

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: RNDr. Veronika Kanderová, Ph.D.

Datum: 2.9.2016

Autor: Bc. Nicole Matějčková

Název práce: Imunomodulační vlastnosti mezenchymálních kmenových buněk pacientů s amyotrofickou laterální sklerózou a zdravých dárců

Cíle práce:

- 1) Charakterizovat mezenchymální kmenové buňky (MSC) od pacientů s amyotrofickou laterální sklerózou (ALS) a zdravých dárců z hlediska imunofenotypu, metabolické aktivity, diferenciálního potenciálu a exprese genů pro vybrané imunomodulační molekuly.
- 2) Porovnat imunomodulační schopnosti MSC od pacientů s ALS a zdravých dárců z hlediska působení na buňky přirozené imunity a dále působení na buňky adaptivní imunity, včetně aktivace cytotoxických T-lymfocytů a pomocných T-lymfocytů a vlivu na populace Th1, Th2, Th17 a regulačních T-lymfocytů.
- 3) Zjistit, zda jsou imunomodulační vlastnosti MSC ovlivněny vybranými prozánětlivými cytokiny.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 83 včetně hlavní strany, abstraktu a obsahu

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova: ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? 11 (Izolace a kultivace MSC, izolace PMBC, test metabolické aktivity MSC, test diferenciacie MSC, mikroskopie, real-time PCR, imunofenotypizace pomocí průtokové cytometrie, ELISA, funkční testy (vliv MSC na proliferaci, aktivaci a na změny v subpopulacích T-lymfocytů).

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Literární úvod je velmi kvalitně zpracován. Studentka prokazuje, že umí pracovat s textem. Přehledně shrnuje současné znalosti o mezenchymálních kmenových buňkách, jejich vlastnostech a vlivu na buňky imunitního systému. Experimentální část demonstruje zvládnutí řady technicky složitých metod, statistického i grafického vyjádření dat. V grafické části jsou občas hůře čitelné popisy grafů, tento malý nedostatek ale mohl být způsoben převedením práce do formátu pdf. Po formální stránce je práce velmi dobře zpracována, s minimem chyb.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

V diplomové práci studentka splnila všechny sledované cíle. Závěry vyplývající ze získaných dat jsou srozumitelně popsány i graficky vyjádřeny, diskuze dobře popisuje návaznost získaných dat na jiné publikované výsledky.

Celkově považuji předkládanou diplomovou práci za kvalitní, vyhovující všeobecným požadavkům kladeným na diplomové práce.

Otázky a připomínky oponenta:

1) V experimentech jste jako kontrolní MSC používali buňky od pacientů podstupujících převážně ortopedické operace. Co znamená „převážně“? Kdo byli ostatní „imunologicky zdraví“ dárči?

2) Ve funkčních testech jste testovali imunomodulační vlastnosti MSC a jejich vliv na proliferaci a aktivaci buněk izolovaných z periferní krve (PBMC). Tyto PBMC ale byly alogenní, byly izolovány od jiného dárce periferní krve. Testovali jste někdy i vliv MSC na vlastní PBMC pacienta nebo kontrolního dárce? Jsou takové práce již publikované? Pro- či proti-zánětlivé prostředí pacienta či dárce může ovlivnit i jeho buňky periferní krve, které se pak mohou v reakci na působení MSC chovat odlišně než popisujete.

3) Intracelulární detekce transkripčních faktorů T-BET, ROR γ t a GATA-3 pomocí průtokové cytometrie je technicky složitá, velmi závisí na tom, jaké použijete fixační a permeabilizační činidlo. Zkoušeli jste (popř. jak?) tuto detekci optimalizovat před použitím v testech u pacientů a kontrolních dárců? Otázku kladu proto, že osobně znám nesnáze spojené s detekcí intracelulárního faktoru GATA-3.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

