

IČO: 652 697 05, DIČ: CZ65269705, Bankovní spojení: 71234621/0100
Nositel certifikátu ISO 9001:2000
www.fnbrno.cz

Oponentský posudek na dizertační doktorskou práci RNDr. Ingrid Hrachovinové ve studijním programu *Molekulární biologie a buněčná biologie, genetika a virologie* na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy

s názvem:

„P-selektin – nový protein v hemostáze“

Dizertace RNDr. Ingrid Hrachovinové se soustřeďuje na předmět dlouhodobého profesionálního zájmu doktorandky. Námět lze přivítat, neboť se jedná o problematiku, která se soustřeďuje na důležitou problematiku s dopadem v preventivních programech trombotické diatézy – stále jedné z nejzávažnějších příčin úmrtí a nemocnosti obyvatelstva.

Předložený spis je sestaven ze stěžejních prací uchazečky, jež zpracovala zejména v době svého zahraničního působení v Center for Blood Research, Harvard Medical School v Bostonu a provází je komentář s úvodem, cíli vědeckého záměru, diskusí a seznamem použité literatury.

Text zaujímá celkem 48 stran. Seznam literatury obsahuje 28 citací, většinou zahraničních prací a seznam prací vlastních. Dokumentace a obrázky jsou součástí publikovaných prací.

Úvodní část rozebírá velmi zasvěceně základní aspekty současných poznatků o P-selektinu a mikropartikulích, zejm. z hlediska zaměření studie. Je zpracována cílevědomě se zjevnou znalostí detailů problematiky.

Základními cíli práce bylo posoudit jakou roli hraje P-selektin při vzniku hyperkoagulačního stavu a co způsobuje hyperkoagulační stav, dále jaký je receptor sérového P-selektinu, který je zodpovědný za indukci exprese tkáňový faktor nesoucích mikropartikulí (TF-MPs) a MPs, následně pak zda je možné ovlivnit krvácivý stav aplikací vysoké dávky sérového P-selektinu a konečně zda mohou být tkáňový faktor a mikropartikule obsahující tkáňový faktor markerem závažnosti kardiovaskulárního onemocnění a jaká je přitom úloha tkáňového faktoru a mikropartikulí.

Na položené otázky odpovídají jednotlivé práce, které uchazečka přikládá. A tak první práce zabývající se prokoagulačním stavem provázejícím zvýšení solubilního P-selektinu ukazuje, že zvýšení sP-sel je nejen markerem, ale i induktorem prokoagulační aktivity vázané na endotelium a krevní destičky. Celý problém je zpracován velmi pečlivě a dobře zdokumentován.

Na otázku týkající se modulace krvácivého stavu pomocí P-selektinu byl na základě dosavadních hypotéz uspořádán experiment s hemofilickou myší, u níž se prokázalo po aplikaci sP-sel-Ig zvýšení počtu mikropartikulí, zvýšení aktivity TF a rovněž zvýšení generace trombinu. V důsledku tohoto procesu pak bylo mírněno i krvácení experimentálního zvířete. Usuzuje se na možnost klinického využití výsledků tohoto experimentu i v klinice.

V rámci klinické interpretace úlohy tkáňového faktoru, resp. mikropartikulí jej nesoucí, bylo pozorováno zvýšení vychytávání prokoagulačních mikropartikulí u pacientů s akutním koronárním syndromem při interakci krevních elementů s plazmou. Tato práce má již charakter aplikace výzkumných poznatků v klinice a může být důležitým prvkem jak z hlediska diagnostiky, tak i terapie.

Lze shrnout, že práce přináší vcelku originální výsledky, která nacházejí svou odezvu i v zahraniční literatuře v podobě odkazů na zmíněná pozorování.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. V úvodu je uvedeno, že sP-sel *produkuje* namísto *indukuje* prokoagulační mikropartikule....
2. Je uvedeno, že uchazečka prokázala, že se mikropartikule rekrutují z monocytárních buněk při vazbě P-sel při jeho vazbě na PSGL-1, ale je známo a opakovaně v literatuře, citováno, že se jedná i o jiné buňky, z nichž mikropartikule pocházejí nebo zde dochází k uvolňování mikropartikulí jiným mechanismem ?
3. Za jakých okolností se váže TF na mikropartikule, když některé z nich jej obsahují a jiné nikoliv ?
4. Čím si vysvětlujete, že u těžkých hemofiliků zjišťujete nižší množství TF-MPs ? Publikovali jste toto pozorování ?
5. Má autorka povědomí, jaká je hladina TF-MPs naopak u geneticky podmíněných trombofilů ?
6. Odráží se za nějakých okolností aktivita MPs v koagulačních časech ?
7. Jistě by bylo zajímavé korelovat aktivitu P-selektinu a indukci mikropartikulí i s výsledky trombin generačního testu. Má autorka nějaké zkušenosti s porovnáním těchto dvou metodik u hyperkoagulačních stavů ?
8. Je jistě zajímavé pozorování, že v důsledku vyšší aktivity P-selektinu dochází ke zvýšení inkorporaci TF-MPs do trombu, a tím i zvyšování apozice trombu, které by bylo možno zabránit podáváním látek zabraňujících zmíněné inkorporaci. Existují nové poznatky v tomto směru ?

Závěr:

Dizertační práce RNDr. Ingrid Hrachovinové se zaměřuje na diagnostický problém se značným klinickým i vědecko-výzkumným významem. V úvodu prokazuje dokonalou znalost

studovaného předmětu. Použité metody přeložených prací jsou na vysoké úrovni. Cíle jsou přehledně formulovány a autorka je, jak dokumentuje ve výsledkové části a diskusi prací splnila. Závěry prací jsou jasné a jsou přínosem jak z praktického hlediska, tak i z hlediska další vědecko-výzkumné činnosti. Velmi cenný je také experimentální i klinický charakter pozorování.

Předložená dizertace svědčí o autorčině zájmu a zaujetí pro studovaný problém a výstupy jsou v daném směru velmi přínosné. Předloženým dílem prokazuje uchazečka schopnost samostatné a tvůrčí vědecké práce. Přínos samotné práce spočívá především v originálních zjištěních diagnostického charakteru, ale i možnostech klinické aplikace. Publikace je, jak bylo také zmíněno, velmi dobrým námětem pro další výzkumnou práci.

Dizertace RNDr. Ingrid Hrachovinové splňuje podmínky stanovené v § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. a formální a věcné nároky kladené na doktorské práce, a proto **doporučuji** Vědecké radě Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, aby práci přijala k obhajobě za účelem získání titulu

doktor – Ph.D.

V Brně dne 5. 9. 2011

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity