

**Posudek na magisterskou práci Bc. Lucie Řežábkové, DiS.:
„Sledování imunomodulačních účinků extraktů z helminta na makrofágové buněčné kultuře“**

Předložená magisterská práce se zabývá studiem účinků tří typů extraktů z tasemnice *Hymenolepis diminuta* na primokulturu potkaních makrofágů s cílem porovnat produkci vybraných cytokinů v neindukovaných kulturách a kulturách, ve kterých byla lipopolysacharidem indukovaná zánětlivá odpověď. Tato práce plně zapadá do komplexní studie zaměřené na problematiku prevence a terapie idiopatických střevních zánětů, jež je intenzivně řešena na pracovišti školitele a úzce souvisí s úspěšně obhájenou magisterskou prací Jany Levé.

Magisterská práce je tradičně rozdělena do hlavních kapitol úvod, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuze, závěr a seznam použité literatury, které obsahují celou řadu podkapitol. Celkový rozsah práce činí 54 stran.

Úvodní část diplomové práce je zpracována přehledně, přičemž čtenáře postupně seznámí s principy helmintoterapie, mechanismy imunomodulace helminty, jejím využitím ke zlepšení klinického průběhu imunitně zprostředkovaných onemocnění, a druhy dosud testovaných helmintů včetně *H. diminuta*, kterému se autorka věnuje podrobněji v posledním oddílu úvodu.

Cíl práce je jasně formulován do jednoho hlavního bodu, který je následně rozdělen do čtyř dílčích chronologicky řazených bodů, jejichž postupné splnění bylo nezbytné ke splnění hlavního cíle, jmenovitě určení vhodného časového bodu pro analýzu účinků extraktů z *H. diminuta* na produkci sledovaných cytokinů, zjištění optimální koncentrace použitých extraktů a exkrečně-sekrecních produktů, a nakonec otestování imunomodulačních účinků extraktů *in vitro* na buňkách ovlivněných nebo neovlivněných zánětem.

Kapitola materiál a metody obsahuje soupis použitého materiálu a chemikálií a hlavních postupů a metod používaných během řešení vytyčené problematiky včetně přístrojového vybavení a grafického zpracování časových plánů jednotlivých provedených dílčích experimentů.

Výsledky jsou podrobně zpracovány a jsou rozděleny podle vytyčených dílčích cílů a metodických postupů do jednotlivých podkapitol.

V diskuzi autorka hodnotí své výsledky a konfrontuje je s výsledky ostatních autorů zabývajících se helmintoterapií. Nelze opominout, že v některých odstavcích diskuze se autorka dopouští nešťastných formulačních nepřesností, které jsou v rozporu se získanými výsledky. Např. na straně 40 ve třetím odstavci autorka zmiňuje pokles genové exprese TNF α vůči negativní kontrole při použití extraktů/ES produktů o koncentraci 300 μ g/ml, což je v rozporu s daty prezentovanými obrázkem 8 a příslušným odstavcem výsledků. Na straně 41 ve čtvrtém odstavci (souhrn analýzy TNF α) autorka usuzuje, že HdES/A/L mají pozitivní efekt na zmírnění protizánětlivých procesů v buňkách makrofágů, přičemž z výsledků na stranách 26-28 vyplývá, že dané látky mají protizánětlivý účinek, protože snižují odpověď makrofágů na LPS.

Závěr shrnuje nejdůležitější výsledky, které odpovídají jednotlivým vytyčeným cílům práce.

Neodpustím si konstatovat, že předložená práce obsahuje řadu překlepů a pravopisných chyb, kterým se ale nikdo z nás nevyhne a nijak nesnižují vědeckou kvalitu předložené magisterské práce.

K autorce mám několik věcných dotazů:

1. Na straně 42 ve druhém odstavci autorka uvádí výsledky autorů Zawistowska-Deniziak et al. (2017), kdy bylo potvrzeno snížení produkce IL-10 v porovnání s negativní kontrolou u buněk s LPS kultivovaných s ES-produkty *H. diminuta*. Co bylo ve zmíněné studii považováno za NC – buňky s LPS nebo bez LPS.
2. Z jakého důvodu autorka zvolila protektivní schéma experimentu, tzn. aplikaci extraktů/ES produktů a následné vyvolání zánětu? Nebylo by lepší zvolit terapeutické schéma s obráceným postupem? Z metodiky není totiž jasné, zda byly extrakty/ES produkty ponechány u makrofágů po celou dobu experimentu a LPS byl do jamek pouze přidán, nebo zda bylo médium s extrakty/ES produkty vyměněno za médium obsahující LPS o dané koncentraci. Myslím si, že terapeutické schéma by mělo vyšší váhu i co se výsledků týče, poněvadž v diskuzi autorka srovnává své výsledky většinou s výsledky terapeutických experimentů.

Závěr: Předložená magisterská práce splňuje vytyčené cíle. Svědčí o schopnosti autorky pracovat s vědeckou literaturou, provádět řadu laboratorních postupů a ze získaných výsledků vyvozovat závěry.

Předložená diplomová práce Lucie Řežábkové splňuje veškeré požadavky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a přes veškeré mé výtky **ji doporučuji k obhajobě.**

V Českých Budějovicích, 9. 1. 2020

RNDr. Bohumil Sak, Ph.D.

