

Posudek na magisterskou práci Bc. Dominiky Veselé

Název práce:

HLA typizace v klinické praxi – využití k testování predispozic k onemocněním autoimunitního typu

Shrnutí tématu:

Autorka se v práci věnuje možnosti využití genetické analýzy komplexu HLA genů k pozitivní determinaci predispozic pro onemocnění celiakií. Práce obsahuje velmi rozsáhlou literární rešerši, výčet cílů, popis metod, výsledků a diskuzi se závěrem, který je následován výčtem referencí. Těch je úctyhodných 307 a jsou mezi nimi jak původní vědecké články, tak např. věstník ministerstva zdravotnictví, ale bohužel i internetové stránky nebo populárně naučné časopisy, což nebývají vhodné zdroje citací v tomto typu práce. Po formální stránce je práce v pořádku a odpovídá požadavkům PŘF JU CB. Co se proporcí týká, úvod je zbytečně dlouhý a referencí je rovněž až příliš, až tak, že nejsou přesné a některé citace v referencích chybí. Úvod (44 stran) s referencemi (24 stran) má dohromady rozsah větší než většina magisterských prací na PŘF JU CB. K tomu se ještě dostanu v hodnocení jednotlivých sekcí.

Práce je v podstatě bez překlepů, psaná povětšinou srozumitelným jazykem. Některé formulace a výrazy jsou trochu nešťastné, např. str. 2, sedmý řádek odspodu: „Poté se objevil George Snell...“ nebo tkáňová slučivost. Ale takovýchto případů není mnoho a není to zas tak podstatné. Podstatnější jsou faktické nepřesnosti a zavádějící formulace, např. str. 5 kapitola 2.3., kde autorka píše, že „Vývoj humorální i buněčné imunitní odpovědi stojí a padá s aktivací Th buněk. Rozpoznání antigenu spolu s působením interleukinu 1 produkovaného aktivovanými makrofágy vede k aktivaci Th buněk.“ **Můj dotaz zde zní, co je na tomto tvrzení nepřesné a zavádějící?** Další chyby jsou na str. 6 v popisu procesů komplementu. K úvodu mám několik výhrad k práci s citacemi a referencemi:

1. Některé citace chybí v referencích (Götze et al., 1981, Hořejší a Bartůňková, 2009, Bencko et al., 2002, da Silva et al., 1981, Gershon et al., 1971 a možná i další).
2. Mnohokrát je použita citace Kopecký, 2013. V referencích pak je uvedeno pouze Kopecký (2013), osobní sdělení (ref. 150). Není tedy ani jasné o jakého Kopeckého se jedná.
3. Je použito mnoho velmi starých citací, což samo o sobě není špatně, pokud se jedná např. o odkaz na objev nebo první zmínku o něčem. Pokud se však jedná o popis nějakého jevu, novější citace jsou lepší, protože poznání v dané otázce se bezpochyby za desítky let posunulo. Např. str. 39 nahoře: „...mnozí shledávají metodu SSP-PCR nejvhodnější pro rutinní stanovování HLA alel (reference z roku 1997, dnes to asi bude jinak)“
4. Je citováno mnoho učebnic, což podle mě není vhodné v magisterské práci, která by měla být zaměřená na specifický projekt, ne na popis učebnicových vědomostí.
5. Seznam referencí nemá vždy jednotný formát,

Jak již jsem psal, úvod je zbytečně dlouhý, mohl by být klidně poloviční. Popisy imunitních dějů jsou zbytečně podrobné, nevztahující se přímo k tématu práce, ale bohužel jsou i nepřesné (viz výše). Detailní popis s tématem nesouvisejících genetických onemocnění je také nadbytečný, stačila by zmínka. Podobně popis metod typizace HLA či NGS není pro práci relevantní. Navíc jsou i zde chyby vyplývající pravděpodobně z nepochopení problematiky, konkrétně str. 41 čtvrtý řádek odspoda: osekvenování 600 bazí na Illumině určitě netrvá 56 hodin.

Na str. 12 autorka zmiňuje review od Matzarakiho (2017), z něhož vychází. Skutečně, tabulka v příloze vypadá velmi inspirovaná tímto review a i většina referencí v této tabulce není novější než zmíněné review. **Byly pro tvorbu tabulky použity i jiné zdroje než ono review, nebo se jedná jen o úpravu jejich tabulky?**

Někdy si autorka odporuje, např. str. 26 nahoře: „...nebyla nalezena zvýšená náchylnost k nádorovým onemocněním, ale u nemocných s celiakií je pětikrát vyšší riziko k propuknutí non-Hodgkin lymfomu...“ str. 42, 6. řádek „...Illumina MiSeq vykazuje nejnížší pozorovatelnou chybovost a dokáže určit HLA genotypy bez jakékoliv nejednoznačnosti. Naopak velikým nedostatkem může být chybně přečtená báze nebo záměna nukleotidu.

Jinak je vidět, že autorka se tématu skutečně intenzivně věnovala a podrobně ho nastudovala. Bohužel rozsah úvodu je takový, že i chyb a nepřesností je v něm nepřehlédnutelné množství.

V metodice jsou zbytečně podrobně popisovány základní metody, jako PCR nebo gelová elektroforéza, jsou zde podrobné popisy metod, které byly prováděny dle instrukcí v manuálech, což také není obvyklé, v takovém případě se uvádí pouze odchylky od manuálu. Experimentálně není sice práce příliš bohatá, použité metody však autorka podle všeho zvládla bez potíží. Myslím, že v takovémto typu práce není rozmanitost experimentů zas až tak na škodu, důležitější je správné zpracování výsledků a jejich interpretace a zde mám pocit, i když nejsem v této oblasti moc zblhlý, že autorka využila data maximálně, jak mohla. Situaci s nedostatkem vzorků řešila využitím dalšího datasetu a data vyhodnotila pomocí pokročilých statistických metod. Je bohužel vidět, že u podobných prací bude vždy bottle-neck dostatek pacientů a stejně velké a porovnatelné skupiny. Je otázkou, do jaké míry je možné takováto data získat jinak než ve spolupráci s nemocnicemi.

Bohužel moc dobře nerozumím grafům na obr 15, 16 a 17. **Prosím o jejich podrobnější vysvětlení během prezentace.** Zajímavé bylo i zpracování kazuistiky. Dohromady s ostatními výsledky autorka shrnuje, že genetické vyšetření komplexu HLA genů samo o sobě nelze využít pro diagnostiku, přestože existuje prokazatelná vazba určitých haplotypů a celiakií. Celkem logický závěr je, že záleží na kombinaci mnoha faktorů.

V diskuzi autorka porovnává své výsledky se závěry jiných autorů a dochází právě k výše uvedenému závěru, podobně jako ostatní autoři. **Moje otázka k diskuzi je, zda jsou tedy tyto výsledky nějak prakticky využitelné, a zda by víc napověděl větší dataset?**

Obecně má práce svoje světlé i temnější stránky. Je napsána pečlivě a je vidět úsilí získat z dostupných dat možné maximum. Na druhou stranu jde autorka v teorii do velkých detailů, což je však zejména v úvodu spíše na škodu. Práci by prospělo zúžení záběru a soustředění na téma. Takto lze bohužel jen těžko udržet pozornost na tom, co je podstatou sdělení.

Přes výtky jsem přesvědčen, že práce splňuje nároky na magisterskou práci na PŘF JU CB a doporučuji ji k obhajobě. Známkou navrhu až po obhajobě.

V Českých Budějovicích 16.1.2020



RNDr. Jindřich Chmelař, Ph.D.