



Oponentský posudek

disertační práce Mgr. Moniky Belíčkové

"Myelodysplastický syndrom – hledání molekulární podstaty"

Školitel: Doc.MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

Předložená dizertační práce Moniky Belíčkové na téma „**Myelodysplastický syndrom – hledání molekulární podstaty**“ si klade za cíl analýzu tří následujících aspektů molekulární biologie, progresu a odpovědi na léčbu u myelodysplastického syndromu:

1. výskyt mutací v genu *TP53* u pacientů s myelodysplastickým syndromem (MDS) s nízkým rizikem a zhodnocení jejich prognostického významu
2. identifikaci molekulárních znaků, které by mohly predikovat léčebnou odpověď na azacytidin (AZA)
3. analýzu jednonukleotidových polymorfismů (SNP s) které by mohly souviset s MDS přímo nebo by byly ve vazebně nerovnováze se skutečnou kauzální alelou.

Předložená práce je zpracována na 88 stranách a rozdělena na pět hlavních oddílů. V první části je zvykle uveden literární přehled etiologie a patogeneze MDS. Obsahem dalších tří kapitol jsou výsledky práce autorky týkající se tří výše uvedených cílů. V pátém a šestém oddílu je diskuze a závěry k jednotlivým třem cílům a závěrečný souhrn. Seznam literatury čítá 132 citací. V závěru práce je uveden seznam vlastních publikací autorky: 3 publikací v časopisech s impakt faktorem (IF), které shrnují výsledky práce ve třech zkoumaných oblastech, a dále seznam 19 publikací s IF a jedné v tuzemském časopise bez IF. Jedná se o práce s tématem myelodysplastického syndromu, které se částečně dotýkají analyzované problematiky. V jedné publikaci je autorka práce hlavním autorem, v 19 pracích spoluautorem. Reprinty originálních prací autorky publikovaných v časopisech s impakt faktorem bohužel nejsou přiloženy, autorka je však předložila v elektronické podobě na vyzvání oponenta.

Teoretická část

V úvodní teoretické části jsou na 3 stranách stručně shrnuta základní fakta o etiologii, incidenci, klinických projevech a diagnostice MDS. Na dalších 5 stranách je podrobně shrnuta nová klasifikace MDS z roku 2016 a prognostické skórování, které se dotýká vyčtených témat. Krátce je komentována strategie léčby. Největší pozornost je potom věnována patogenezi MDS, která úzce souvisí s tématy

práce, a to především cytogenetickým ale i molekulárně-genetickým aspektům. Teoretická část je velmi dobře doplněna tabulkami a schématy.

Praktická část

Experimentální část zpracovaná na 44 stranách zahrnuje charakteristiku souboru pacientů a dostatečně podrobný popis metod, které byly použity k dosažení vytyčených cílů. U každého ze tří dílčích cílů je na závěr uvedena diskuze.

Výsledky

Téma 1: autorka prokázala signifikantně vyšší zastoupení mutací v genu *TP53* u pacientů s *del(5q)* ve srovnání s pacienty bez *del(5q)* (23,6 % versus 3,8 %). Multivariantní analýzou bylo prokázáno, že mutace v genu *TP53* (HR 3,7) je nejsilnější prognostický faktor pro celkové přežití (OS), tak i pro přežití bez progresu (PFS) a že malé *TP53*-mutované subklony nemají stejný nepříznivý prognostický dopad na OS a PFS u pacientů s nižším rizikem MDS tak jako klony s vysokou mutační zátěží. Byla zjištěna korelace ve velikosti mutovaného klonu mezi buňkami izolovanými z periferní krve a kostní dřeni. Autorka dochází k závěru, že určování mutací v genu *TP53* u pacientů s nízkým rizikem MDS by mělo být prováděno rutinně v době stanovení diagnózy, v průběhu choroby a před zahájením léčby.

Téma 2: při identifikaci markerů, které by mohly predikovat léčebnou odpověď na AZA, byla identifikována zvýšená exprese několika ribozomálních genů u pacientů bez odpovědi před zahájením léčby AZA, což může být odrazem intenzivní proteosyntézy v proliferativních/neoplastických buňkách a tím i příčinou selhání léčby AZA.

Téma 3: bylo nalezeno 9 bodových polymorfismů, které souvisely s MDS fenotypem. Z toho tři SNPs jsou lokalizovány v DNA reparačních genech (*LIG1*, *RAD52*, *MSH3*) a jeden SNP v genu, který chrání buňky před oxidačním poškozením (*GPX3*). Dále byly identifikovány dva SNP s (*ROS1*, *STK6*), jejichž genotyp byl asociován s celkovým přežitím pacientů. Tyto geny by se mohly podílet na vzniku MDS.

Komentář oponenta

Téma dizertační práce zaměřující se na molekulární analýzu některých aspektů patogeneze, progresu a odpovědi na léčbu u MDS je velmi zajímavé a aktuální a je v literatuře široce diskutováno. Dizertační práce předkladatelky je logicky velmi dobře sestavena. Soubor vyšetřených pacientů s MDS je reprezentativní, cíle jsou jasné, použité metody precizně popsány, jsou použity adekvátní statistické analýzy. Práci lze vytknout pouze to, že se autorka nevyvarovala drobných chyb a překlepů v textu a nepřiložila reprinty tří publikovaných prací zpracovávající jednotlivá témata.

Práce autorky, která se problematikou MDS zabývá již dlouhodobě, přináší rovněž nové a velmi zajímavé informace pro hematologickou veřejnost. O originalitě, aktuálnosti a významu práce svědčí i publikace prací autorky v kvalitních časopisech s impakt faktorem, z nichž některé jsou známé velmi

tvrdým recenzním řízením.

Dotazy oponenta

1. Mutace genu *TP53* vedoucím ke ztrátě funkce proteinu obecně vedou ke zvýšení rizika vzniku maligního bujení. U nově definované skupiny chorob – ribozomopatií – způsobených poruchami funkce ribozomů, jejímž prvním reprezentantem je Diamondova-Blackfanova anémie, dochází naopak v důsledku ribozomálního stresu k aktivaci p53 proteinu. Je zajímavé, že i u této skupiny chorob je popisováno zvýšené riziko vzniku maligních onemocnění, především MDS a akutní myeloidní leukémie. V posledních letech se dokonce diskutuje o možném použití azacytidinu u pacientů s Diamondovou-Blackfanovou anémií. Dokázala by autorka vysvětlit tento zdánlivý paradox?
2. MDS del5q je v dnešní době řazena rovněž mezi ribozomopatie, protože v deletované oblasti je zahrnut i gen kódující ribozomální protein RPS14. Mohl by se ribozomální stres podílet na vyšší frekvenci vzniku mutací genu *TP53* v této skupině pacientů?
3. Setkala se autorka ve svém souboru s pacienty s germinálními mutacemi genu pro transkripční faktory jako *RUNX1*, *EVII* nebo *ETV6*? U pacientů s těmito germinálními mutacemi je popisována vrozená trombocytopenie a vysoké riziko vzniku MDS, AML, které mohou být prvními klinickými manifestacemi těchto vrozených trombocytopenií.
4. Které SNPs publikované v literatuře a/nebo nalezené v rámci práce považuje autorka z dnešního pohledu za nejvýznamnější pro prognózu pacientů s MDS?

Závěr oponenta

Téma dizertační práce je aktuální a výsledky jsou velmi zajímavé pro hematologickou veřejnost. Celkově hodnotím práci jako výbornou, svědčící nejen o dlouhodobé práci v oblasti MDS a hluboké znalosti problematiky, ale především o vynikající schopnosti autorky samostatné vědecké práce. Výsledkem práce jsou důležité a originální objevy, které byly publikovány v prestižních hematologických časopisech, přinášejí nové informace v této oblasti. O významu výsledků práce svědčí přijetí prací autorky do kvalitních časopisů s IF.

Dizertační práce Mgr. Moniky Beličkové splňuje všechna kritéria pro úspěšné obhájení práce a udělení akademického titulu Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb. Po úspěšné obhajobě doporučuji udělení titulu.

V Olomouci 6.9.2017

Prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D.

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc