

POSUDEK K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název práce:

Účinek vybraných antiparazitik na motolice *Trichobilharzia regenti* / Effect of selected antiparasitic drugs on *Trichobilharzia regenti*

Autor práce:

Bc. Pavlína Lípová

Katedra parazitologie, PřF UK v Praze

Oponent:

Mgr. Marta Chanová, Ph.D.

Ústav imunologie a mikrobiologie, 1.LF UK v Praze

Předložená diplomová práce má 105 stran, je členěna dle zvyklostí (úvod, literární přehled, cíle práce, materiál a metodika, výsledky, diskuze, závěr, použitá literatura a přílohy) a splňuje formální požadavky kladené na DP.

Práce se věnuje studiu vlivu dvou antiparazitik - praziquantelu (PRQ) a monensinu (MON) na 4 a 6(7) dní staré schistosomuly *T.regenti* vyvinuté *in vivo* a *in vitro*. Cíle byly jasně definovány a splněny. Práce vyžadovala zvládnutí mnohých technik od *in vitro* kultivací, přes aplikace léčiv *in vivo* a *in vitro*, izolaci červů z tkání hostitele, až po zpracování materiálu pro světelnou mikroskopii, TEM i SEM a aplikaci histologických a imunohistochemických barvení. Všechny byly zvoleny správně a správně provedeny.

Literatura zpracovaná pro literární přehled dostatečně pokrývá pro práci důležitá témata z biologie *T. regenti* i z působení vybraných léčiv. Občas je však interpretována nepřesně, popř. chybí porovnání a zhodnocení dat z více zdrojů (např. s.2 - "schistosomuly migrují.... čichovým lalokem do nosální dutiny" - cit.1, vs. "Paraziti se zřejmě do nazální oblasti dostávají přes krevní cévy" - cit.2). V textu se objevují i drobné nepřesnosti, např. s.1 - spojení "savčí zástupci schistosom" je zavádějící, správně by bylo "zástupci savčích schistosom"; s.4 - kmen myši (BALB/c), ne druh myši, atd. Stylistika je často krkolomná a celkově kapitola působí dojmem narychlo a bez dostatečné kontroly vzniklého textu.

Metodika je velmi rozsáhle a detailně popsána a bude skvělým zdrojem informací pro další studenty s různým zaměřením díky širokému spektru použitých technik. K lepší přehlednosti by ale přispělo promyšlenější uspořádání jednotlivých podkapitol a např. nezačínat kapitolu Materiál a metodika výčtem použitých pufrů.

V kapitole Výsledky je popsán vliv léčiv na přežití, pohybovou aktivitu, příjem potravy a ultrastrukturu schistosomul, a rovněž patologické změny v míše léčených a neléčených kachen. Výsledky jsou doplněny grafy a velkým množstvím kvalitních fotografií a ultramikrofotografií; některé fotografie zobrazující IHC značení mohly být větší. Minimálně u pokusu s léčbou kachen monensinem postrádám kontrolu. Pochybnosti, zda některé patologické změny v míše u kachen léčených MON nebyly

způsobeny samotným léčivem, by odstranilo aplikování léčiva kontrolním nenakaženým kachnám. Výsledky působení PZQ a MON jsou zvláště zpracovány pro *in vitro* a *in vivo* vyvinuté schistosomuly, zvláště pro aplikaci léčiv v různé době po transformaci, popř. po různě dlouhém působení. Pro každé pozorování je popsán výsledek s oběma léčivy. Pro přehlednost by bylo lepší spojit výsledky působení PZQ (v různém čase aplikace, v různých podmínkách) a MON (detto). Stylistika (stejně i v následujících kapitolách) je občas krkolomná, v překladu z anglického textu možná omluvitelná, ale v původním česky psaném textu nikoli - př. s.37 "V tegumentu všech jedinců nedocházelo k žádné vakuolizaci"; s.84 "Obě léčiva nebyla schopna zabít schistosomuly...", nebo "Schistosomuly *T.r.* z léčených kachen obě léčiva nezabíjela...".

V kapitole Diskuze autorka vhodně porovnává získané výsledky s výsledky pozorování u lidských schistosom i s předchozími výsledky studií *T. regenti*, doplňuje vysvětlení použití některých postupů a kriticky hodnotí některé nejednoznačné výsledky, včetně návrhů dalších studií pro jejich ověření.

Závěr stručně a výstižně shrnuje výsledky experimentů a na jejich základě autorka předpokládá možnost využití testovaných léčiv v praxi, podmiňuje to ale provedením dalších doplňkových pokusů.

Otázky k diskuzi:

1. Vysvětlete, proč byly pro pozorování schistosomul zvoleny intervaly 4 a 7 dní p.i.; jaký je rozdíl v lokalizaci, morfologii povrchu těchto schistosomul, přijímání potravy, atd.
2. Platí, že 0,2M kakodylát sodný = 0,2M kakodylátový pufr?
3. Pufry pro TEM 1 a 2 se liší jen obsahem K₄Fe(CN)₆. Proč používáte fixáž pro TEM ve dvou krocích: 2,5% GA v pufru 2 (30min.), a dále 2,5% GA v pufru 1 (90min.);
4. Vysvětlete, resp. definujte používané pojmy "vakuolizace" a "vakuola"
5. Schistosomuly *T.r.* domigrují do CNS (míchy) +/- 3 dny p.i. Podání léčiva 2 dny p.i. (PZQ) resp. 1-3dny p.i. (MON) mohlo (v ideálním případě mělo) teoreticky omezit migraci do CNS. Pozorovali jste změny v intenzitě infekce CNS? Proč jste pro zjištění vlivu léčiv nehledali schistosomuly 4 dny p.i. i mimo CNS (např. v kůži)?
6. Popisujete patologické změny nervové tkáně kolem schistosomul po léčbě PRQ a MON. Pozorovali jste rozdíly v míře poškození CNS mezi léčenými a neléčenými kachnami (četnost astrocytů, zánětlivých buněk, poškozených neuronů, atd.)?

Celkové hodnocení:

Vzhledem k pobytu v zahraničí v době konání obhajoby jsem otázky v předstihu sdělila studentce a dostala od ní uspokojivé reakce. Práci proto doporučuji k obhájení a navrhuji hodnocení známkou 2 (velmi dobře).

Mgr. Marta Chanová, Ph.D.