



Č.j.: UKLFP/507080/2023-1

Oponentský posudek disertační práce

Disertantka: Mgr. Alena Machuldová

Název práce: NKG2D A KIR RECEPTORY A JEJICH ROLE U ALOGENNÍ TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Doktorský studijní program „Anatomie, histologie a embryologie“ na Lékařské fakultě UK v Plzni

Základní charakteristika práce:

Disertační práce (DP) se zabývá vztahem polymorfismů vybraných imunitních genů a alogenní transplantace krvetvorných buněk (HSCT) u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML). Zaměřuje se přitom na vybrané polymorfismy genů pro receptory NK buněk (NKG2D, KIR) a souvisejících molekul (MICA, MICB). Hlavním výzkumným přístupem DP bylo hodnocení vztahu mezi variabilitou uvedených genů u příjemců a dárců a jednotlivými parametry úspěšnosti HSCT (přežívání bez relapsu, celkové přežívání, výskyt reakce štepů proti hostiteli). K určení genových sekvencí u vyšetřovaných jedinců bylo využito sekvenování podle Sangera a sekvenování nové generace (NGS). Sekvenační data byla analyzována s využitím moderních bioinformatických nástrojů. Zvolené metodické postupy včetně statistické analýzy odpovídají zamýšleným cílům DP.

Členění a hlavní výsledky práce:

V úvodní přehledové části práce autorka pečlivě shrnuje nejdůležitější informace o AML včetně léčby tohoto závažného onemocnění. Podrobně se věnuje jednotlivým aspektům HSCT pro terapii AML včetně nejvýznamnějších komplikací tohoto léčebného přístupu. Na straně 16 by bylo vhodnější se ve výčtu HLA-Cw ligandů držet platné sérologické nomenklatury HLA (ne Cw01, ale Cw1). Za velmi zdařilou považuji část pojednávající o vývoji, populacích a receptorech NK buněk již ve vztahu k HSCT. Po formulaci cílů DP následuje podrobný a bohatě dokumentovaný popis souborů pacientů a metodik použitých k sekvenování, bioinformatickému zpracování dat i statistické analýze. V popisu studovaných souborů by bylo vhodné doplnit i základní charakteristiku populačního vzorku zdravých jedinců (např. pohlaví, věk).

Výsledková a diskusní část DP je vedena společně a logicky rozdělena na část věnující se populační analýze a část zaměřenou na funkční vztah mezi studovanými polymorfismy a úspěšností HSCT.

Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
www.lf.upol.cz
http://imunologie.upol.cz/
Přednosta ústavu:
Prof.MUDr.Mgr.Milan Raška, Ph.D., tel.: +420 585 632 751, e-mail: milan.raska@upol.cz
Sekretářka:
Mgr.Jana Rábková, tel.+420 585 632 752, e-mail: jana.rabkova@upol.cz

Univerzita Karlova	6479
Vytvořeno: 07.11.2023 v 14:18:01	Odbor VV
Č.j.: UKLFP/507080/2023-4	
Č.dop.: RR620541908CZ	Zprac.
Listů: 3 Příloh: 0	
Druh: písemné	





Mezi nejvýznamnější výsledky DP vybírám:

- zjištěná distribuce studovaných polymorfismů KIR, MICA, MICB a NKG2D ve většině případů odpovídala dostupným literárním datům
- štěp od dárce s alespoň jednou alelou MICA-14 Gly byl statisticky signifikantně spojen se zhoršeným celkovým přežitím pacienta
- byl pozorován negativní efekt alely MICB-58 Glu na přežití bez relapsu
- v rámci analýzy shody a neshody KIR-HLA byla vyšší shoda mezi KIR a HLA v inhibičních receptorech (2-3 vs. 5) spojena se zvýšeným rizikem relapsu a horším celkovým přežitím pacientů
- shoda KIR2DL1-HLA souvisela s vyšším rizikem relapsu, tento efekt se nicméně nepromítl do celkového přežití

