

Vážený pan předseda OR
Prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc., MBA
1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy
Kateřinská 32
121 08 Praha 2

V Brně dne 7.3.2022

Vážený pane předsedo,
předkládaná disertační práce Mgr. Martina Řádka s názvem **Stanovení exprese markerů aktivace krevních destiček v patofyziologii trombotických stavů** se zabývá identifikací a kvantifikací v periferní krvi cirkulujících endotelových buněk (CEC) a endotelových progenitorových buněk (EPC) u pacientů s vrozenými trombofiliemi. Cílem bylo zhodnotit význam CEC a EPC jako markerů aktivity endotelu a trombocytů v souvislosti s rizikem vzniku či rekurence trombózy.

Práce je standardně členěna a přehledná, kdy v rámci 73 stran obsahuje všechny potřebné náležitosti. Současně je přílohou prvoautorská a také spoluautorská výsledková publikace. V teoretickém úvodu práce jsou na 37 stranách přehledně popsány a zdůvodněny potřeby analýz trombotických stavů vč. identifikace raritních endotelových buněk a jejich progenitorů. Jejich identifikace a stanovení počtu by napomohlo sledovat aktivitu vybraných onemocnění vč. monitorování případných trombotických komplikací v čase.

Vědecká hypotéza a cíle práce jsou vhodně zvoleny a logicky na sebe navazují.

Co se týče metodologie, vybraná metoda s využitím průtokové cytometrie je vhodným přístupem k detekci těchto raritních subpopulací a byla správně aplikována, přičemž nebyla zanedbána také preanalytická fáze vlastních analýz. Přestože analýza subpopulací CEC a EPC není úplně novým tématem, zde byla oproti starším pracem provedena také tzv. „bulk lysis“, nezbytná pro zpracování vyšších objemů vzorků a jejich zakoncentrování, a dále rozšířen panel analyzovaných znaků vedoucí k jednoznačné identifikaci sledovaných subpopulací.

Jako možná poněkud nedostatečné se jeví použití pouze abs. počtu CEC a EPC/ul získaného přepočtem z WBC. Vlivem zpracování vzorku (lýza, opakované stáčení a odstraňování supernatantu) zcela určitě dochází v analyzovaném materiálu ke zkreslení vstupního WBC, proto by bylo vhodné doplnit i relativní počet CEC/EPC ze všech CD45⁺ buněk. Standardně používané postupy na stanovení abs. počtu buněk/ul pracují s přístupem „lyse no wash“, tedy lýza bez promytí. Což samozřejmě u zpracování vysokých objemů periferní krve není možné, nicméně je nutné počítat se ztrátou buněk v důsledku zpracování.

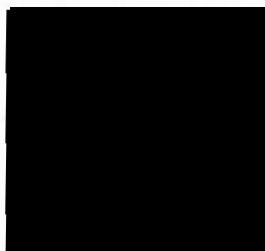
Přestože se u pacientů s trombofilií nepodařilo prokázat změny počtu CEC a EPC oproti zdravým kontrolám, použité „pozitivní“ kontroly vykazovaly statisticky zvýšený počet CEC i CEP oproti zdravým kontrolám, a tedy je evidentní, že použitá metodika je funkční. Vzhledem k nízkému počtu analyzovaných pacientů s akutní trombózou se této skupině nelze vyjádřit, nicméně autor se této problematice hodlá i nadále věnovat a je tedy možné, že dospěje k významnějším výstupům až s početnější skupinou trombotických pacientů.

I přes drobnou připomínku, nutno konstatovat, že autor naplnil stanovené cíle, a tedy předkládanou disertační práci shledávám jako kvalitní a dostatečnou pro průkaz předpokladů autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

Disertační práci proto doporučuji přijmout k obhajobě podle § 47 vysokoškolského zákona č. 111/1998 Sb.

Otázky:

1. Hodlá se autor věnovat, v rámci analýz CEC/EPC, i specifickým diagnózám z oboru hematologických malignit?
2. Jakým metodologickým způsobem by se ještě dala analýza CEC/EPC rozvinout?



Mgr. Lucie Říhová, Ph.D.
Oddělení klinické hematologie
FN Brno, NBP
Jihlavská 20
625 00 Brno