

## **Posudek Diplomové práce Bc. Nikolý Butalové**

### **“Charakterizace imunitních buněk a sledování změn zánětlivých proteinů u miniprasečího modelu Huntingtonovy choroby”**

Diplomová práce byla zaměřená na charakterizaci aberací imunitního systému v periferních buňkách a tkáních kontrolních (WT) transgenních miniprasat (TgHD).

V teoretické části se studentka podrobně věnovala následujícímu tématu:

- i) Huntingtonova choroba – všeobecný přehled,
- ii) Huntingtonova choroba s orientací na imunitní systém, které tvoří prvních 34 stran. Literární úvod jednoznačně svědčí o tom, že studentka má solidní znalosti v oblasti Huntingtonovy choroby, které získala jak studiem literatury, tak četnými diskusemi se svou školitelkou specialistkou, Mgr. Ivonou Valekovou, Ph. D. V úvodu jsou solidně popsány modelové organizmy pro studium HD a především dosud dosažené znalosti o vývoji choroby u TgHD miniprasat.

Metodická část práce je zpracována velmi solidně a dokládá, že studentka se práci v laboratoři věnoval velmi zodpovědně. Již získání reprezentativních souborů vzorků buněk vyžadovalo soustředěné úsilí a spolupráci s celým týmem Laboratoře buněčné regenerace aplasticity. Studentka velmi dobře zvládla důležité techniky a metodiky, především izolaci a kultivaci monocytů WT a TgHD miniprasat a jejich následnou diferenciaci do makrofágů. Podílela se na zavedení metodiky izolace a kultivace makrofágů získaných z peritoneální laváže WT a TgHD miniprasat. Osvojila si metodiku charakterizace izolovaných buněk prostřednictvím průtokové cytometrie. Dále se studentka významně podílela na stanovení hladiny zánětlivých proteinů (cytokínů) v sekretomu monocytů/makrofágů a v krevním séru WT a TgHD miniprasat pomocí kvantitativní proteomické multiplexové analýzy Luminex xMAP. Studentka si také osvojila metodu Western blot a pomocí této metodiky stanovila expresi mutovaného a endogenního huntingtinu v izolovaných buňkách.

Je nepochybně správné, že metodická část práce je v diplomové práci akcentována, protože dokládá zájem studentky o solidní biomedicínský výzkum.

Studentka byla schopná samostatně vykonávat experimenty, získaná data analyzovat a následně vyhodnotit pomocí statistických programů.

Prostřednictvím této práce se studentce podařilo identifikovat proteiny významně ovlivněné přítomností mutovaného huntingtinu u transgenních miniprasat. Výsledky experimentů dokládají rozdílnou aktivitu periferních monocytů a makrofágů izolovaných od WT a TgHD zvířat jak v nestimulovaných buňkách, tak v jejich odpovědi na imunitní stimul. Výsledky dokládají, že tyto odpovědi periferních buněk jsou specifické a mohou být použity jako márkry rozvoje HD. V sekretu kultivovaných monocytů byl identifikován IL-1 $\beta$ , v sekretu kultivovaných makrofágů pak IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-4, IFN $\alpha$  a v krevním séru IFN $\alpha$ . Vzniknul tak soubor biomarkerů, které charakterizují nástup a postup Huntingtonovy choroby u TgHD miniprasat.

Diplomovou práci Bc. Nikoly Butalové jednoznačně doporučuji k obhajobě.

Prof. MVDr. Jan Motlík, DrSc.

školitel