

## **POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI MGR. ONDŘEJE PELÁKA**

**Oponent:** RNDr. Šárka Němečková, DrSc.

**Název práce:** Specifická protivirová imunita u imunokompromitovaných pacientů, především po transplantaci kostní dřeně

Podnět pro tuto práci spočívá v neustále se rozšiřujícím spektru terapeutických modalit, využívajících ovlivnění imunitního systému a s tím spojenými komplikacemi vyvolanými nekontrolovaným množением reaktivovaných mikrobiálních patogenů. Tímto tématem se dlouhodobě zabývá školící pracoviště disertanta - laboratoř CLIP. Pět publikací připojených k této práci svědčí o tom, že se téma pod vedením školitele MUDr. Tomáše Kaliny rozvíjí pomocí nejmodernějších přístupů.

Konkrétní cíle disertační práce lze shrnout takto:

- Prostudovat CMV specifické T buňky objevující se během rekonstituce imunity u pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk a využít jejich funkční a fenotypový profil pro predikci vývoje virového onemocnění
- Zavést detekci T buněk vhodných pro imunoterapii pacientů s CMV infekcí pomocí adaptivního přenosu
- Identifikovat klony CMV specifických T buněk zodpovědných za odhojení transplantovaných ledvin a prostudovat jejich zkříženou a loreaktivitu
- Zavést metodu obohacení periferních monocytů využitelnou pro stanovení pomocí hmotnostní cytometrie
- Zavést vhodnou FACS metodu a využít ji pro testování vysoce aktivních inhibitorů signalizace IL23 a jeho receptoru na buňkách Th17

Formát předložené práce je vhodně zvolen pro dobrou orientaci čtenáře ve větším počtu řešených témat. Rozsah práce je 76 stran. Náplň poměrně stručného literárního úvodu (25 stran) je vhodně vybrána a zacílena. Hlavní problematikou práce jsou reaktivace virových infekcí po transplantaci krvetvorných kmenových buněk i pevných orgánů a autor na nich názorně dokumentuje důležité vlastnosti adaptivní imunity s důrazem na variabilitu buněčných populací. Zaměřuje se přitom zejména na tři moderní přístupy dovolující měření parametrů na úrovni jednotlivých buněk, což jsou fluorescenční a hmotnostní cytometrie a sekvenování nukleových kyselin jednotlivých buněk. Obsah těchto metodických kapitol je velmi pěkně podán od historického úvodu až po všechny zásadní aplikace, které jednotlivé přístupy umožňují. Popis je názorný, je doložen vhodnými příklady a citacemi a názorně ilustrován. Celý úvod má didaktický charakter a velmi dobře se čte. V závěru úvodu se autor zamýšlí nad personalizovanými přístupy k terapii nádorů a oportunních infekcí, což se k náplni disertace výborně hodí. Zpracování úvodu nelze nic zásadního vytknout.

Následuje kapitola Materiál a metody, která obsahuje obecný popis použitých metod vždy s odkazem na podrobný popis v jednotlivých publikacích. Z této kapitoly jednoznačně vyplývá, které části projektů disertant řešil a které metody samostatně používal.

V další kapitole Výsledky nalezneme podrobné rozbory řešení a výsledků sedmi úkolů, jak jsou definovány v kapitole Cíle práce. Výsledky jsou zde zdokumentovány pomocí grafů a tabulek. Výsledky disertanta jsou doloženy v pěti publikacích s IF, kde Ondřej Pelák byl 2x prvním autorem a jednou sdíleným prvoautorem. Poslední kapitola disertační práce Diskuze a závěr obsahuje zhodnocení výsledků disertační práce a průběhu řešení všech témat včetně srovnání s výsledky z jiných publikací. Autor definuje přínos práce pro další rozvoj všech témat.

### **Připomínky:**

Nedošlo v publikaci 9.1 na str. 385 v Fig. 3 k záměně sloupců?

**Otázky oponenta:**

- 1) Podle tabulky 2 lze pomocí měření CD8+ IFN+ IL2+ předpovědět krátkodobý rozvoj virémie . Je predikce dlouhodobého rozvoje virémie stejně nebo méně spolehlivá? Hodí se pro vytipování pacientů pro adoptivní transfer CMV specifických T lymfocytů?
- 2) Rekonstituce subpopulace CD4+ T buněk po HSCT postupuje pomaleji než u CD8 buněk. To znamená , že protivirovou aktivitu CD4+ T buněk detekujete vždy v přítomnosti funkčních CD8+Tbuněk . Může to ovlivňovat výsledek analýzy? Zaznamenali jste případy, kdy pacient neměl CMV CD8+ T lymfocyty specifické pro použité antigeny a za protivirovou imunitu byly zodpovědné CD4 T lymfocyty?
- 3) Existuje možnost přímo depletovat krevní destičky z PBMC pomocí vhodné protilátky navázané na pevný nosič?
- 4) Jaká byla Vaše role při sepisování jednotlivých publikací?

**Návrh hodnocení oponenta:**

Předložená práce je velmi kvalitní a splňuje požadavky kladené na disertační práci. Zvolené téma je náročné a přístupy k jeho řešení jsou originální. Zadané cíle byly splněny. Výsledky jsou součástí 5 publikací. Doporučuji práci přijmout jako podklad pro udělení titulu PhD .

V Praze 5.8.2020

Šárka Němečková