

OPONENTSKY POSUDEK

disertační práce "**Diagnostický příspěvek k hodnocení intervenčních modelů léčby diabetu mellitu 1. typu**"

Autor: Mgr. Klára Zacharovová

Předložená standardně uspořádaná disertační práce sestává ze dvou částí, z nichž první tvoří 12 stran úvodního textu, dále shrnutí výsledků, přehled pracovního podílu autorky disertace na jednotlivých publikacích a 11 stran komentářů a diskuse k získaným výsledkům. Tato část práce je doplněna seznamem literárních odkazů zahrnujícím 113 prací. Připojen je i seznam celé dosavadní publikační aktivity autorky zahrnující 19 původních prací vesměs publikovaných v časopisech s faktorem impaktu a 72 prezentací na kongresech a symposiích. Druhou část disertační práce tvoří 7 příloh uvádějících jednotlivé publikace vztahující se k tématu disertace.

V úvodní části je uvedena struktura a funkce Langerhansových ostrůvků, jsou charakterizovány jednotlivé typy diabetu mellitu a současné terapeutické možnosti tohoto onemocnění. Dále jsou uvedeny postup izolace, způsoby transplantace Langerhansových ostrůvků a možnosti zobrazení a sledování viability ostrůvků po transplantaci.

Z přehledu podílu autorky na jednotlivých pracích vyplývá, že autorka prakticky zvládla řadu metod, které zahrnují zejména izolaci ostrůvků a testování jejich kvality, měření respirační aktivity ostrůvkových buněk, zpracování vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii a hodnocení morfologického obrazu, provádění imunofluorescenčních a histologických barvení a hodnocení získaných preparátů, izolaci mononukleárních buněk z krve a jejich analýzu pomocí proteinové cytokinové array a analýzu buněk pomocí průtokové cytometrie.

K nejpodstatnějším výsledkům práce patří zjištění, že respirační aktivita izolovaných ostrůvkových buněk koreluje s výsledky standardního testování ostrůvků metodou statické inkubace a že rychlost spotřeby kyslíku je úměrná počtu testovaných buněk. Pozoruhodné je sledování nitrobuněčné lokalizace SPIO částic ferucarbotranu a průběhu jejich vstupu do buněk, sledování SPIO nanočástic po transplantaci značených ostrůvků a zobrazení transplantovaných ostrůvků pomocí nové duální kontrastní látky. Důležité je zjištění rozdílů v eliminaci SPIO nanočástic při transplantaci ostrůvků pod pouzdro ledviny nebo do jater. V části práce zaměřené na imunitní reaktivitu pacientů s diabetem 1. typu je významné zjištění, že izolované lymfocyty

časně po záchytu diabetu produkují spíše cytosiny prozánětlivé a odpovídající Th3 imunitní reakci a hodnocení terapeutické odpovědi NOD myši na působení myšího antithymocytárního globulinu (mATG).

K předložené disertační práci nemám podstatnější připomínky. Práce vychází z vynikajícího metodického zázemí a nesporně přináší nové poznatky. Výsledky byly publikovány v renomovaných mezinárodních časopisech. Formální uspořádání odpovídá přijatým požadavkům. Práce je psána pečlivě a srozumitelně, ojedinělé tiskové chyby (např. str. 5, 16, 21, 22, 26) je možné zmínit spíše z pohledu pozorného čtenáře.

K předložené práci mám následující dotazy:

- 1) SPIO částice byly detegovány v makrofázích v místě transplantace Langerhansových ostrůvků pod pouzdro ledvin i po dvou měsících po transplantaci. Je známo, jak dlouho mohou SPIO částice v této tkáni přetrvávat?
- 2) Lze předpokládat, že mATG byl použit i u jiných modelů autoimunních onemocnění. Jsou u těchto modelových onemocnění výsledky působení mATG srovnatelné s výsledky u NOD myši?

Závěr: Předložená disertační práce splňuje jak po stránce formální, tak po stránce obsahové stanovené požadavky. Práci hodnotím jednoznačně kladně a doporučuji ji k obhajobě. Zároveň doporučuji, aby byl autorce předložené práce po úspěšně provedené obhajobě udělen titul Ph.D.

Praha, 27. 7. 2012

Prof. MUDr. Václav Man

přednosta Ústavu patolog.
Šrobárova 50
100 34 Praha 10

