



2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UNIVERZITA KARLOVA

Klinika dětské hematologie a onkologie
2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole
Přednosta: Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc

Posudek diplomové práce Bc. Petry Hadlové

Diplomová práce Bc. Petry Hadlové se zabývá vývojem metody cytometrické detekce antigen specifických buněk pro stratifikaci a monitorování pacientů s karcinomem močového měchýře.

Práce je pečlivě a rozsáhle zpracovaná s bohatým úvodem do problematiky a dobře zpracovaným citačním aparátem.

V praktické části autorka nejprve provádí optimalizační experimenty především titraci protilátek kompenzaci panelu a detekci kompenzačních přesvitů. Zde není oponentovi zcela jasné zda byly titrovány všechny protilátky včetně detekčních protilátek pro aktivační markery a cytokiny, kde by to bylo nejvíce přínosné? Při detekci přesvitů dochází k závěru, že podstatně ovlivněné jsou kanály kde detekuje cytokiny. Nicméně s touto důležitou informací nějak dál nepracuje.

V dalších experimentech, kde používá silnou stimulaci PMA (v obrazku 19-21) nepoužívá k definici T lymfocytů anti CD3, což zvláště při snížení CD4 po stimulaci problematizuje definici CD8 neg buněk jako CD4 T lymfocytů.

Proč autorka prezentuje výsledky experimentů vždy jako jednoparamaterová měření, přestože sama uvádí že výhodou cytometrie je mnohorozměrná informace?

Největší výhrady mám k poslednímu experimentu, kde autorka používá CMV lyzát pro specifickou aktivaci. Je dárce skutečně CMV seropozitivní? Proč není ukázána detekce cytokinů? Jak si vysvětluje, že množství pozitivních buněk vzrůstá z 0,02% na 7,7%? Je možná takto rychlá expanze in vitro? Je možné očekávat, že CMV lyzát bude stimulovat optimálně CD8 lymfocyty? Tomuto závěrečnému experimentu chybí dostatečná diskuse výsledků a porovnání s očekávanými výsledky dle literatury.

Obecně je slabinou práce fak, že přestože cílí na vývoj metody detekce BCG specifických buněk, žádný takový experiment nebyl dokumentován.

Přes shora uvedené slabiny doporučuji práci k obhajobě diplomové práce.

Dne 18.1. Ve Fugen, Rakousko

Doc. MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D.

CLIP - Cytometrie, Klinika dětské hematologie a onkologie
Universita Karlova - 2. lékařská fakulta