



Oponentský posudek disertační práce

Mgr. Monika Belíčková

Studijní program Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie, 1. LF UK v Praze

Myelodysplastický syndrom – hledání molekulární podstaty

Školitel: Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc., Praha, 2017

Molekulární podstata vzniku, progrese, genetické predispozice a odpovědi na léčebné intervence u myelodysplastického syndromu (MDS) nejsou dosud objasněny. Mgr. Monika Belíčková se s využitím moderních molekulárně-genetických přístupů zabývá právě procesy podílejícími se na vzniku, rozvoji a odpovědi na léčbu u MDS.

Předložená disertační práce Mgr. Moniky Belíčkové je zaměřena na charakterizaci možných molekulárních mechanismů vedoucích ke vzniku a progresi MDS, na charakterizaci expresního vzorce, který by mohl predikovat odpověď k hypometylační léčbě MDS a na molekulární charakterizaci genetických variant predisponujících k rozvoji MDS.

Mgr. Belíčková je hlavní autorkou a spoluautorkou celé řady publikací z oblasti molekulární genetiky hematologických malignit, s celkovou vysokou citovaností (dle WOS přes 500 citací), řada z těchto publikací se více nebo méně vztahuje k tématu její disertace, uchazečka se nicméně v disertaci drží striktně vytyčených cílů a vědeckých hypotéz a předkládá a diskutuje jen tři prvoautorské práce, publikované v časopisech *Oncotarget* (v r. 2016), *International Journal of Hematology* (z r. 2016) a *Journal of Hematology & Oncology* (z r. 2013).

Laboratoř školitele doc. Čermáka na ÚHKT vytvořila pro řešení vědeckých otázek a hypotéz disertace Mgr. Belíčkové vynikající zázemí, hlavně ve smyslu charakterizovaných klinických souborů pacientů a dostupnosti cenného klinického materiálu. Velká část experimentální práce Mgr.



Beličkové byla provedena na izolovaných buněčných populacích pacientů, zvláště na CD34-pozitivních hematopoetických progenitorech.

Předložená disertační práce je tedy z hlediska řešených vědeckých otázek a experimentální práce ucelené dílo. Práce je členěna standardně na úvod, hypotézy (cíle práce), literární přehled problematiky, materiál a metody, výsledky, diskusi a shrnutí. Práce není jen krátkým komentářem k souboru publikací, ale prezentuje a komentuje primární experimentální data, která sloužila jako podklad pro zmíněné tři prvoautorské publikace Mgr. Beličkové.

Formální uspořádání práce tedy považuji za zdařilé a logické, autorka se však nevyvarovala drobných překlepů a více méně formálních chyb. Za největší formální nedostatek ale považuji to, že disertační práce neobsahuje kapitolu „Přílohy“, ve které by autorka přiložila příslušné publikace, které jsou podkladem disertace, včetně suplementárních dat těchto publikací. Je přece logické, že jako oponent chci vidět a přečíst originály příslušných publikací a chci mít možnost nahlédnout do případných suplementárních dat, které jsou nedílnou součástí těchto publikací. Proč je autorka nepřikládá, a nechává na oponentovi, aby si je sám vyhledal?

Zmíněné tři publikace přinášejí velké množství primárních dat (microarray analýzy, SNP array analýzy); data byla pro účely publikací analyzována vhodnými statistickými metodami a v publikacích komentována, nicméně některým zajímavým výsledkům se v publikacích nebylo možné podrobně věnovat. To umožňovala právě disertační práce, ale ani ve vlastní disertaci se autorka k řadě zajímavých primárních dat dále nevyjadřuje, a v textu disertace víceméně kopíruje příslušné kapitoly „Results“ a „Discussion“ příslušných publikací. Řada experimentálních sérií a interpretace jednotlivých výsledků by vyžadovala rozsáhlou vědeckou diskusi, a předpokládám, že (alespoň některé) z primárních experimentálních dat budou podkladem k dalším vědeckým projektům. Za nejzajímavější a nejoriginálnější práci považuji recentní publikaci z Int J Hematol (2016), ve které autorka se spolupracovníky definuje expresní signaturu nemocných, kteří jsou



vhodnými kandidáty na léčbu azacitidinem a kteří naopak nejsou vhodnými kandidáty na léčbu azacitidinem.

Otázky oponenta:

K disertační práci mám několik odborných otázek do diskuse:

1. V práci publikované v *Int J Hematol* (2016) jste dospěli k zajímavým závěrům, že zvýšené hladiny exprese některých ribosomálních genů a pseudogenů u nemocných s MDS jsou asociovány se špatnou/chybějící odpovědí na léčbu azacitidinem. Toto zjištění dáváte do souvislosti s hypotézou Dr. Mosse, že DNA metylace rRNA genů a jejich transkripční utlumení je hlavním cílem demetylační terapie azacitidinem a že DNMT inhibitor v nádorových buňkách zřejmě cílí především ribosomální biogenezi (a nezpůsobuje primárně domnělou znovu-navozenou expresi metylací utlumených tumor-supresorových genů). Z publikace vaší práce však není jasné, jestli jste na klinických vzorcích vašich nemocných potvrdili tato experimentální pozorování (dr. Moss pracuje především na modelových systémech). Uvádíte sice Vennův diagram znázorňující počet deregulovaných genů po léčbě azacitidinem (u respondentů i non-respondentů), ale již nespecifikujete, jestli mezi těmito geny po léčbě AZA u kterékoliv skupiny dominovala (nebo byla alespoň výrazně zastoupena) zvýšená exprese ribosomálních genů/pseudogenů. Prosím o vysvětlení a specifikaci v diskusi.
2. Podobných asociačních studií, jako vaše publikovaná v *J Hematol Oncol*. (2013) existuje několik, většina z nich byla publikována ve stejné době nebo později jako vaše studie. Zdá se, že vesměs se tyto studie shodují, že germinálními genetickými variantami predisponujícími k rozvoji MDS jsou varianty genů opravy poškozené DNA a oxidačního stresu resp. genů enzymů zabezpečujících ochranu proti oxidačnímu stresu. Zajímavé však je, že konkrétní genetické varianty se v jednotlivých studiích liší – např. polymorfizmy v genech GPX1, OGG1 a SOD2 byly zjištěny jako asociující s predispozicí k MDS (Gonçalves AC, et al, *Mol Carcinog*. 2017), zatímco vy jste z této skupiny zjistili asociaci



germinální varianty genu GPX3. Přitom ve vašem panelu vyšetřovaných variant byly polymorfizmy zmíněných genů GPX1, OGG1 a SOD2. Analogicky, zatímco více studií uvádí korelaci mezi rizikem vzniku MDS a genetickými variantami RAD51, vy jste našli asociaci s genetickou variantou RAD52. Čím si tyto rozdíly v konkrétních asociovaných genetických variantách vysvětlujete?

Celkové hodnocení:

Disertační práci Mgr. Moniky Beličkové považuji za zdařilé experimentální a intelektuální dílo. Přináší nové poznatky ve vysoce kompetitivní oblasti molekulárně-genetického výzkumu faktorů řídících a ovlivňujících vznik, progresi a odpověď na léčbu MDS. Současně přináší práce Mgr. Beličkové řadu dalších vědeckých otázek, na jejichž řešení může v budoucnu pracovat nejen ona sama, ale i její spolupracovníci a případní studenti. Mgr. Beličková předložila disertační práci, která svědčí o její schopnosti samostatně vědecky pracovat i o talentu pro aplikovaný molekulárně-biologický výzkum.

Závěr:

Svým rozsahem a obsahem odpovídá předložená disertace nárokům kladeným na tento typ prací ve smyslu zákona č. 111/1998 Sb., prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci, a proto ji doporučuji k obhajobě a v případě, že obhajoba proběhne úspěšně, doporučuji udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D.

V Olomouci 6. 9. 2017

Doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.
Ústav biologie LF UP
Olomouc

Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
Doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.
tel.: +420 585 632 151
e-mail: vladimir.divoky@upol.cz
www.lf.upol.cz