



CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE  
1st MEDICAL FACULTY  
INSTITUTE OF PATHOPHYSIOLOGY  
12853 PRAHA 2, U Nemocnice 5  
Head: Assoc. Prof. Martin Vokurka MD, PhD

## Oponentský posudek na disertaci MUDr. Michala Zápotockého

Stud. Pg.: Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

Školitel: Prof. MUDr. J. Trka PhD a šk. konzultantka Mgr. Júlia Starková PhD.

Obhajoba 24.9. 2013 v 15h

Disertace MUDr. M. Zápotockého s názvem „*Cílená léčba AML1-ETO pozitivní akutní myeloidní leukemie inhibitory deacetyláz histonů*“ je sepsána přehledně, obsahuje očekávané části a informuje o publikační aktivitě kandidáta.

Dílo se sestává z 60 stran a dále z příloh-vědeckých článků: jednak *Cancer Lett* (IF=4,258, kde je kandidát 1.autorem), dále 4 články (*Acta Histochem*, *Eur J Histochem* 2x, *Folia Biol*, kde je kandidát 2.autorem). Dále jsou přiloženy 2 články v časopise *Blood* IF9.06 (kde je kandidát 7. Spoluautorem) a v časopise *Folia Biologica* IF1.219 (kde je kandidát 1.autorem). Dále jsou přílohou dva články bez IF, v jednom z nichž je kandidát 1. autorem.

### Formální úroveň dle oponenta splňuje náležitosti.

**Obsahová stránka:** práce si klade za cíl upozornit na význam léčby určitého typu AML (charakterizované přítomností fúzního transgenu AML1-ETO) na experimentálně potvrzenou molekulární efektivitu terapie inhibitory histon-deacetyláz.

Úvod obsahuje popis AML dětského věku, diagnostiku průtokovou cytometrií, cytogenetiku, a výsledky studií mutací. V další části se práce soustředí na AML1-ETO, popis obou genů, jejich funkce a strukturu včetně popisu napojení fúzního onkogenu. Biologické vlastnosti AML1-ETO spočívající v inhibici diferenciaci shrnuje poslední odstavec na str 17.

Další část úvodu se zabývá vzhledem do epigenetiky, především histon-deacetyláz. Dále jsou uvedeny látky, jež ovlivňují aktivitu histon-deacetyláz, především valproát.

Hypotéza je popis motivací hledat léky účinné pro AML1-ETO AML a navrhuje využít valproát jako inhibitoru represivních vlastností AML1-ETO.

Cílem je studovat vliv valproátu na diferenciaci, dělení, expresní profil u AML1-ETO AML (Kasumi-1) a kontrolních AML, jež obsahují jiný onkogen (Kasumi-6). Jsou použity buněčné linie a primární vzorky AML.

Výsledky: Kasumi-1 reaguje indukcí apoptosy a zpomalením buněčného dělení v G1 fázi. Kasumi-1 dále reaguje na valproát změnou exprese některých povrchových markerů, především CD11a a CD11b, jež jsou charakteristické znaky monocytární diferenciaci. Použití jiného agens (TPA) vedlo k ovlivnění diferenciaci pouze u Kasumi-6. Expres diferenciaci-provázajících proteinů byla pozorována u dělících se i stagnujících buněk v G1 fázi.

Mezi geny, jež regulují CD11 jsou i transkripční faktory, mj. PU.1 a CEBPa, jež jsou po VPA dereprimovány. Výsledky byly opakovány na primárních buňkách 4 pacientů.

Otázky pro obhajobu: jaký onkogen/transgen měly kontrolní primární AML? Reagují na VPA či TPA i normální CD34<sup>+</sup> buňky kostní dřeně podobným fenotypem?

Vzhledem ke splnění podmínek pro udělení PhD na základě naplnění formálních a obsahových stránek disertační práce se domnívám, že autor po řádně obhajobě je oprávněn, aby mu byl udělen titul PhD za jménem.

S pozdravem,



Doc. MUDr. Tomáš Stopka PhD.  
Ústav patologické fyziologie 1.LFUK

U nemocnice 5, 12853  
[tstopka@lf1.cuni.cz](mailto:tstopka@lf1.cuni.cz)  
224965970