



## Oponentský posudek na diplomovou práci

**Název práce:** Proportional and functional characteristics of particular neutrophil subpopulations in umbilical cord and peripheral blood

**Jméno autora(ky):** Bc. Eliška Miková

**Oponentka:** Doc. RNDr. Magdaléna Krulová Ph.D.

Předložená diplomová práce se zabývá sledováním zastoupení jednotlivých populací neutrofilů v pupečnickové krvi a dále studiem jejich funkčních vlastností. Toto téma je relevantní, studium neutrofilů a jejich působení v organismu je v současné světové literatuře stále větší pozornost.

Práce je psána poměrně kultivovanou angličtinou, je klasicky členěná. V první části autorka shrnuje současné znalosti o imunitním systému těhotných žen a novorozenců, dále se podrobně věnuje neutrofilům. V této kapitole jsou nezbytné základní znalosti o problematice shrnuty pečlivě a čtivě s minimálním množstvím chyb. Jedinou výtkou, která stojí v této části za zaznamenání, je nejednotné citování v textu (Ssemaganda and his team (2014) observed... a Hsu et al. (Hsu et al., 2019) performed ...).

V části Materiál a metody jsou popsány metodické přístupy využívané v diplomové práci. Zde mi chybí shrnutí kohorty dárkyň periferní i pupečnickové krve. V tomto ohledu by bylo zajímavé, zda kromě vlivu vaginálního porodu versus císařského řezu na expresi genů pro některé proteiny (které autorka popisuje), má vliv na počet a fenotyp neutrofilů například stáří matky, v kterém týdnu těhotenství byl porod, nebo další faktory (může mít vliv na buněčné populace v pupečnickové krvi pohlaví dítěte?). Na obrázku 3 je uvedeno schéma ko-kultivačního experimentu. Je trochu matoucí, že barvení CFSE je znázorněno pouze u kontrol, barvené byly všechny CD4 T lymfocyty? Gatovací strategie je uvedena, bohužel neobsahuje FMO kontroly. Není uvedeno zastoupení živých a mrtvých buněk – máte představu o tom, jak dobře neutrofilové přežívají zpracování buněk pro měření na průtokovém cytometru?

V části Výsledky autorka dokumentuje získané výsledky. Zde některé části textu, či obrázků byly hůře jasné (např. To elucidate if the LDN compartment is responsible for the enhancement in gene expression, LDN and HDN were isolated from CB, and the level of gene expression was determined (Figure 9).. ale obr. 9 srovnává neutrofilové z periferní a pupečnickové krve). Přestože některé popisy grafů sice vyžadují podrobnější studium pro pochopení, ale je zde jasná snaha o důkladné zpracování a uvedení všech náležitých kontrol pro experimenty. Na obrázku 9 by vhodnější název byl „Expression of genes for cytokines and genes associated with suppressive properties“. Ačkoliv autorka pečlivě pracuje se zkratkami, v tomto obrázku není vysvětlena zkratka PDCD1, která není ani v seznamu zkratk. V této souvislosti bych se chtěla zeptat, proč jste u neutrofilů měřili expresi genu pro PD1? Byla exprese tohoto proteinu u neutrofilů popsána?

Získané výsledky jsou na začátku kapitoly Diskuse shrnuty (na prvních dvou stranách Diskuse je minimální množství citací), nicméně na dalších 5 stranách jsou vhodně a pečlivě diskutovány, literární odkazy použité v diplomové práci jsou správně citovány.

V předložené diplomové práci autorka prokázala znalost řady laboratorních metod, zde bych zdůraznila metodu izolace neutrofilů, která je poměrně náročná, ale i řady dalších pokročilých technik. Získané výsledky jsou zajímavé a v kontextu světové literatury nebyly dosud popsány. Autorka tak prokázala schopnost získávat, interpretovat a diskutovat výsledky.

Výše uvedené připomínky významně nesnižují kvalitu diplomové práce, předloženou práci doporučuji k obhajobě. Moje očekávání vysoké kvality práce, vzhledem k výborným výsledkům práce v průběhu studia nebylo zcela naplněno, přesto se jedná o velmi kvalitní práci, kterou celkově hodnotím mezi stupni výborně – velmi dobře.

Doplňující otázky:

1. V práci se zaměřujete na LDN (low density neutrophils), charakterizované jako CD14-CD15+. V některých metodických přístupech je využívána stimulace pomocí LPS? Může být tato subpopulace neutrofilů stimulována, když neexprimuje CD14? Nejsou tedy popsány efekty (metabolická odpověď) nebo jejich absence (v ko-kultivačních pokusech) dána tím, že cílená populace není stimulována, naopak jsou stimulovány jiné subpopulace neutrofilů, které mají ovšem jiné vlastnosti?
2. Jak je to s NETózou u LDN neutrofilů?

V Praze dne 17.5.2021

Doc. RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.

Katedra buněčné biologie, Přf UK