



POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI Bc. Martina Majera

Předložená diplomová práce se zabývá důležitým biomedicínským tématem – neurotropními helmintózami – a je tedy logicky zaměřena na téma interakce mezi patogenem a hostitelem (v tomto konkrétním případě myši a schistosomou *Trichobilharzia regenti*) s důrazem na polarizaci myšního imunitního systému a spektrum produkovaných cytokinů.

Hlavními metodickými přístupy použitými pro testování hypotéz jsou imunohistochemie a průtoková cytometrie. Formát diplomové práce je ve shodě s doporučeními, obsahuje obecný úvod do problematiky, pečlivě vytvořený seznam zkratk, popsané metodiky, část výsledkovou i shrnující diskusi, která je silnou stránkou práce – je velice pečlivá, rozsáhlá a do hloubky řešeného tématu jdoucí, přesně taková, jak bychom od studentů PřF UK očekávali. Předložená diplomová práce je sepsána srozumitelnou čtivou češtinou a obsahuje jen minimum formálních nedostatků typu překlepů či formulačních nepřesností, což je důkazem pečlivé redakční aktivity na závěr. Součástí práce je dostatečné množství citací, oborově se jedná o v podstatě vyčerpávající přehled. Sekundární citace jsou ve všech případech označeny, nemám zde co vytknout, naopak.

K PRÁCI BYCH MĚL NÁSLEDUJÍCÍ DOTAZY A KOMENTÁŘE:

Literární přehled

Tato část práce se soustřeďuje na 12 stranách na problematiku lidských neurotrofních helmintóz a příslušné animální modely. Text literárního přehledu je sevřený, je ve všech větách tematizovaný zaměřením práce, bez redundancí a zbytečných obecností, jde k jádru věci.

1. V roce 2015 byla publikována překvapivá u člověka existence mozkového lymfatického systému (Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. Nature 2015; 523: 337–341.). Existuje mozkový lymfatický systém i u vašeho myšního modelu? Pokud ano, jaké by to mohlo mít experimentální implikace v kontextu vašeho výzkumu?
2. Na straně 4 scházejí u 4+ písmena CD?
3. V literárním přehledu je několikrát zmiňována role γ/δ T lymfocytů, neuvažovali jste o jejich charakterizaci v rámci vašeho cytometrického panelu?
4. Vzhledem k tomu, že se práce soustřeďuje na cytokinové profilování, dokážu si představit jako součást literárního přehledu krátký text na toto téma, např. sumarizující aktivity vybraných relevantních cytokinů, včetně srovnání systému člověk-myš.

Materiál a metody:

Tato část práce je velice pečlivě sepsaná, ukázková, umožňující reprodukovat experimentální uspořádání.

1. Při transkardiální perfuzi jste použili formaldehydový fixační roztok, neutralizovali jste zde pH po rozpuštění paraformaldehydu v PBS?.

2. Značení primárními protilátkami při IHC jste prováděli přes noc při 4°C. Nezkoušeli jste kratší časy a pokojovou teplotu – i vzhledem k tomu, že máte v některých případech podezření na nespecifickou vazbu?
3. Pro vizualizaci imunofluorescenčních vzorků jste používali mikroskop Olympus BX51, neuvažovali jste o přístrojích ze servisní laboratoře Biologické sekce PřF, kde se například nahází pro tyto účely specializovaný přístroj – Scan^R od firmy Olympus.
4. Pro cytometrické experimenty jste zvolili jako zdroj buněk slezinu. Neuvažovali jste o mízních uzlinách, kde by se dala očekávat vyšší proporce studovaných T-lymfocytů? Jaká by byla spádová uzlina/uzliny pro míchu (a obecně CNS)?

Výsledky:

Výsledková část je pečlivě zpracovaná, doprovázená velkým počtem kvalitních imunofluorescenčních a cytometrických dat.

1. Co se týká fluorescenčních IHC dat, jaké byly typické expoziční časy, jak byly obrázky procesovány, jak jsou jednotlivé obrázky v práci v tomto směru srovnatelné co do intenzity specifického signálu a autofluorescence. Umožňovala by vaše data kvantifikaci - např. kolokalizace barevných kanálů?
2. Neuvažovali jste u FACS experimentů o využití protilátky proti CD45 – k čemu by byly vhodná?
3. Na straně 41 je uvedena zdařilá gatovací strategie, osobně bych uvítal popis os přímo v obrázku.
4. Na základě vaší gatovací strategie, součástí které buněčné populace by mohly být NKT buňky, popř. γ/δ T, s možnými interpretačními konotacemi?
5. Na straně 42 je popisována melanóza ve slezině, o co se jedná?

Diskuse:

Jak již bylo zmíněno, diskuse je velice kvalitní součástí předložené diplomové práce a jednoznačně prokazuje autorovu vědeckou výchovu a schopnost interpretačního a kritického myšlení. Autor si je evidentně vědom experimentálních omezení svého modelu.

Na závěr mohu konstatovat, že předložená diplomová práce je kvalitní a splňuje nároky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy a doporučuji ji k obhajobě a k hodnocení výborně.

v Praze 11.9.2018

prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.