

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
RNDr. Alena Morávková, Ph.D.
Datum: 20.5.2012

Autor: Bc. Ondřej Pelák

Název práce: **Výzkum účinné antivirové imunity po transplantaci**

Cíle práce

Cíle práce jsou v práci jasně vytyčeny. Je to:

1. Porovnání CMV specifické odpovědi u T-lymfocytů mezi pacienty kontrolujícími a nekontrolujícími CMV reaktivace po HSCT.
2. Porovnání změny funkčních odpovědí CMV specifických T-lymfocytů u pacientů po HSCT v různých časových bodech.
3. Vytvoření nového negranulačního testu NK-buněk.
4. Vytvoření testu pro stanovení míry cytotoxické schopnosti NK buněk.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

- **Rozsah práce (počet stran):** Práce má celkem 70 stran (včetně úvodních stran a seznamu použité literatury)
- **Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova?** ANO
- **Je uveden seznam zkratek?** ANO Navíc je uveden i seznam tabulek a obrázků

Literární přehled:

- **Odpovídá tématu?**
ANO - Literární přehled je s ohledem na dané téma zpracován dobře a věcně. Obsahuje všechny potřebné informace, a naopak neobsahuje žádné informace nadbytečné, což –i vzhledem k šíři tématu- vyžaduje zvláštního ocenění.
- **Je napsán srozumitelně?**
ANO, s určitými výhradami ke stylu a gramatice (viz oddíly „formální úroveň práce“ a „otázky a připomínky oponenta“).
- **Použil autor 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?**
V práci bylo použito sedm metod, přičemž práci s buňkami *in vitro* počítám jako jednu metodu. Je potřeba zdůraznit, že jednou z metod byla osmibarevná průtoková cytometrie, což je pokročilá imunologická metoda, poměrně náročná na analýzu získaných dat.
- **Jsou metody srozumitelně popsány?**
Metody jsou popsány víceméně srozumitelně, i když poněkud zkratkovitě (ilustrativní příklad, str. 25, kapitola Pasážování buněk: „Buňky centrifugujeme, vzniklý sediment resuspendujeme v 7ml média a buňky umístíme zpět do inkubátoru.“ Zkušený laboratorní pracovník by podle těchto návodů pravděpodobně postupovat dokázal, začínající nikoli (alespoň ne s úspěchem). Je ovšem pravda, že podobný zhuštěný popis se často objevuje i ve vědeckých publikacích.
Popis jednotlivých kroků u různých metod je velmi heterogenní (někde je uveden typ centrifugy, jinde nikoli; stejně tak je někde uveden výrobce materiálu a jinde ne).

Experimentální část:

- **Je vysvětlen cíl experimentů?** ANO
- **Je dokumentace výsledků dostačující?** ANO

<ul style="list-style-type: none"> • Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO
Diskuze: <ul style="list-style-type: none"> • 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): Formální úroveň práce jako celku je průměrná. Zatímco grafická úprava práce je velmi dobrá, jazyková úroveň pokulhává. Místy je text stylisticky velmi neobratný a stává se tak jen obtížně srozumitelným (např. popis deficitu cytotoxické imunity na str. 9, další příklady uvádím v části „Otázky a připomínky oponenta“). V testu se vyskytuje i celá řada překlepů a slov ve špatných gramatických tvarech. Ilustrativní je v tomto směru český abstrakt, kde se nalézají jedna hrubá gramatická chyba, jeden překlep a jedno věcně sporné tvrzení (viz „otázky a připomínky oponenta“).
Splnění cílů práce a celkové hodnocení: Cíle práce byly splněny. Autor našel podskupinu T-lymfocytů funkčních při kontrole CMV reaktivace u pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk. Zároveň se mu podařilo zavést dva nové funkční imunologické testy. Celkově hodnotím práci jako zdařilou po stránce vědecké, ale nedotaženou po stránce formální. Autor by měl, dle mého názoru, věnovat větší péči konečné redakci práce. Zbytečné gramatické, stylistické a další jazykové chyby snižují úroveň jinak kvalitní práce a odrazují nejen potenciální čtenáře, ale i vydavatele. Přes formální připomínky navrhuji práci přijmout jako práci diplomovou a po přečtení práce navrhuji hodnocení velmi dobře.
Otázky a připomínky oponenta: <i>K práci mám následující připomínky:</i> <ul style="list-style-type: none"> • Abstrakt: „Deplece imunitních funkcí po transplantaci...“ – to není přesné, k depleci imunitních funkcí dochází již před transplantací úmyslným zničením HSC v pacientově kostní dřeni. • Abstrakt: „Díky použití průtokové mnohobarevné cytometrie...“ Správně: cytometrie • Abstrakt: „Dále jsme vyvinuly...“ Správně vyvinuli (vzhledem k jinde používanému tvaru přísudku a zejména vzhledem k pohlaví autora). • Str. 2: „Příprava na HSCT má za úkol připravit, nebo alespoň silně přinutit hematopoézu v příjemci k poskytnutí volného prostoru...“ Pomínu-li stylistickou neobratnost (Příprava-připravit), považuji za nevhodné ve vědecké práci personifikovat biologické jevy (přinutit hematopoézu). • Str. 6: „Tento deficit (CVID, <i>pozn.oponenta</i>) obvykle způsobuje opakované mírné respirační infekce“. To není přesné. CVID nezpůsobuje infekce, ale imunitní systém pacientů trpících touto poruchou nedokáže dostatečně účinně likvidovat patogeny, které způsobují tyto infekce. • Str. 7: „...je nezbytný k vytvoření terminálního centra, kde dochází k izotopovému přesmyku v lymfoidních orgánech“. Deficit čárky způsobuje změnu smyslu věty. • Str. 8 (a dále): Obrázky použité v literárním úvodu jsou převzaté z literatury. Jsou správně citovány. Je chvályhodné, že autor popisky obrázků přeložil do češtiny, takže je celé dílo jazykově sjednoceno, což hodnotím nanejvýše kladně. Domnívám se ale, že by to mělo být zohledněno v citaci obrázku, tedy namísto „převzato z..“ by bylo

lépe psát „upraveno podle...“.

- Str. 21: „...expresi rozdílných cytokinů na jedné buňce.“ Lépe „v jedné buňce“.
- Str. 40 (a dále): Mám zásadní námitky proti použití z angličtiny překopírovaného termínu „esej“ ve smyslu „zkouška, test“. V češtině znamená slovo „esej“ literární útvar. Pro označení biologických metod doporučuji přidržovat se termínů „test“.

Autorovi bych chtěla položit tyto otázky:

- Str. 10: Uvádíte že: „AIDS...je nejvíce prozkoumaným sekundárním imunodeficitem, převážně díky...vysoké mortalitě pokud není léčen“. Jak ovlivní léčba mortalitu AIDS? Jakou léčbu máte na mysli?
- Str. 11: Při popisu pokusů s genovou terapií primárních imunodeficitů uvádíte, že se u několika pacientů vyvinula leukémie, protože: „...nový gen byl vložen do místa pro onkogen a tím byl aktivován“. Můžete blíže popsat tento jev?
- U pacientů po HSCT se poměrně rychle obnovuje přirozená imunita, rekonstrukce adaptivní imunity trvá podstatně déle. Jak dlouho po transplantaci –pokud vůbec– dochází k obnově širší repertoáru T a B buněk na úroveň před transplantací, resp. na úroveň normálního imunokompetentního jedince? Jak se v klinické praxi řeší deficit specifické imunity proti infekcím, které člověk obvykle prodělá v dětství a následně je proti nim imunní (Varicella zoster virus, rotaviry, parvovirus B19 atp.)? Je něco známo o tom, proč je obnova CD4 T-buněčných populací o tolik pomalejší než obnova CD8+ buněk?
- Proč je obnova protilátkového spektra proti polysacharidovým antigenům po HSCT tak slabá?
- V grafech na str. 44 a 45 je dobře patrný rozdíl mezi lymfocyty pacientů kontrolujících a nekontrolujících CMV infekci. U pacientů kontrolujících infekci je však také patrné podstatně větší množství lymfocytů podrobených analýze oproti pacientům, kteří CMV infekci nekontrolují. Nakolik je schopnost kontrolovat CMV infekci spojena s počtem měřených T-lymfocytů, jestliže se z uvedených dat zdá, že rozdíl v počtu lymfocytů není dán expanzí CMV specifických klonů?
- Předpokládáte, že popsany subtyp T-buněk kontrolující CMV infekci bude napomáhat i při kontrole dalších virových infekcí (jako BKV a Ad, které uvádíte v závěru práce)?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně x velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: