

## **Posudek na doktorskou disertační práci MUDr. Mariany Wohlfahrtové: Predikce časného rozvoje funkce a rejekce transplantované ledviny**

Disertační práce dr. Wohlfahrtové měla za cíl identifikovat genové markery v biopsiích ledviny u dárce, které by predikovaly opožděný nástup funkce štěpu. Současně bylo cílem vytvořit kombinaci histologického nálezu v biopsii dárce a klinických charakteristik algoritmus umožňující odhadnout riziko vzniku opožděné funkce štěpu. V práci byl rovněž zkoumán efekt indukční imunosupresivní léčby na transkriptom v protokolární biopsii štěpu ve 3. měsíci a prediktivní hodnotu exprese vybraných genů v periferní krvi na výskyt akutní rejekce štěpu. Práce samotná má 107 stran včetně literatury, součástí jsou kompletní publikace *in-extenso*.

Teoretický úvod přehledně shrnuje definice, rizikové faktory a dopad opožděné funkce štěpu. Následuje velmi dobře zpracovaný souhrn patofyziologie ischemicko/reperfuzního poškození štěpu. Poslední část sumarizuje současné poznatky o možnosti předvídat výskyt opožděné funkce štěpu včetně aplikace molekulárně biologických metod. V další části práce jsou rozebrány původní studie. První studie hodnotila intrarenální transkriptom v průběhu ischemicko/reperfuzního poškození. Ve druhé studii se autoři pokusili sestavit model predikující opožděnou funkci štěpu pomocí kombinace vybraných histologických kritérií a klinických parametrů dárce a příjemce. Ve třetí studii autoři porovnávali genovou expresi v protokolární biopsii u štěpů s normální histologií a stabilní funkcí podle zvolené indukční imunosupresivní léčby. Poslední studie zkoumala význam genů asociovaných s operační tolerancí u pacientů užívajících běžnou imunosupresivní léčbu.

Všechny studie byly publikovány ve významném časopise v oboru orgánových transplantací *Transplantation* s IF 3,78. Ve dvou studiích je autorka disertační práce hlavním autorem, ve zbylých dvou figuruje mezi spoluautory.

Z prezentovaných studií vyplývají následující závěry:

Bylo prokázáno, že v průběhu reperfuze dochází ke zvýšení exprese genů asociovaných s aktivací přirozené a adaptivní imunity nebo s apoptózou. Snížená exprese genu pro Netrin-1 v kombinaci se zvýšením histologického skóre tubulární atrofie predikuje opožděný rozvoj funkce štěpu. Pomocí modifikovaného histologického skóre v biopsii u dárce zahrnující fibrózu intersticia a fibrózní ztluštění intimy v kombinaci s jednoduchými klinickými parametry dárce (věk, příčina úmrtí) je možné identifikovat štěpy od marginálních dárců s nízkým rizikem opožděné funkce štěpu. Indukční léčba thymoglobulinem vykazuje nižší expresi prozánětlivé signální dráhy NF- $\kappa$ B v porovnání s jiným králíčím antithymocytárním globulinem (ATG-F), přestože v obou skupinách byl normální histologický nálezný a dobrá funkce štěpu. V periferní krvi jsou u pacientů bez akutní rejekce exprimovány geny asociované s B lymfocyty podobně jako je tomu u pacientů s operační tolerancí bez imunosupresivní léčby.

Prezentované studie rozšiřují poznání patofyziologie opožděné funkce štěpu a definují rizikové faktory. Novým poznatkem je identifikace nedostatku projektivních faktorů (inhibitoru apoptózy Netrin-1) ischemicko/reperfuzního poškození jako prediktoru pro vznik opožděné funkce štěpu. V souhrnu studie dokládají zásadní význam chronických ireverzibilních změn v renálním parenchymu dárce (tubulointersticiální a cévní poškození) pro následný vznik opožděné funkce štěpu.

Práci dr. Wohlfahrtové hodnotím jako nadstandardně kvalitní doktorskou disertační práci, jejíž vědecké výsledky úspěšně prošly recenzním řízením v několika kvalitních zahraničních časopisech. Autorka je prvním autorem ve 2 ze 4 originálních studií detailně komentovaných v disertační práci. Současně je hlavním autorem další tematicky příbuzné originální práce a přehledného článku v časopise s impakt faktorem. Figuruje mezi spoluautory několika dalších publikací výzkumného týmu nefrologie IKEM. Tyto skutečnosti dokládají výbornou vědeckou úroveň autorky. Disertační práce má

určité nedostatky, které shrnuji níže. Nedomnívám se ale, že by měly představovat zásadní problém pro úspěšnou obhajobu.

- 1) Teoretická část se zabývá pouze problematikou opožděné funkce štěpu, přestože podstatná část původního výzkumu disertace se věnuje predikci akutní rejekce a vlivu indukční imunosuprese na aloimunitní responsi.
- 2) Publikace v *Kidney Blood Press Res*, která je zařazena mezi publikace související s disertační prací, by měla být stručně komentována a přiložena *in-extenso* k disertaci.

K autorce mám následující otázky:

- 1) Jak lze vysvětlit příznivou genovou expresi ve smyslu potlačení dráhy NF- $\kappa$ B v protokolární biopsii ve 3. měsíci u thymoglobulinu v porovnání s ATG-F v kontextu s vývojem renální funkce v dalších 2 letech, kde bylo patrné zlepšování u ATG-F a mírné zhoršení u thymoglobulinu? Jaká jsou klinická data porovnávající ATG-F a thymoglobulin?
- 2) Lze v reálné klinické praxi s ohledem na nedostatek času při přípravě pacienta k transplantaci aplikovat molekulárně biologické metody k vyšetření rizikových markerů (např. Netrin-1) pro rozhodnutí o alokaci ledvin od marginálních dárců?

Závěrem se domnívám, že disertační práce dr. Wohlfahrtové splňuje všechny předpoklady k úspěšnému obhájení a proto doporučuji, aby se stala podkladem pro udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Plzni 4.1.2015

Doc. MUDr. Tomáš Reischig, Ph.D.

Vedoucí nefrologie, I. interní klinika

Fakultní nemocnice

Univerzity Karlovy, Plzeň