

## **Oponentský posudek na diplomovou práci**

Název práce: Diferenciace lidských M2 monocytů/makrofágů a jejich úloha u transplantací ledvin  
Jméno autora(ky): Bc. Barbora Čápová  
Oponent Doc. RNDr. Magdaléna Krulová Ph.D

Předložená diplomová má dvě části. Prvním cílem je standardizovat model diferenciací nádorové linie THP-1 a primárních lidských monocytů směrem k protizánětlivému M2 fenotypu. Druhým cílem bylo určit změny v expresi molekul CD163 a CD206 spojených s M2 fenotypem u pacientů po transplantaci ledvin. Práce je členěna standardně, obsahuje kapitoly: český a anglický abstrakt, úvod, teoretická část, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuze, závěr, seznam použitých zkratk a seznam použité literatury. Anglický abstrakt je bohužel zatížen slabou úrovní angličtiny.

V teoretické části autorka shrnuje znalosti o monocytech a makrofázích, jejich vývoji, funkci, receptorech a jednotlivých subpopulacích těchto buněk. Dále jsou zde shrnuty základní poznatky o transplantační imunologii se zaměřením na transplantace ledvin. Tato část je napsána poměrně přehledně a čtivě, formální úroveň práce je velmi dobrá, bohužel autorka prokázala velké neznalosti v práci s literaturou. Celá úvodní část je založena na citaci review a několika učebnic, prakticky chybí primární literatura a pokud jsou primární články použity, jsou citovány nesprávně (fakta uvedená v „introduction“ např. citace Sekerková et al. 2014), některé citace chybí v seznamu použité literatury (např. Jenkins, 2014; Levinson, 2014).

V kapitole Materiál a metody jsou vysvětleny použité metodiky, pracovní postupy jsou popsány velmi podrobně, takže jistě umožňují jejich přesné opakování. V této části chybí kapitola shrnující statistické vyhodnocení výsledků.

V kapitole 4.3.1 autorka shrnuje izolaci monocytů z buffy coatu. Z popisu není jasné, jestli došlo k odstranění lymfocytů z mononukleární frakce získané po izolaci na Ficollu. Pokud ne, ve všech dalších metodikách nejsou stimulovány pouze monocyty, ale všechny leukocyty, jejichž vzájemná interakce může významně ovlivnit výsledek všech pokusů, což by mělo být v práci uvedeno a diskutováno.

Není jasné, jestli v kapitole 5.4 jsou monocyty izolovány před, nebo po nasazení indukční léčby, což může být významné z hlediska získaných výsledků.

Výsledky jsou shrnuty poměrně přehledně v grafech, doporučuji aby obrázky vždy byly na jedné straně (viz. str. 39 a 45). Chybí obrázek ke kapitole 5.1. Zajímalo by mě, na jakém základě byly zvoleny monocyty v gateovací strategii (obr. 11). Prosím autorku, aby při obhajobě ukázala celou strategii, včetně živých buněk a back-gatů.

Výsledky jsou vhodně diskutovány v kapitole Diskuse.

Literárních odkazy použité v diplomové práci jsou až na výše zmíněné připomínky správně citovány.

Doplňující otázky:

- Na straně 25 uvádí autorka rozdělení imunosupresiv na indukční, udržovací a protirejekční. V tomto dělení však imunosupresiva mohou patřit do více skupin. Jaké by bylo dělení podle mechanismu působení?
- Na základě čeho byly vybrány cytokiny použité ke stimulaci/diferenciaci THP-1 buněk a monocytů? Proč nebyl zvolen IFN- $\gamma$ , jako cytokin, který vede diferenciaci M1 směrem?
- U populací CD14+CD206+ a CD14+CD209+ došlo k významnému nárůstu i bez stimulace, případně po stimulaci TNF- $\alpha$ . Je tento jev popsán v literatuře? Jedná se o jev specifický pro znaky M2 monocytů/makrofágů?
- Po stimulaci cytokiny byly zjištěny rozdíly mezi populacemi CD14+CD163+, CD14+CD206+ a CD14+CD209+ (graf 1, 2 a 3), Jsou popsány rozdíly v jejich funkci? Jsou popsány rozdíly ve funkci nebo jiných vlastnostech u těchto dvou populací, případně populací CD14+CD163+CD206+?
- Jaký je vliv indukční, respektive následné imunosupresivní léčby na populaci monocytů/makrofágů?

Celkově bych předložené diplomové práci vytkla především chyby v práci s literaturou v teoretické části a nejasností v části metodické a výsledkové. Přes všechny výhrady předložená práce splňuje požadavky na diplomovou práci, proto ji doporučuji k obhajobě.

V Praze

dne 16.1.2019

.....  
podpis oponenta