



**Oponentský posudek na diplomovou práci Ing. Daniela Sáncheze, Ph.D. nazvanou
„Autoprotilátky proti kalretikulinu u pacientů s dilatační a hypertrofickou kardiomyopatií“**

Daniel Sánchez předložil diplomovou práci studující výskyt antikalretikulinových protilátek a autoantigenů kalretikulinu v sérech pacientů s diagnózou dilatační nebo hypertrofické kardiomyopatie. Hlavními cíli této práce bylo určit přítomnost a analyzovat sérové hladiny protilátek proti kalretikulinu izotypu IgA a IgG a jejich subtypů, stanovit nejvyšší detekovatelné titry těchto protilátek a ověřit jejich reaktivitu s lidským rekombinantním kalretikulinem a jeho vybranými fragmenty. Dále provést analýzu antigenních epitopů kalretikulinu rozpoznávaných testovanými protilátkami a otestovat hladiny kalretikulinu v sérech pacientů.

Práce je klasicky členěna a obsahuje abstrakt v českém a anglickém jazyce, seznam zkratk, vytyčení cílů práce, literární přehled, podrobný popis použitého materiálu a metodik, výsledky, diskuzi, závěr a přehled použité literatury.

Při psaní literárního přehledu autor prokázal vynikající orientaci v literatuře týkající se dané problematiky. Text má vysokou formální úroveň, je vystavěn logicky, přehledně uspořádaný do podkapitol a poskytuje čtenáři prakticky vyčerpávající informace týkající se autoprotilátek a jejich role v souvislosti se srdečními onemocněními, přehled o klasifikaci, diagnostice, příčinách a terapii kardiomyopatií a dále kapitolu o struktuře a funkcích kalretikulinu v organismu.

Experimentální část práce obsahuje velký soubor výsledků, které jsou pečlivě zpracovány a jasně dokumentovány v grafech. Autor prokázal znalost řady laboratorních technik včetně SDS-PAGE elektroforézy, imunoblotu, Pepscanu a ELISA testu, který byl v rámci jejich laboratoře navíc i modifikován pro stanovení sérových hladin IgA a IgG antikalretikulinových protilátek.

Autor naplnil vytyčené cíle a jeho diplomová práce přinesla zajímavé a především zcela nové výsledky, které jsou velice kvalitně diskutovány. V této diplomové práci byl poprvé popsán výskyt protilátek proti kalretikulinu u pacientů s diagnózou dilatační nebo hypertrofické kardiomyopatie. Pomocí ELISA testu bylo prokázáno statisticky signifikantní zvýšení hladin sérových IgA a IgG protilátek proti kalretikulinu u obou skupin pacientů oproti kontrolní skupině krevních dárců, přičemž 44 % pacientů s dilatační kardiomyopatií a 47 % pacientů s hypertrofickou kardiomyopatií bylo



séropozitivních alespoň na jeden z testovaných izotypů antikalretikulinových protilátek. V této práci byla také poprvé prokázána séropozitivita protilátkových subtypů IgA1, IgA2 a IgG1 – IgG3 u části pacientů s dilatační nebo hypertrofickou kardiomyopatií. Titrační analýza provedená u pěti séropozitivních pacientů s dilatační nebo hypertrofickou kardiomyopatií průkazně detekovala antikalretikulinové protilátky v titrech 1/1600 u IgG, 1/800 u IgA a IgA1 a alespoň v titru 1/200 u IgG1, IgG2, IgG3. Metodou imunoblot byla potvrzena reaktivita IgA a IgG protilátek s kalretikulinem u pacientů s kardiomyopatiemi a metodou Pepsan byla provedena analýza antigenních epitopů kalretikulinu rozpoznávaných zkoumanými protilátkami. Rovněž bylo prokázáno významné zvýšení sérové koncentrace kalretikulinu u pacientů s hypertrofickou kardiomyopatií.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

- česká a anglická verze klíčových slov by se měla shodovat
- V případě skupiny pacientů trpících dilatační kardiomyopatií je průměrný věk 56 let, v případě pacientů trpících hypertrofickou kardiomyopatií je to 49 let, naopak u kontrolní skupiny krevních dárců je průměrných věk pouhých 31 let. Neuvažovali jste o úpravě složení kontrolní skupiny za účelem většího přiblížení věkovému průměru u pacientů s kardiomyopatií?
- Z údajů uvedených v tabulce s demografickými daty vyplývá, že v případě dilatační i hypertrofické kardiomyopatie jsou postiženi dvakrát častěji muži než ženy. Je tomu tak i všeobecně a napadá vás nějaké vysvětlení tohoto rozdílu?
- Ve své práci se zmiňujete, že jste zkoumali přítomnost antikalretikulinových protilátek i u pacientů trpících refrakterní celiakií. Mohl byste krátce říci jak častý je výskyt této nejzávažnější formy celiakie a jaká je její léčba?

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

V Praze dne 3. 6. 2016

Mgr. Eliška Javorková, Ph.D