OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy

Studentka: Bc. Radka Císařová

Vedoucí práce: MUDr. David Funda, Ph.D.

Oponent: Mgr. Zdeněk Zadražil, Ph.D.

Název práce:

Effect of the gluten-free diet on potentially regulatory immune mechanisms in human type 1 diabetes

Studentka zvolila zajímavé a velmi aktuální téma. Tato diplomová práce zkoumala změny regulačních buněk a jejich cytokinů v mononukleárních buňkách periferní krve u dětí s Diabetem 1.typu (T1D). Dalším cílem práce bylo zjistit, zda lze vliv bezlepkové diety na regulační funkce imunitního systému přenést do bezmikrobního NOD myšího modelu, pomocí jejich kolonizace mikrobiotou (v práci někdy nesprávně zaměňováno za termín mikrobiom) od dětí s T1D.

Práce je klasicky rozdělena do úvodu, metodiky, výsledků, závěru a diskuze a čítá 60 stran psaného textu.

Diplomová práce Bc. Radky Císařové je vypracována v anglickém jazyce, což oceňuji. Bohužel text ale obsahuje množství gramatických chyb a často příliš kopíruje český slovosled a skladbu vět, což se podepisuje na čtivosti a někdy i srozumitelnosti celého textu.

Úvod práce je obsáhlý. Ovšem část o regulačních a potenciálně regulačních T buňkách není logicky vhodně strukturovaná a nepodává ucelené pojednání. Chybí mi například lepší popis jednotlivých populací paměťových T buněk, či změna exprese isoforem CD45 při jejich diferenciaci. Studentka přitom jednotlivé isoformy používá pro identifikaci odlišných paměťových populací T buněk. Tato poměrně komplikovaná část by zasloužila lepší zpracování, zvláště pak proto, že regulační T buňky u T1D jsou hlavním tématem výzkumu této práce.

Metodika dobře zpracovává použité postupy. Studentka používala jako hlavní metodu průtokovou cytometrii. Ve strategii oddělování populací paměťových T buněk se dle mého názoru vyskytují nepřesnosti. Projevuje se možné nedostatečné nabarvení buněk, hlavně co se týče exprese CD45RO, a nepřesné oddělení jejich populací, které částečně splývají, (Figure 17). Dále například (Figure 13 a 14) chybí FMO kontroly. Bez nich nelze s jistotou tvrdit, že sledované populace skutečně produkují dané cytokiny. Doporučil bych také zařadit jednotlivé panely z průtokové cytometrie. Ze seznamu použitých protilátek není zřejmé, které byly současně použity v jednom panelu.

Diskuze čítá necelých 6 stran a je poněkud slabší. Hned první strana by se hodila spíše do úvodu a opakují se zde stejná prohlášení (citace 8-10). Studentka začíná s hodnocením zastoupení Tr1 buněk. Dále odkazuje na své výsledky, že většina Tr1 buněk produkovala IL-10 (Figure 15A). V tomto grafu ale není produkce IL-10 Tr1 buňkami, nýbrž produkce CD4 T buněk. Stejné výsledky jsou potom zmíněny znovu, tentokrát ale

opět v kontextu CD4 T buněk. Na další straně není na první pohled jasné, které výsledky jsou z diplomové práce a které jsou citovány z jiných výzkumů. Zde by byla potřeba lepší strukturalizace. V diskuzi dále postrádám rozbor limitací celé studie.

Závěr teze pak už lépe sumarizuje, co nového diplomová práce přináší.

Literární rešerše obsahuje 169 citací včetně velmi recentních prací. V diskuzi by ale jistě mohly být citovány další práce, které by podpořily případné nové teorie.

Závěrem, téma výzkumu Bc. Radky Císařové považuji za vhodně zvolené a zajímavé. I když by samotná diplomová práce zasloužila preciznější zpracování, zejména po formální stránce, jednoznačně ji doporučuji k obhajobě.

Otázky:

1. Studentka několikrát zmiňuje, že její práce se zabývá mimo jiné potencionálně regulačními buňkami. Proč nebyly v experimentech sledovány i CD8 T buňky? Jak je to s CD8 regulačními T lymfocyty a Diabetu 1.typu, mají nějakou roli a je jejich existence dobře potvrzena?

2. Jak je to se stabilitou mikrobioty při kolonizaci bezmikrobních myší střevními bakteriemi od dětí s T1D?

3. Sledování imunitních populací v orgánech kolonizovaných myší bylo proveden dříve, než došlo k rozvoji T1D. Proč tomu tak bylo?

4. Proč jste v experimentech nehodnotila i CD4 terminálně diferencované T lymfocyty (tedy paměťové buňky re-exprimující CD45RA)? Ví se něco o jejich roli v T1D?

Komentář:

Hodnocení výsledků, které nejsou signifikantní ale vykazují určitý trend, musí být provedeno s velkou opatrností a nemůže docházet k přílišné extrapolaci. Studentka například tvrdí, že u dětí na bezlepkové dietě dochází k snížení IFN-γ a IL-17 produkujících CD4 T buněk. Pokud se ale podíváme na standartní odchylky odpovídajícího grafu, nic takového tvrdit nelze (Figure 15 B, C)

V Praze 10.9.2020

Mgr. Zdeněk Zadražil, Ph.D.