



## 3. interní klinika VFN & 1. LF UK

---

128 08 Praha 2, U Nemocnice 1

### Oponentský posudek na disertační práci

**Téma:** Ovlivnění kvality, funkce a výsledků transplantace pankreatických ostrůvků pomocí RNA interference

**Autor disertační práce:** Mgr. Lucie Kosinová

**Školitel práce:** doc. MUDr. Jan Kříž, Ph.D.

**Pracoviště:** IKEM, Praha

**Studijní program:** Biochemie a patobiochemie

Předkládaná disertační práce se zabývá problematikou transplantace inzulín produkující tkáně u diabetiků 1. typu jako dosud jediné možné kauzální léčby těchto nemocných. Experimentální výzkum je věnován možnostem zlepšení účinnosti metody transplantace Langerhansových ostrůvků v časném potransplantačním období, zejména v předcházení nespecifické okamžité krví zprostředkované zánětlivé reakce, jež je příčinou vysokého neúspěchu této metody.

Obecná část se zabývá podrobným literárním přehledem dané problematiky. Autorka podrobněji rozebírá jednotlivé možnosti transplantace Langerhansových ostrůvků, včetně zkušenosti z referujícího pracoviště, ale i úskalí těchto metod. Obecná část je psána velice precizně a srozumitelně, obsahuje všechny podstatné informace a je zřejmé, že autorka získala velmi dobré znalosti v řešené problematice. Pro pochopení důvodů následného experimentálního výzkumu jsou vysvětlující informace vyčerpávající. Použité zdroje jsou adekvátní a obsahují i práce z posledních let.

Vlastní výzkumná experimentální část byla prováděna v laboratořích IKEM na zvířecích modelech (potkani kmene Brown Norway) a je logicky členěna do tří částí. První část se věnuje výběru vhodné endogenní kontroly pro posouzení normalizace genové exprese během krátkodobé kultivace v izolovaných Langerhansových ostrůvcích. V druhé části se autorka zabývá možnostmi přesného zobrazení a kvantifikace ischemie jater po transplantaci Langerhansových ostrůvků u potkana in vivo. Autoři vytvořili nový experimentální model umožňující získání přesnějších výsledků oblastí neperfundovaných jater pomocí magnetické rezonance. Nejzajímavější a zároveň jako nejpřínosnější hodnotím část třetí, která posuzuje možnosti inhibice tkáňového faktoru v buňkách Langerhansových

ostrůvků pomocí RNA interference. Transfekcí siRNA proti tkáňovému faktoru do buněk izolovaných potkaních Langerhansových ostrůvků autoři docílili snížení intenzity nespecifické zánětlivé odpovědi zprostředkované krví, dále snížili rozsah ischemizované jaterní tkáně, což vedlo k rychlému a kompletnímu vyléčení všech potkanů. Ovšem tyto výsledky platí pouze ve skupině, kde metodologicky byla použita lipofekce, zatímco použití mikroporace se ukázalo jako neefektivní. Hypotézy byly postulovány dostatečně. Ve této části jsou v českém jazyce shrnuty základní metodologické postupy, výsledky a souhrnná diskuse. Součástí přílohy disertační práce jsou vlastní odborné články, které byly publikovány v zahraničních časopisech s impakt faktorem a podrobněji rozebírají studovanou problematiku v anglickém jazyce. Vlastní výzkumná část je po odborné stránce psána také precizně a závěry jsou zajímavé a velice přínosné. Prohlubují naše znalosti o možnostech efektivnější a bezpečnější transplantace Langerhansových ostrůvků a co je neméně důležité mohou mít přesah i do klinické praxe.

Dotazy týkající se disertační práce:

1. Čím si vysvětlujete tak výrazný rozdíl ve výsledcích transfekce siRNA mezi metodami lipofekce a mikroporace?
2. Jak dále plánujete ověřit výsledky Vaší práce s transfekcí siRNA na jiném zvířecím modelu? Jak je reálné otestovat je v klinické humánní studii?
3. Jaká jsou dlouhodobá rizika implantace Langerhansových ostrůvků do jaterního řečiště? Může ischemizace a případné fibrotické změny navozené přítomností transplantátu a reakcí krevních elementů vést ke změnám ve smyslu NAFLD či jaterní cirhózy?

**Souhrnně lze říci, že předkládaná disertační práce má velmi dobrou úroveň a z publikovaných výsledků jsem upřímně nadšen. Oceňuji i formální stránku disertační práce, neboť je psána velmi pěknou češtinou a zcela bez gramatických či stylistických chyb. Mgr. Kosinová prokázala velmi dobré teoretické znalosti studované problematiky, osvojila si práci s experimentálními zvířecími a publikované výsledky v renomovaných časopisech považuji za velice přínosné a s předpokládaným přesahem do klinické praxe.**

**Mgr. Lucie Kosinová splňuje všechny předpoklady a při zodpovězení výše uvedených dotazů vřele doporučuji udělení titulu Ph.D.**

V Praze dne 15.června 2022



doc. MUDr. Ondřej Petrák, Ph.D.