

Oponentský posudek na dizertační práci

Mgr. Jana Pindjáková:

THE ROLE OF T LYMPHOCYTES AND MACROPHAGES IN EXPERIMENTAL MODELS OF ALLO- AND XENOGRAFT REJECTION

Práce se zabývá imunologickými mechanismy rejekce štěpu na experimentálních modelech transplantace kůže a rohovky, sledována je imunitní odpověď proti allotransplantátu i xenotransplantátu. Jedná se o aktuální problematiku řešenou na pracovišti s dlouholetou tradicí transplantační imunologie.

Disertační práce je pojata jako soubor publikovaných prací s literárním úvodem do problematiky a jednoznačně formulovanými závěry, celkem má 98 stran a obsahuje 4 otištěné články v kvalitních mezinárodních časopisech (u jednoho je Mgr. Pindjáková 1 autorkou) a další 1 článek připravený k odeslání. Po formální stránce je práce sepsána velmi přehledně a precizně, kvalitní angličtinou s minimem chyb

V úvodní kapitole jsou poskytnuty základní informace o transplantaci kůže a rohovky a tzv. imunitní privilegovanosti umožňující výrazně lepší prognózu štěpu oproti ostatním orgánovým nebo tkáňovým transplantacím. Popsány jsou mechanismy rejekce allotransplantátu i xenotransplantátu, zmíněna imunosuprese. Při podrobnějším popsání mechanismů rejekce štěpu autorka uvádí jak podíl přirozené imunity, tak zejména adaptivní odpověď proti allotransplantátu zahájenou přímou či nepřímou prezentací antigenu a aktivací jednotlivých subpopulací T lymfocytů a polarizací Th1/Th2 cytokinového profilu. Také v části věnované xenotransplantacím je adekvátně diskutována problematika tvorby cytokinů. Závěrečná část úvodu je zaměřena na úlohu makrofágů v rejekčních mechanismech, zdůrazněn je význam oxidu dusnatého při aktivaci Th1 cytokiny a arginázy I a II při

převaze Th2 cytokinového profilu. Cíle disertace jsou jasně formulované a příslušně zodpovězené v příložených publikacích. První práce potvrzuje na experimentálním myším modelu význam oxidu dusnatého tvořeného makrofágy nejen jako důležité efektorové cytotoxické molekuly při rejekci kožního štěpu, ale i jako molekuly regulující tvorbu cytokinů. Další práce, u které je Mgr. Pindjáková první autorkou, demonstruje na modelu xenotransplantace rohovky významný efekt anti-CD4 protilátky na inhibici cytokinů a delší přežití štěpu oproti minimálnímu efektu anti-CD8 protilátky. Z práce vyplývá, že rejekce rohovkového xenotransplantátu je spojena zejména s indukcí genů pro IFN gama, iNOS a tvorbou oxidu dusnatého. V navazující práci, kde byla sledována aktivita inducibilní NO syntázy u kožních xenotransplantátů se podařilo identifikovat solubilní faktor inhibující funkci iNOS nezávisle na ovlivnění genové exprese nebo jeho tvorby. Tato molekula o hmotnosti 67 kDa může být zodpovědná za omezený význam oxidu dusnatého při rejekci kožního xenotransplantátu v porovnání s allospecifickou rejekcí. Regulaci tvorby oxidu dusnatého při rejekci kožního xenotransplantátu je věnována i další práce, z níž vyplývá, že podíl na omezené tvorbě NO infiltrujícími makrofágy mohou mít Th2 cytokiny, které zvýšením arginázové aktivity redukuje dostupnost L-argininu nezbytného pro inducibilní NO syntázu. Poslední publikace, zatím ještě neotištěná v odborné časopise, se zabývá deplecí jednotlivých buněčných populací u rejekce rohovkového xenotransplantátu s následným hodnocením exprese genů pro cytokiny a iNOS ve štěpu. Studie potvrdila, že přirozené imunitní mechanismy k rejekci štěpu nestačí a zcela zásadní úlohu zde hrají interakce CD4 T lymfocytů s makrofágy a také tvorba IFN gama.

V závěrečné diskusi jsou získané výsledky logicky zasazeny do kontextu ostatních publikovaných studií a konečně jsou bodově (a velmi přehledně) formulovány hlavní závěry práce.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

- 1) V literárním úvodu jsou při úloze T lymfocytů v rejekci štěpu zmíněny pouze Th1 a Th2 lymfocyty a při patogenetických mechanismech je opominuta

tvorba allospecifických protilátek. Existují informace o funkci T regulačních buněk a protilátkové odpovědi při experimentální transplantaci kůže nebo rohovky?

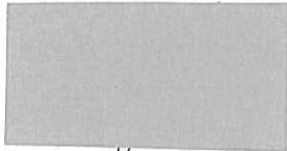
- 2) Máte představu, které buňky produkují 67kD faktor inhibující iNOS? Podařilo se jej dále charakterizovat? Nemůže se jednat o některou z již identifikovaných molekul o podobné molekulové hmotnosti.
- 3) Čím si vysvětlujete, že deplece CD8⁺ T lymfocytů nemá téměř žádný vliv na průběh rejekce? Je tomu obdobně i u jiných orgánových či tkáňových transplantací?

Závěr:

Disertační práce splnila stanovené cíle, svými výsledky přinesla nové poznatky v oblasti transplantační imunologie. Autorka prokázala kvalitní znalosti v oboru, je schopna samostatně vědecky pracovat a ovládá metody k úspěšnému pokračování ve své vědecké činnosti.

Disertační práce splňuje požadavky stanovené dle § 47 zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb., a proto **doporučuji, aby Mgr. Janě Pindjáčkové byla po úspěšné obhajobě udělena vědecko-akademická hodnost PhD.**

V Praze 22.1.2007


Doc. MUDr. Ilja Stříž, CSc.