



2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Oponentský posudek doktorské disertační práce MUDr Mohameda Ashraf Khalil Abdel-Rahmen

Název práce: **Epigenetic and Cytotoxic Effect of Histone Deacetylase Inhibitors on Combination with Cytostatics on Neuroblastoma (Epigenetické a cytostatické účinky inhibitorů histondeacetyláz v kombinaci s cytostatiky na buňky neuroblastomu).**

Předložená disertační práce je zaměřena na studium mechanismu působení vybraných inhibitorů enzymů histondeacetyláz a cytostatik na buněčné nádorové linie neuroblastomů. Zabývá se především účinkem kyseliny valproové (VPA) v kombinaci s cytostatiky na neuroblastomové buněčné linie.

V práci byl podrobně studován především synergistický účinek VPA s DNA poškozujícími cytostatiky podmíněný indukcí apoptózy závislé na aktivaci kaspázy-3. Tento synergismus byl ve vztahu ke zvýšení acetylace histonů H3 a H4 a byl přítomný pouze při současné inkubaci VPA a cytostatika nebo při inkubaci s DNA poškozujícím cytostatikem následované inkubací s VPA. Dále se práce detailně zabývá indukcí exprese CD133 pomocí VPA v závislosti na metylaci promotorů CD133 P1 a P3.

V práci je obsaženo a diskutováno poměrně velké množství výsledků ve formě grafů, ale není zcela jasný podíl doktoranda na těchto aktivitách, předložené publikace jsou autorstvím několika autorů. Nedostatkem shledávám, že z formulovaných výsledků disertační práce nelze jednoznačně určit, které jsou výstupem práce doktoranda a co je dílem kolektivu.

Anglicky psaná disertační práce v rozsahu 104 stran a čerpá ze 173 literárních zdrojů.

Vlastní práce je rozčleněna do 6 kapitol, které zahrnují teoretický úvod. Dále jsou uvedeny cíle disertační práce, použitá metodika, výsledky, diskuze a závěrečné shrnutí. Zásadní kapitoly jsou přehledně členěny na řadu podkapitol.

Cíle práce jsou jasně definovány, vyplývají z informací v úvodní části textu a byly splněny.

Literární přehled je vhodně strukturovaný a pokrývá problematiku, na kterou je zaměřena experimentální část práce.

V metodické kapitole je uveden přehled metod, které byly použity ke studiu dané problematiky, doplněný o odkazy na původní literaturu i autorovy publikace.





2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Výsledková část popisuje všechny provedené experimenty. Většina výsledků uvedených v disertační práci je součástí tří prací, které byly publikovány v recenzovaných časopisech s impakt faktorem, což potvrzuje originalitu získaných dat.

Mezi hlavní a originální výsledky patří, že:

- 1) synergistický účinek VPA s DNA poškozujícími cytostatiky podmíněný indukci apoptózy závislé na aktivaci kaspázy-3
- 2) VPA zvyšuje acetylaci histonů H3 a H4 v použitých neuroblastomových liniích a tím potencuje účinek studovaných cytostatik cílených na buněčnou DNA a u buněčné linie UKF-NB-3 také zvyšuje expresi proteinu CD133, který je dáván do souvislosti se zvýšenou chemorezistencí nádorových buněk.
- 3) Exprese CD133 u NB je regulována acetylací histonů a / nebo metylací promotorů a může být tedy ovlivněna VPA. VPA u NB může indukovat CD133+ buňky, které mají nízkou citlivost k cytostatikům.

K práci mám následující drobné poznámky:

Str. 16-19 autor dle nomenklatury požívá správně MYC-N, nicméně používá zastaralé označení c-Myc místo pouze MYC a p53 místo TP 53.

Str. 13 zřejmě má být uvedeno HDACi nebo HDAC inhibitors a ne HDACi inhibitors.

Otázky:

- Str. 36: Uvádíte použití SYBR Green pro RQ-RT-PCR. Používali jste i analýzu křivek tání k odlišení případné nespecifické amplifikace?
- Str. 69: Obr. 35 – Jakou jste použili metodu porovnání intenzity exprese?

Zvolené metodické přístupy, přehledné zpracování dosažených výsledků i literatury ukazují na schopnost autora získané výsledky využít k obecnějším závěrům a sepsání prací, které byly publikovány v recenzovaných časopisech. MUDr Mohamed Ashraf Khalil Abdel-Rahman tak prokázal své kvality jak v oblasti experimentální vědecké práce, tak v prezentaci a publikaci získaných výsledků.

Předložená práce dle mého názoru splňuje nároky na kvalitní disertaci, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě a jako podklad k udělení titulu Ph.D.

V Praze dne 2. dubna 2018


RNDr. Lenka Krsková, Ph.D.

V Úvalu 84
150 06 Praha 5 – Motol
Ústav patologie a molekulární medicíny
tel. +420 224 435 601 - fax +420 224 435 620
e-mail: roman.kodet@lfmotol.cuni.cz



UNIVERZITA
KARLOVA
V PRAZE