

## Oponentský posudek na diplomovou práci

Název práce: Imunotypové rozdíly v subpopulacích CD27+ B lymfocytů u zdravých kontrol a pacientů s různými imunopatologiemi

Autor: Bc. Pavla Valatová

Rok: 2016

Diplomová práce je logicky členěna na úvod, cíle práce, literární přehled, metody a materiály, výsledky, diskusi, závěr a seznam použité literatury. Celkový rozsah práce je 109 stran, samotný text je tvořen 95 stranami včetně 17 stran seznamu použité literatury.

Práce obsahuje abstrakty v českém a anglickém jazyce, seznam zkratk.

Cíle práce byly zaměřeny na sledování variability a imunofenotypových rozdílů CD27+ B lymfocytů u kontrol a vybraných skupin pacientů s použitím průtokové cytometrie.

Literární přehled odpovídá tématu práce včetně vysvětlení principu použité laboratorní metody v experimentální části.

Použitá literatura je citována jednotnou formou, celkem je uvedeno 178 citací, jsou citovány práce od roku 1885 (1965) do současné doby.

Diplomová práce má jak formální, tak i faktické nedostatky:

V číslování stránek, a tak i v započítávaném rozsahu práce, jsou zahrnuty všechny strany včetně strany titulní, prohlášení, abstraktů a obsahu, zkratk.

Seznam zkratk není kompletní (např. FO – folikulární lymfocyty, str. 30).

V textu práce je mnoho překlepů (v abstraktu, obsahu, v textu i přehledu literatury), např. Ind namísto IgD (str. 21), citometrie (str. 61, 105, 106), izotop namísto izotypu (např. str. 30, 34, 35, 38), Goodpasteurův namísto Goodpastureův syndrom, Hodkin namísto Hodgkin (str. 53), „v tomto project..“ (str. 76).

Nejednotné značení pozitivních buněk je v celém textu práce (normální písmo nebo horní index).

Obrázky a tabulky: Tabulka 1 (str. 19), obrázek 3 – špatná citace. Obrázek 1 (str. 22) – špatně uveden zdroj (je to sekundární citace). Zdroj obrázku 10 (str. 62) není uveden v seznamu použité literatury. Na str. 38 je v textu odkaz na obrázek 10, který obsahově s textem vůbec nesouvisí, tématicky odpovídající obrázek chybí. V textu není odkaz na obrázek 8 – překlad popisku navíc neodpovídá originálu.

Literatura: Seznam použité literatury nedodržuje v celém rozsahu abecední pořadí (str. 93, 94, 95, 96, 97, 98, 101, 103, 106, 107, 109). Klein et al. 1998 je uveden 2x (1x chybí název časopisu), Male 2006 je uveden 2x. 34 prací není správně citováno, chybí název časopisu či knihy. U knih nejsou v některých případech uvedeny konkrétní citované stránky nebo stránkový rozsah celé knihy. V seznamu literatury a v textu nejsou označeny a uvedeny zdroje sekundárních citací (např. pro Flemming W. 1885). Některé v textu citované práce v seznamu chybí (např. str. 46 Cooper 1965, str. 23 Li et al. 1993). Citace Stříž et al. 2015 na str. 46 neodpovídá uvedenému textu.

Obsah práce:

Není jasný rozsah vlastní práce studentky (odběr vzorků, jejich značení, měření, podíl na statistickém zpracování).

V abstraktu českém i anglickém jsou použity některé nevhodné termíny: „buněčné populace byly deprivovány ve srovnání s kontrolami“, „ulcerativní kolitida“ (namísto ulcerózní).

V literárním přehledu nemohu souhlasit s některými tvrzeními o T lymfocytech (str. 21, 22): „...T lymfocyty se přeměňují v cytotoxické T-buňky...Této imunitě se říká buněčná.“. T pomocné lymfocyty jsou zmiňovány až později, navíc s použitím označení T1 a T2, namísto

správného označení Th1 a Th2. Není uveden zdroj s chybnými informacemi, které jsou takto citovány. Nelze pochybovat, že se B lymfocyty uplatňují v patogenezi mnoha chorob. V práci jsou navíc rozebírány diagnózy, jejichž nositelé možná byli také vyšetřeni, ale jejichž výsledky nejsou v práci prezentovány (Bechtěrovova choroba, revmatoidní artritida, kolorektální karcinom, str. 53-56). Chybí ale podrobnější a odbornější vysvětlení, proč jsou B lymfocyty zajímavé i ve skupině onemocnění typu IBD, jaké protilátky mohou produkovat plasmatické buňky ve vztahu k diagnózám Crohnovy nemoci a ulcerózní kolitidy. Chybí vysvětlení co je Infliximab, jaká je jeho funkce a vztah k diagnózám vyšetřovaných osob a proč byly vyšetřovány vzorky získané po jeho aplikaci.

V abstraktech, textu práce a tabulce č. 6 (v textu je zmiňována pod č. 9) jsou uvedeny odlišné počty vyšetřovaných osob a vzorků, uvedený celkový počet vzorků  $n=40$  neodpovídá součtu počtů vyšetření v textu ani součtu všech polí v tabulce. Uvedený počet vzorků pacientů s CD ( $n=26$ ) není součtem uvedených čísel  $6+5+5$  (str. 75-76). Tvzení, že mezi sledovanými pacienty převažují spíše mladší muži a nikdo nebyl v minulosti léčen anti-TNF preparátem, je pouhou domněnkou. U tří pacientů z 11 vyšetřovaných není definován věk ani pohlaví. U pěti pacientů z jedenácti není definována případná předchozí terapie (str. 76, tabulka 7 – v odkazujícím textu uvedena jako tabulka 6).

Výsledky vyšetření zastoupení CD27+ B lymfocytů v periferní krvi jsou prezentovány formou tabulek a grafů (částečně duplicitně), doplněny slovním komentářem. Hodnota mediánu kontrolní skupiny na str. 78 se neshoduje s údajem v tabulce 9 (str. 79). V tabulce 13 chybí údaj u posledního kontrolního vzorku. Není zřejmé, které naměřené údaje odpovídají konkrétním pacientům podle tabulky č. 7. Není vysvětleno, jaké bylo složení kontrolní skupiny z hlediska věku a pohlaví. Tato informace chybí pro možnost porovnávání výsledků mezi jednotlivými vyšetřovanými skupinami. U pacientů s ulcerózní kolitidou je většina údajů o pacientech označena jako nedefinovaná (konkrétní údaje jsou uvedeny u dvou z pěti vyšetřovaných). V diskuzi chybí pokus o analýzu získaných výsledků (vysoké zastoupení sledovaných buněk u některých kontrol) a vysvětlení změn hodnot po terapii u jednotlivých (snad identických) pacientů s CD. Při porovnání mezi výsledky CD T0 a CD T1 docházelo jak ke snižování, tak i ke zvýšení hodnot, výsledky ukazují velkou interindividuální variabilitu. Vzhledem k pilotnímu rozsahu experimentální části práce je velice těžké a předčasné vyvozovat závěry, které jsou v práci uvedeny. Nelze souhlasit například s tvrzením o CD27+ B lymfocytech, že „u všech třech populací u pacientů s CD došlo 2 hod po intravenózní aplikaci Infliximabu k poklesu jejich frekvencí v periferní krvi,“ pouze na základě hodnoty mediánu (porovnáním skupiny šesti k pěti pacientům). V případech CD19+CD20+CD27+ a CD19+CD20+CD27+IgM+ B lymfocytů došlo k jejich perifernímu zvýšení u tří z pěti pacientů. Některé závěry je vhodné znovu analyzovat.

Cíle diplomové práce byly v rámci pilotní studie splněny částečně.

Vzhledem k výše zmíněným především formálním (ale i obsahovým) nedostatkům **diplomovou práci k obhajobě nedoporučuji.**

V Praze, 9.9.2016

MUDr.Mgr. Jitka Petanová, CSc.