



**Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Markéty Šilhavé nazvanou
„*Určení dárcovsky specifické T buněčné aloreaktivity u pacientů po
transplantaci ledviny s diagnózou hraničních změn*“**

Autorka předložila diplomovou práci, ve které shrnuje svoje výsledky získané při detekci chemokinů jako potenciálních biomarkerů pro charakterizaci imunologické reaktivity u pacientů s diagnózou hraničních změn po transplantaci ledviny. Téma je vysoce aktuální, protože pacienti s touto diagnózou představují až 20% transplantovaných příjemců a jejich odhalení a charakterizace by významně přispěly k diagnóze a následné optimalizaci léčbě. K vyšetření pomocí testu ELISA měla autorka 56 vzorků moči nebo séra získaných od pacientů před transplantací nebo v průběhu posttransplantační léčby. Kromě toho testovala metodou EliSpot produkci interferonu- γ aloreaktivními T lymfocyty u 38 vzorků od pacientů před a po transplantaci ledviny.

Celkově byly u všech vzorků testovány hladiny chemokinů CXCL9, CXCL10 a CCL17. Výsledky ukázaly, že pouze chemokin CXCL10 v moči by mohl být biomarkerem rizika rozvoje rejekce po subklinických hraničních změnách pozorovaných ve 3. měsíci po transplantaci. Detekce produkce IFN- γ T lymfocyty po stimulaci buňkami dárce transplantátu se neukázala jako využitelný prognostický marker.

Práce je standardně zpracována, obsahuje rozsáhlý úvod, podrobné popsání metodik, 21 obrázků a adekvátní diskusi.

Celkový kladný dojem z práce snižují četné formální nedostatky, jako například:

- v textu od počátku je uváděno dendritická buňka, ale teprve až na str. 24 je zavedena zkratka DC, ale pak stejně není používána (např. str. 27, 28) je opět psáno dendritická buňka,
- podobně na str. 25 je zavedena a vysvětlena zkratka MHC, ale je již používána dříve,
- na str. 31 je uveden mykofenolát mofetil, ale až o několik řádek dále je zavedena jeho zkratka,
- na str. 20 je zavedena a vysvětlena zkratka ABMR, na str. 32 je vysvětlena opět,
- často je používán při citacích výraz: v poslední době, v současné době (např. str. 8, a k tomu je opakovaně používána citace Viklický et al. 2008). Citace stará přes 12 let není aktuální a neshrnuje současné poznatky.
- reference by měly být připraveny pečlivěji a uváděny ve stejném stylu. Některé citace uvádějí název časopisu v celé formě (např. American Journal of Transplantation), jiné jen zkrácený název časopisu (Am J Transplant), někde je uváděn celý rozsah stránek (1965-1968), jinde jen poslední číslice stránky (101-8) a podobně.



Získané výsledky jsou však důkladně diskutovány a konfrontovány s nálezy jiných autorů. Rozsáhlý seznam citací svědčí o dobré orientaci autorky ve světovém písemnictvím. Proto mám k autorce jen několik otázek k diskusi:

1. Th1 cytokiny jsou cytokiny produkované Th1 buňkami. Je skutečně IL-12 Th1 cytokin, jak autorka uvádí na str. 23?
2. Chemokiny byly ELISA testem měřeny v moči a séru po různé době zamražení vzorků. Byly některé vzorky měřeny opakovaně – tj v době odběru nebo krátce po odběru a pak po několika měsících? Jestli ano, zůstávaly koncentrace stejné? Dotaz směřuje k tomu, že koncentrace některých cytokinů se mění během jejich skladování, a to i při -80°C .
3. Obrázek 14 - je váš vlastní obrázek a nebo je převzatý (je anglicky)? Je-li převzatý, měl by být uveden zdroj.
4. Proč byl použit jako pozitivní kontrola ke stimulaci produkce IFN- γ aloreaktivními T lymfocyty pokeweed mitogem (což je spíše B buněčný mitogen) a ne nějaký mitogen pro T lymfocyty?
5. V čem vidí autorka hlavní příčiny rozdílných nálezů v produkci chemokinů po transplantaci mezi různými autory, jak uvádí v diskusi?

Závěrem mohu konstatovat, že Markéta Šilhavá předložila kvalitní diplomovou práci na aktuální téma klinických transplantací s diagnózou hraničních změn a ukázala chemokin CXCL10 jako potenciální biomarker, který by mohl přispět k charakterizaci a k diagnose hraničních změn u pacientů a transplantovanou ledvinou. Je jen na škodu, že autorka nevěnovala více péče přípravě předložené práce. Jelikož práce řeší aktuální téma a přináší nové a klinicky významné poznatky, doporučuji přijetí předložené diplomové práce k obhajobě a její kladné hodnocení.

V Praze dne 22. 6. 2020.


Prof. RNDr. Vladimír Holáň, DrSc.