **RNDr. Mileny Holzerové** s názvem:

Molekulárně cytogenetické studium chromosomových změn u leukémií (Klinický význam cytogenetiky a molekulární genetiky u chronické myeloidní leukémie).

Hodnocena byla disertační práce o rozsahu 144 stran, seznam literatury obsahuje 125 literárních odkazů. Práce je rozdělena na standardní úseky a obsahuje všechny náležitosti včetně seznamu zkratk a klíčových slov, obahu, souhrnu, závěrů, seznamu literatury. Proporce délky hlavních úseků (úvodu, metodické části, výsledků, diskuse) je přiměřená.

Hlavním předmětem disertační práce RNDr. Holzerové bylo sledovat a zhodnotit, jak různé cytogenetické změny u nemocných s CML v době stanovení diagnózy a v průběhu léčby klg, ovlivňují prognózu těchto nemocných, zvláště pak v dlouhodobém aspektu.

Úvod je sepsán metodicky a přehledně, RNDr. Holzerová předkládá v této kapitole široký rozhled v oblasti řešené problematiky, v seznamu literatury uvedeno celkem 125 literárních odkazů. Nedříve jsou uvedeny obecné informace (skutečnosti) o krvetvorbě a jejím řízení, leukémiích, podrobnější je pak výklad, týkající chronické myeloidní leukémie, její diagnostiky, léčby. Největší část této kapitoly je věnována cytogenetice a molekulární genetice CML. Doprovodné obrázky, schémata, fotografie jsou pěkné a vhodně vybrané.

Cílem disertační práce bylo vyšetření souboru nemocných s CML, stanovení typu a frekvence chromosomových změn metodami klasické a molekulární cytogenetiky, analýza těchto výsledků na základě nalezených cytogenetických změn, dále pak analýza výskytu a významu přídatných chromosomových změn, včetně analýzy zajímavých případů nemocných s CML a statistické vyhodnocení klinického významu nalezených genetických změn.

Materiály a metodika: Soubor pacientů (256 nemocných) popsán přehledně v podobě tabulek a grafů, stejně tak vyšetřovací cytogenetické a molekulárně cytogenetické metody včetně příprav sond, statistická analýza.

Výsledky jsou udávány také zcela jasně a přehledně, systematicky shrnovány do příslušných tabulek a grafů v podobě cytogenetických vyšetření při stanovení diagnózy a také v průběhu léčby imatinibem v 1. linii, ve 2. linii, po TKB a jiné léčbě. Velmi zajímavých je také několik kazuistik pacientů. Hodnocení léčebné odpovědi ve skupinách podle typu léčby a dle cytogenetických nálezů je velmi podrobné a

svědčí pro patrné rozdíly prognostického významu v jednotlivých hodnocených skupinách pacientů. Také hodnota P jasně vypovídá o statistické signifikanci výsledků. Výsledky přinášejí zajímavé poznatky. Možno tedy konstatovat, že veškeré cíle práce byly splněny.

Celkově lze říci, že se jedná o pěknou disertaci, která vypovídá o širokém a uceleném přehledu kandidátky v dané, sledované oblasti, o zvládnutí moderní cytogenetické metodiky a správné interpretaci získaných výsledků, které jsou velmi zajímavé také z pohledu klinika, tedy lékaře. Práce je také příkladem efektivní spolupráce cytogenetika s lékařem.

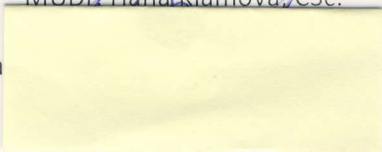
Také formální stránka práce je v pořádku, stejně tak jazyková úroveň disertační práce.

Nejdůležitější výsledky práce (publikace související s disertační prací) byly otištěny ve 2 zahraničních časopisech s IF, přednesena 4 sdělení, 2 posterová sdělení, následují ostatní původní vědecké publikace uveřejněné v časopisech s IF 8x, původní vědecké publikace v recenzovaných vědeckých časopisech 4x, přednášky 11x, další posterová sdělení v počtu 8x.

Na základě uvedených skutečností lze shrnout, že disertace jednoznačně prokazuje předpoklady RNDr. Holzerové k samostatné vědecké práci a k obhájení titulu Ph.D. za jménem. I

V Praze dne 31.3.2011

MUDr. Hana Klamová, CSc.

Ústa  ze, Praha

128 20 Praha 2 - Nové Město
(36)