

Vážená paní
doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D.
předsedkyně oborové rady
Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie
děkanát 1 LF UK v Praze

V Praze dne 6. listopadu 2020

Věc: Školitelský posudek na doktorskou disertační práci "Genetické a epigenetické mechanismy (a jejich kooperace) v procesu leukemogeneze akutní myeloidní leukémie dospělých" Ing. Šárky Šestákové

Disertační práce byla vypracována v rámci postgraduálního doktorského studia biomedicíny na výzkumném úseku Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze. Je zaměřena na studium methylačních změn DNA pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML).

V úvodu diplomantka demonstruje hlubokou znalost komplexního spektra molekulárně genetických změn účastných v procesu leukemogeneze AML. Popisuje prognosticky relevantní genové aberace. Zvláštní pozornost věnuje mutacím v genech regulujících stupeň methylace DNA a dalším faktorům ovlivňujícím epigenom leukemických buněk.

Původní vědeckou práci diplomantka člení do tří kapitol. V první části se věnuje studiu epigenetických změn u pacientů s AML s mutacemi v genech *DNMT3A* a *IDH1* nebo *IDH2*. Popisuje specifický methylační a hydroxymethylační profil u pacientů s mutacemi v genech pro oba enzymy. Všímá si obecně nízké míry hydroxymethylace DNA u pacientů s AML. Popisuje negativní prognostický vliv hypermethylace genu *GZMB* na přežití pacientů. Současně ukazuje, že míra methylace genu *GZMB* nekoreluje s jeho expresí.

V druhé části práce srovnává čtyři metody relevantní pro studium methylace DNA. Pyrosekvenování a methylačně specifická high-resolution melting analýza byly vyhodnoceny jako optimální metody, především z důvodu spolehlivosti na všech úrovních intenzity methylace.

Ve třetí části diskutuje výsledky sekvenační analýzy pomocí vlastního DNA methylačního panelu a podrobuje je kritickému srovnání s publikovanými daty jiných autorů. Ing. Šestáková sama navrhla prognostický model MethScore odrážející stupeň methylace ve všech genových lokusech

signifikantních v regresní analýze. Hodnota MethScore byla identifikována jako významný prognostický faktor pro přežití pacientů s AML jak obecně, tak i v geneticky heterogenní kohortě pacientů se středním rizikem. Jako taková má potenciál pro uplatnění v prognostických klinických modelech dosud běžně zohledňujících pouze cytogenetické aberace a genové mutace.

Získané poznatky a výsledky jsou ve všech částech práce doprovázeny detailní a kritickou diskusí s odkazy na relevantní a aktuální vědeckou literaturu.

Ing. Šestáková prokázala v celém průběhu řešení vysoký stupeň samostatnosti a nezávislého vědeckého myšlení. Má výjimečné teoretické znalosti, precizně formuluje dílčí vědecké hypotézy. Suverénně ovládla metodiku studia expresních a methylačních profilů, samostatně navrhovala sekvenační panely pro platformu NGS, získaná komplexní sekvenační data sama zpracovávala pokročilým statistickým softwarem.

V průběhu doktorského studia se aktivně zúčastnila řady mezinárodních i domácích vědeckých konferencí. Její příspěvek na Pražském hematologickém dni v roce 2019 byl odměněn cenou za nejlepší vědeckou práci mladých badatelů. Z pozice první autorky publikovala dvě původní vědecké práce v impaktovaných časopisech. V současné době finalizuje manuskript věnovaný sekvenačním analýzám a MethScore.

Z výše uvedených důvodů předkládanou práci hodnotím velmi pozitivně a oborové radě dávám jednoznačné doporučení k její obhajobě.


MUDr. Mgr. Cyril Šálek, Ph.D.
školitel