

V Praze 31. srpna 2022

Oponentský posudek disertační práce MUDr. Barbory Vagrmanové *Liniová plasticita leukemických buněk*

K obhajobě byla předložena disertační práce, která původními výsledky zásadně přispívá k poznání fenoménu liniové plasticity leukemických buněk. Diplomantka si všímá četnosti tohoto jevu u jednotlivých podtypů akutní lymfoblastické leukémie (ALL), které byly recentně identifikovány technikou vysoce výkonného sekvenování nové generace (NGS). Přináší výsledky mezinárodní retrospektivní analýzy 233 dětských subjektů s leukémií nejasné linie s cílem nalézt optimální algoritmus léčby této vzácné formy leukémie. Uvědomuje si problém kvality aspirátů kostní dřeně a efektivně přispívá k vývoji přesnější metodiky pro její hodnocení.

Projekty, na nichž MUDr. Barbora Vagrmanová v rámci doktorského studia pracovala, byly realizovány v laboratoři Childhood Leukemia Investigation Prague (CLIP) při Klinice dětské hematologie a onkologie 2. LF UK. Autorský podíl diplomantky na jednotlivých projektech je zřetelně definován. Dizertační práce vznikla v tvůrčí vědecké atmosféře laboratoře CLIP a odráží inspirativní a angažované vedení školitelkou MUDr. Ester Mejstříkovou, Ph.D.

Cíle své práce definuje následovně:

1. vytvořit algoritmus pro volbu optimálního typu léčby u leukémií z buněk nejasné linie;
2. popsat fenomén časného přesmyku akutní lymfoblastické leukémie do monocytární leukémie se zvláštním zřetelem ke genetickému pozadí a dynamice změn imunofenotypu;
3. popsat plasticitu leukemických buněk po anti-CD38 cílené léčbě daratumumabem;
4. posoudit klinický význam hodnocení léčebné odpovědi v kostní dřeni již v osmý den léčby dětské ALL;
5. vytvořit novou metodu posuzování kvality aspirátů kostní dřeně nezávislou na hodnocení počtu progenitorových buněk.

V metodické části diplomantka prokazuje ovládnutí konvenčních i experimentálních imunofenotypizačních metod, včetně spektrální a hmotností cytometrie. Práce svědčí o hlubokém vhledu do principů genetických metod pro měření minimální reziduální nemoci (MRN) u ALL, včetně NGS a RNA sekvenování. Zásadních výsledků diplomantka dosahuje díky prokázaným analytickým schopnostem při práci s multidimenzionálními daty.

K zásadním přínosům dizertační práce patří:

- podíl na přípravě na důkazech založeného algoritmu pro volbu konkrétního typu léčebného protokolu u dětských pacientů s leukémií z buněk nejasné linie, včetně zjištění, že tito pacienti neprofitují z plošně indikované intenzifikace léčby – navržený algoritmus je nyní testován v mezinárodním prospektivním klinickém hodnocení;

- zjištění, že fenotypický přesmyk je častěji zaznamenán u leukémií s mutací *PAX5-P80R*, přestavbou *DUX4r* a *ZNF384r*, a objasnění fenoménu, proč u těchto genetických podtypů dochází k diskordancím při měření MRN metodou průtokové cytometrie a qPCR;
- popis jedinečných transdiferenciačních procesů specifických pro leukémie s mutací *PAX5-P80R*, přestavbou *DUX4r* a *ZNF384r* odhalených metodou hmotnostní cytometrie;
- doporučení monitorovat MRN u pacientů po léčbě daratumomabem pomocí polyklonální multiepitopové protilátky anti-CD38;
- navržení nové metody, která na bázi průtokové nebo spektrální cytometrie umožňuje hodnotit kvalitu aspirátů kostní dřeně nezávisle na přítomnosti prekurzorových buněk, a použitelné tedy i v materiálu získaném aspirací aplastické kostní dřeně.

K tématu disertační práce diplomantka publikovala 4 původní práce v časopisech s impact faktorem (úhrnný IF = 32,99), z toho u dvou publikací ve formě krátkého sdělení a dopisu editorovi je první autorkou. Třetí prvoautorskou publikaci se zásadními vědeckými výsledky přiložila jako rukopis v přípravě. Citační ohlas na Web of Science čítá 52 citací.

Po formální stránce je práce standardně strukturována. Výsledky jsou formulovány srozumitelně a velmi pěkně a názorně zpracovány i obrazově a graficky. Práce odkazuje na 69 literárních pramenů, nejmladší práce má v roce 2022. Důkazem komplexního prostudování relevantních pramenů jsou literární odkazy uvedené u jednotlivých originálních publikací, které tvoří přílohy disertace. Práce, bohužel, nepřispívá ke kultivaci češtiny coby jazyka odborného medicínského diskursu. Četné překlepy i hrubé gramatické chyby nelze označit jinak než za ostudné. Odborné kvality práce jsou však jednoznačné, a proto formální nedostatky v závěrečném hodnocení nezohledňuji.

Otázky k obhajobě:

1. V práci popisujete transdiferenciaci leukemických buněk z lymfoidní linie do myeloidní. Pozorovala jste nebo byl popsán i proces opačný, kdy by myeloidní blasty diferencovaly do lymfoidní linie? Jak častý je tento fenomén a existují nějaké poznatky k jeho genetickému pozadí?
2. Současné protokoly pro léčbu dětské ALL počítají s intenzifikací léčby u pacientů s nedostatečnou MRN odpovědí. Jak hodnotíte MRN u BCP-ALL s monocytárním přesmykem? Na základě jakých faktorů u těchto pacientů rozhodujete o indikaci léčby blinatumomabem?
3. V práci podrobně popisujete obtíže s monitorací MRN u pacientů léčených daratumomabem. Jaké další hematologické testy jsou ovlivněny interferencí s anti-CD38 protilátkou?
4. V dopise editorovi časopisu *Leukemia & Lymphoma* označujete leukemickou nálož přítomnou osmý den léčby v kostní dřevě jako MRN. Je užití tohoto termínu adekvátní v situaci, kdy medián počtu blastů je 24 %?

Práci jako celek hodnotím jako zdařilou. Splňuje požadavky standardně kladené na disertace v oboru biomedicíny. MUDr. Barbora Vákrmanová prokázala ovládnutí široké škály relevantních laboratorních metod, tvůrčí přístup k řešení problémů i kritické myšlení. Předloženou disertační práci proto doporučuji oborové radě k obhajobě. Po řádném vykonání obhajoby doporučuji, aby byl MUDr. Barboře Vákrmanové udělen titul Ph.D.