

RNDr. Veronika Benson, Ph.D.  
Oddělení imunologie a gnotobiologie  
Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.  
Vídeňská 1083  
142 20 Praha 4

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Ilony Burianové s názvem „Inhibitory histondeacetyláz v léčbě plazmocelulární leukemie: vliv mikroprostředí kostní dřeně“

Mgr. Ilona Burianová předložila k oponentuře disertační práci, která se zabývá ustavením permanentních linií ze vzorků kostní dřeně onkologických pacientů a využitím těchto linií pro výzkum nových terapeutických strategií.

Disertační práce má celkem 80 stran a je členěna na 8 kapitol zahrnujících jak popis současného stavu vědy v dané oblasti, tak i výsledky vlastní práce. Součástí je i seznam literatury se 163 odkazy a 3 vědecké publikace vztahující se k tématu disertace, na kterých se autorka podílela. Práce má dobrou grafickou úroveň, je psána odborně, avšak čtivě, a působí téměř kompaktním dojmem. Obrázky dobře zapadají do textu a jsou jednotně značeny. Autorka většinou používá správnou terminologii a důsledně se odkazuje na použitou literaturu.

Po stránce kvality vlastního textu lze mít k práci malé výhrady spočívající v občasných nepřesnostech nebo gramatických chybách a nejednotnosti ve vysvětlení zkratk (některé česky např. TNF  $\alpha$ , některé anglicky např. UPR).

**Aktuálnost zvoleného tématu**

Vývoj nových terapeutik pro onkologická onemocnění jako je mnohočetný myelom a plazmocelulární leukémie je vzhledem k agresivitě těchto onemocnění nepochybně důležitý. Stejně tak vývoj modelové linie, která umožní charakteristiku vlastností dané malignity a primární studium účinku potenciálních terapeutik je stále vysoce aktuální. Předložená práce je dobře zasazena do současné potřeby výzkumu. Autorka se dobře orientuje v dané problematice, což dokladuje rozsáhlý a podrobný úvod podložený množstvím citací. V úvodní části mi chybí v kapitole 1.1.3.1. krátké vysvětlení jak zmínění nové léky ovlivňují mikroprostředí kostní dřeně (tam, kde je toto tvrzení v textu).

**Cíle disertační práce, zvolené metody a výsledky**

Hlavním cílem předložené práce je popis účinku vybraných inhibitorů histondeacetyláz a faktorů mikroprostředí kostní dřeně na růst recentně ustavených liniích. Protože se jedná o linie nově odvozené, byla provedena velmi podrobná charakterizace obou linií a zvláště charakterizace linie UHKT-944 tvoří značnou část experimentálních výsledků. Oceňuji množství metod použitých pro charakterizaci linií i následný výzkum. Výsledky jsou většinou jasně popsány a diskutovány.

Komentář:

- a. Postrádám doložení některých výsledků uvedených v textu např. grafem, spektrem nebo histogramem (výsledky exprese imunoglobulinů, povrchových antigenů, IgH přestavby, infekce EBV/Mykoplazmou).

- b. V kapitole 4.1 v popisu pacienta chybí počet měsíců přežití od diagnózy – není úplně jasné, zda je tato doba shodná s datem založení linie UHKT-944, které je uvedeno v další kapitole.
- c. U grafu 6 na straně 46 chybí křivky pro pozitivní kontrolu s IL-6.
- d. Tabulka 3 na straně 50 by byla přehlednější, kdyby v jednotlivých skupinách byly CD molekuly seřazeny, např. od nejnižšího čísla k nejvyššímu.
- e. Chybí mi krátké zhodnocení realizace cílů.

### **Splnění podmínek samostatné tvůrčí vědecké práce**

Předložená disertační práce vykazuje všechny znaky pro splnění podmínek samostatné tvůrčí vědecké práce a obsahuje původní výsledky. Tyto výsledky byly publikovány ve dvou impaktovaných časopisech a třetí článek je přijat k publikaci. Dvě z těchto prací jsou prvoautorské. Souhrnem, Mgr. Burianová má 6 přijatých publikací, z toho 5 v časopise s IF.

### **Závěr**

Na základě posouzení předložené práce z hlediska její vědecké úrovně, přístupu řešení a výsledků, konstatuji, že práce splňuje požadavky kladené na disertační práci. Nedostatky uvedené v posudku nesnižují celkovou kvalitu disertace. Z výše uvedených důvodů doporučuji disertační práci Mgr. Ilony Burianové k obhajobě.

### **Otázky:**

1. V úvodu zmiňujete epigenetické ovlivnění genové exprese acetylací histonů a metylací CpG ostrovů. Zajímalo by mě, zda je známé propojení těchto dvou mechanismů, např. zda po acetylaci dochází k odkrytí CpG ostrovů a tím k usnadnění nasednutí metyltransferázy?
2. Na obrázku 5, strana 46 je ukázána proliferace UHKT-944. Dle křivek lze usuzovat, že z hlediska dlouhodobé kultivace bude výhodnější použít koncentraci IL-6 5ng/ml, protože zde pokračuje růst na rozdíl od nižších koncentrací. Proč jste se rozhodli pro další kultivace použít koncentraci 1ng/ml?
3. Jak lze vysvětlit pozorování popsané na straně 58: „K buňkám UHKT-944 byl přidán IL-6 v koncentraci 1ng/ml, ale po elektrochemiluminiscenčním měření byla jeho hodnota 0,2ng/ml“?

V Praze, 1. listopadu 2016