



**Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Hany Štorkánové nazvanou „Nové biomarkery a kandidátní molekuly antifibrotické terapie u systémové sklerodermie“**

Hana Štorkánová předložila diplomovou práci zkoumající molekuly S100A4, Hsp90 a IL-35 jako nové biomarkery a kandidátní molekuly antifibrotické terapie u systémové sklerodermie. Hlavními cíli této práce bylo určit koncentrace Hsp90 v plazmě a koncentrace IL-35 a S100A4 v séru pacientů se systémovou sklerodermií a zdravých dárců a dále exprese genu pro Hsp90, IL-35 a S100A4 v PBMC pacientů se systémovou sklerodermií a zdravých dárců. V neposlední řadě také zhodnotit asociace měřených parametrů s aktivitou onemocnění a orgánovým postižením u systémové sklerodermie.

Práce je klasicky členěna a obsahuje abstrakt v českém a anglickém jazyce, seznam zkratk, vytyčení cílů práce, literární přehled, popis použitého materiálu a metodik, výsledky, diskuzi, závěr a přehled použité literatury. Při psaní literárního přehledu autorka prokázala schopnost pracovat s literaturou týkající se dané problematiky. Text má dobrou formální úroveň, je vystavěn logicky, přehledně uspořádaný do kapitol a poskytuje čtenáři informace týkající se systémové sklerodermie, proteinu S100A4, IL-35 a Hsp90. Autorka při psaní diplomové práce použila celkem 134 literárních zdrojů, které jsou převážně správně citovány. Drobnou výtku mám pouze k tomu, že autorka použila poměrně velké množství přehledných článků, které ale nejsou v seznamu literatury řádně označeny.

Experimentální část práce obsahuje velký soubor výsledků, které jsou pečlivě zpracovány a jasně dokumentovány v grafech. Autorka prokázala znalost řady laboratorních technik včetně ELISA, PCR a imunohistochemické a imunofluorescenční analýzy. Výsledky této diplomové práce prokázaly souvislost mezi hlavním profibrotickým cytokinem TGF- $\beta$ , sekrecí IL-35 a zvýšenou produkcí kolagenu u fibroblastů a dále potvrdily Hsp90 a S100A4 jako vhodné biomarkery aktivity systémové sklerodermie.

Autorka uvádí, že její práce plynule navazuje na předchozí výzkum prováděný na školitelském pracovišti, což je patrné i v literárním přehledu a v diskuzi, kde často odkazuje na výsledky získané na daném pracovišti. Nicméně musím dodat, že v diskuzi rovněž nechybí řada zahraničních prací, s jejichž výsledky autorka získaná data řádně porovnává. Hana Štorkánová tedy naplnila vytyčené cíle a její diplomová práce přinesla zajímavé výsledky, které jsou patřičně diskutovány.



K práci mám následující dotazy:

- Část experimentů jste prováděli na dermálních fibroblastech izolovaných z kožních biopsií. Zajímalo by mě, o jak velké biopsie se jedná a z jaké oblasti jsou odebírány? A dále proč byly tyto fibroblasty po dobu 3 dnů před stimulací cytokiny kultivovány v médiu s přidavkem kyseliny askorbové a pouze 0,1% FBS?
- V Tabulce 4 obsahující klinické charakteristiky pacientů a zdravých kontrol uvádíte, že postižením GIT trpělo 37,5% pacientů, přičemž v předchozích 3 skupinách jím trpělo více než 80% pacientů. Podobná situace je i v Tabulce 5, kde trpělo plicní fibrózou 20% pacientů, ale v předchozích skupinách to bylo více než 50%. Zajímalo by mě, čím by mohly být tyto rozdíly způsobeny?
- V úvodu píšete, že bylo doposud pro léčbu systémové sklerodermie testováno více než 70 preparátů. Zajímalo by mě, jaká je v současné době standardně používaná terapie u pacientů trpících systémovou sklerodermií a dále nějaké příklady testovaných neúčinných preparátů, o kterých mluvíte v úvodu.
- K práci jste přiložila článek Tomcik et al., 2015, na němž figurujete jako 4. spoluautor a který obsahuje i výsledky, které jsou součástí této diplomové práce (konkrétně Obr. 11-17). Mohu se zeptat, do jaké míry jste se zapojila do práce na této části výsledků?

K práci mám následující připomínky:

- v seznamu zkratk došlo na některých místech k problémům s formátováním
- některé zkratky jsou zaváděny v nesprávném pořadí (např.: IL, TGF, IFN, CTGF, PFA)
- v úvodu píšete, že „Na rozdíl od Th2 imunitní odpovědi je exprese Th1 antifibrotických cytokinů INF- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ ) a IL-10 u SSc redukována.“ Zde zřejmě omylem došlo k zařazení IL-10 mezi Th1 cytokiny.
- v textu se vyskytují některá spojení, která pravděpodobně vznikla neúplným překladem z angličtiny, například: Smad-nedependentní, anti-tumorové, pro-zánětlivé, non-regenerujícími

Výše zmíněné nedostatky nijak závažně nesnižují celkovou vysokou úroveň práce. Proto plně doporučuji přijetí této diplomové práce k obhajobě a ke kladnému hodnocení.

V Praze dne 12. 9. 2016

Mgr. Eliška Javorková, Ph.D