V obou částech diskuse autorka analyzuje vlastní nálezy v kontextu s dostupnými literárními údaji. Velmi pozitivně hodnotím mj. přístup autorky k nesouladu mezi získanými daty a literaturou pro gen 2DL1, kde diskutuje možnost sekvenční chyby. DP je zakončena přehledem použité literatury v objemu 219 citací, které v naprosté většině případů zahrnují relevantní práce včetně nejnovějších studií a reflektují aktuální stav znalostí. DP je bohatě dokumentována, bylo využito 42 tabulek (bez přílohy) a 21 obrázků. Celkový rozsah práce s citacemi je 93 stran, navazují přílohy ve formě kompletních výtisků tří publikovaných článků autorky (ve všech případech se jedná o prvoautorství). V práci jsem zaznamenal jen v minimální míře překlepy nebo jazykové nepřesnosti.

Význam práce:

Téma DP je stále mimořádně aktuální, neboť imunitní procesy u HSCT, zejména reakce štěpu proti leukémii (GVL) a reakce štěpu proti hostiteli (GVHD), sehrávají zásadní roli v dlouhodobé úspěšnosti tohoto typu transplantace. Význam NK buněk, jejich receptorů a ligandů pro imunoterapeutický efekt HSCT a patogenezi transplantačních komplikací je stále předmětem intenzivního výzkumu. DP je založena na enormním množství experimentální a analytické práce (největší populační soubor zahrnoval 761 vzorků) a opírá se o klinickou základnu Hematologicko-onkologického oddělení FN Plzeň, předního českého transplantačního centra, což umožnilo do studií zahrnout velmi dobře charakterizované soubory pacientů. Hlavní závěry podstatné části DP (pro NKG2D, MICA a MICB polymorfismy) byly publikovány v časopise s IF druhého kvartilu (Q2)

Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc

www.lf.upol.cz

<http://imunologie.upol.cz/>

Přednosta ústavu:

Prof.MUDr.Mgr.Milan Raška, Ph.D.,tel.: +420 585 632 751, e-mail: milan.raska@upol.cz

Sekretářka:

Mgr.Jana Rábková, tel.+420 585 632 752, e-mail: jana.rabkova@upol.cz



oborové kategorie „Medicine, general & internal“, kde prošly recenzním řízením. V časopise prvního kvartilu oborové kategorie „Immunology“ byl publikován velmi cenný a užitečný přehled o roli polymorfismů NKG2D receptoru a jeho ligandů u HSCT. Po formální stránce je DP zpracována adekvátně, drobnější nedostatky jsou zmíněny v předchozím textu.

Dotazy oponenta:

1. Je známo, že testování a interpretace genové komplexity a alelické variability klastru KIR genů pomocí NGS je poměrně komplikované. Existují v současné době již komerčně dostupné (event. i certifikované) diagnostické soupravy a interpretační software pro tuto aplikaci?
2. V tabulce 31 autorka uvádí distribuci genotypů polymorfismu MICA-14 (rs1063630) v populačním vzorku, která je vychýlena z Hardy-Weinbergovy rovnováhy a zahrnuje jen asi 5% nosičů Gly varianty. V obrázku č. 20 pro funkční analýzu u HSCT se jeví zastoupení MICA-14 Gly nosičů mezi dárci krvetvorných buněk podstatně vyšší. Prosím o vysvětlení možné příčiny tohoto rozdílu.

Závěrečné doporučení:

Na základě předchozího hodnocení lze uzavřít, že předkládaná disertační práce splnila své cíle, přinesla významné výzkumné výsledky, prokazuje schopnost autorky k samostatné vědecké práci a naplňuje požadovaná kritéria pro tento typ prací. Doporučuji proto jednoznačně, aby byla přijata k veřejné obhajobě a v případě úspěšného průběhu byl Mgr. Aleně Machuldové udělen titul doktor, ve zkratce Ph.D., dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Olomouci dne 3.11.2023

prof. MUDr. František Mrázek, Ph.D.

Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc

prof. MUDr. František Mrázek, Ph.D.
56358