



Sektor imunologie a gnotobiologie

Ved.: prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc.

Videňská 1083

142 20 Praha 4

Praha, 7. června 2012

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Zdeňka Zadražila “Studying the immune system using the MHC class II/EGFP knock-in mouse model”

Diplomová práce Bc. Z. Zadražila se zabývá velice zajímavým a významným tématem - studiem imunitního systému u EGFP-MHC class II+ myšího modelu, který umožňuje vizualizaci MHC II+ buněk. Diplomant využil tento výhodný model pro pozorování antigen prezentujících buněk ve střevě, mléčné žláze a v rohovce. Diplomová práce má velice pečlivě a přehledně uspořádaný Úvod týkající se tohoto unikátního modelu a obsahujícího stručný přehled o slizničním imunitním systému. Diplomová práce je pečlivě uspořádaná a dobře srozumitelná, včetně kapitol Materiál a metody, Výsledky a Diskuse. Celá diplomová práce ukazuje neobvyklou šíři metodických přístupů, které autor použil a současně přináší řadu zajímavých výsledků, z nichž si nejvíce cením originálního nálezu MHC II pozitivních buněčných shluků ve střevě, které diplomant se svými spolupracovníky nazval “micropatches”. Autor diplomové práce se zaměřil na studium ontogeneze těchto zajímavých útvarů a zjistil, že se objevují až v době po odstavu myší. Přestože dosud není objasněna struktura ani funkce těchto útvarů ve slizničním systému myší, je tento nálezu velice významný, rozšiřující poznatky o organizovaných strukturách lymfatického aparátu střevního imunitního systému. Dalším zajímavým nálezem je migrace MHC II pozitivních buněk do mléčné žlázy během laktace a charakterizace buněčných typů. Diplomant našel v laktující mléčné žláze myší bakterie, u nichž je možné v souhlase s literaturou předpokládat, že migrovaly z lumen střeva do mléčné žlázy. Proto Zdeněk Zadražil navíc připravil vektor s genem, který kóduje červený fluorescentní protein, což umožní sledování osudu bakterií a jejich průniku do laktující mléčné žlázy. Dalším zajímavým nálezem uváděným v diplomové práci je průkaz MHC II pozitivních makrofágů v rohovce.

K práci mám několik připomínek. Nejzávažnější připomínkou je to, že ani v části Materiál a metody, ani ve Výsledcích není uváděn počet myší, na kterých byly pokusy dělány, ani kolik pokusů bylo provedeno. Hodnocení pomocí histologie a průtokové cytometrie je velice působivé, ale chybí tabulky, které by zhodnotily nálezy kvantitativně. Chybí také údaje o období laktace, ve kterém byla analýza provedena.

Při čtení diplomové práce mne napadlo několik otázek.

1) Zajímalo by mne, jakým způsobem diplomant vylučuje přítomnost M buněk v “micropatches”, protože frekvence M buněk je přibližně 1 na 100-1000 konvenčních enterocytů.

- 2) Proč autor vylučuje přítomnost MHC II pozitivních B buněk v laktující žláze? V Diskusi uvádí, že většina mléčných imunoglobulinů přichází z mateřského séra, což neodpovídá převaze sekrečního IgA, tj. polymerní formy tohoto izotypu.
- 3) Jak si autor diplomové práce vysvětluje nález MHC II pozitivních makrofágů v rohovce? Přítomnost MHC II pozitivních buněk, včetně makrofágů, byl již před časem popsán v podobném systému (Knickelbein a spol., Ophthalmol. Eye Dis. 2009, 1, 45-54).
- 4) Jak si autor diplomové práce vysvětluje vývoj “micropatches” až v době odstavu?

Závěr

Diplomová práce Bc. Zdeňka Zadražila obsahuje všechny náležité součásti a jasně prokazuje schopnost autora zapojit se do řešení vědeckého problému neobvykle širokým spektrem metodik. Práce přinesla nové originální výsledky, jejich zhodnocení však vyžaduje formální zpřesnění získaných dat. Tyto zajímavé výsledky by měly být brzy publikovány, avšak s uvedením patřičných kvantitativních údajů. Doporučuji práci přijmout jako podklad pro získání titulu Magister.

Prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.