



**Doc. MUDr. Radek Špíšek, Ph.D.**

Ústav imunologie, UK 2.LF

V Úvalu 84

150 06, Praha 5

224 435 963

[radek.spisek@lfmotol.cuni.cz](mailto:radek.spisek@lfmotol.cuni.cz)

Praha, 10.5.2011

### **Posudek disertační práce mgr. Kláry Elknerové: Imunologická a epigenetická modulace genové exprese leukemických buněčných linií.**

Ve své disertační práci se mgr. Elknerová věnuje dvěma experimentálními přístupům k terapii hematologických malignit, terapii pomocí monoklonálních protilátek a terapii pomocí inhibitorů histon deacetyláz. Práce má klasické členění na úvod shrnující současné poznatky a na experimentální část, ve které autorka popisuje vlastní výsledky. Název disertační práce dle mého názoru neodráží zcela přesně její zaměření, protože vyvolává dojem, že autorka sledovala změny v genové expresi leukemických linií po působení monoklonálních protilátek nebo inhibitorů histon deacetyláz. Ve skutečnosti sledovala po působení těchto dvou experimentálních terapeutických modalit různé charakteristiky leukemických buněčných linií, jako životnost, proliferaci, charakteristiky buněčného cyklu a fenotyp. Dizertační práce má velmi zdařilý úvod, který velmi pěkně seznamuje s historií i současným stavem problematiky využití monoklonálních protilátek v terapii hematologických i solidních nádorů. Podrobněji by mohla být rozvedena kapitola o kmenových nádorových buňkách, především by z mého pohledu bylo zajímavé zmínit recentní data o signalizačních cestách důležitých pro funkci kmenových nádorových buněk. Také část úvodu, které se věnuje shrnutí poznatků o epigenetické regulaci genové exprese je dle mého názoru velmi zdařilá, včetně části o apoptóze a dalších typech buněčné smrti.

Výsledková část je tvořena dvěma velmi podobnými částmi, ve kterých je popsán vliv monoklonální protilátky anti-CD34 a inhibitorů histon deacetyláz na funkční a morfologické charakteristiky řady leukemických linií (CD34+ i CD34-). Výsledky experimentální části byly publikovány ve dvou článcích v časopise Neoplasma (IF 1,192), kde jsou uvedeny in extenso, v disertační práci jsou uvedeny ve zkrácené formě.

Obě experimentální části vyvolávají u recenzenta celou řadu otázek a nejasností, což je jistě příčinou toho, že výsledky nebyly publikovány v kvalitnějším časopise. Některé z otázek zmiňuji v následujícím seznamu:

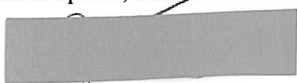
- V první části, kde je popisován efekt anti-CD34 není jasně definován experimentální model, v jednotlivých experimentech jsou používány rozdílné koncentrace protilátky, v některých experimentech je dokonce používána koncentrace, která vyvolává úplně stejný efekt i na CD34 negativní linii (PS-1). Snažila se autorka definovat minimální koncentraci anti-CD34, která vyvolává efekt u CD34+ linií a ne u CD34- linií?
- Byly v prováděných pokusech použity i jiné relevantní kontroly, které by prokázaly, že efekt anti-CD34 je specifický? Např. jiné protilátky shodného izotypu, jiné klinicky používané monoklonální protilátky? Více

CD34 negativních linií a naopak jiné populace buněk, které exprimují CD34 za normálních okolností, např. hematopoetické kmenové buňky?

- Autorka zmiňuje, že antiCD34 protilátka potencuje antiproliferativní účinek interferonů a směsi rekombinantních cytokinů. Je tento efekt statisticky významný? Z obrázků se zdá, že jde jen o velmi minoritní efekt nad rámec působení samotné antiCD34 protilátky.
- Jaké byly u obou částí experimentální práce použity statistické metody? Jsou prezentované rozdíly statisticky významné?
- Indukovaly testované inhibitory histon deacetyláz morfologickou a fenotypickou diferenciaci u některé z testovaných leukemických linií?

Předložená dizertační práce má velmi kvalitní úvod, experimentální část vykazuje řadu nedostatků, které odpovídají nízkému impakt faktoru časopisu, ve kterém byly články otištěny. Autorka nicméně splňuje požadavek oborové rady na dvě prvoautorské publikace v časopise s impakt faktorem a splňuje tedy kritéria k udělení titulu Ph.D.

Doc.MUDr.Radek Špišek, Ph.D.



Doc. MUDr. Radek Špišek, Ph.D.