



**Oponentský posudek na bakalářskou práci Nikol Buškové
„Extracellular vesicles during the ontogeny of the tapeworm *Schistocephalus solidus*“**

Předložená práce se zabývá aktuální problematikou extracelulárních váčků (EV) u helmintů, konkrétně jejich výskytem u různých životních stadií modelové tasemnice *Schistocephalus solidus* (Cestoda: Diphyllbothriidae). Cíle jsou formulovány jasně a logicky, rozsahem je pro experimentálně zaměřenou bakalářskou práci považují za adekvátní.

Práce čítá celkem 42 stran a je členěna klasicky na úvod, cíle, materiál a metody, výsledky, diskuzi a seznam použitých zdrojů. Autorka svou práci sepsala ve velmi dobré angličtině. Text je čtivý, relativně plynulý a obsahuje jen minimum gramatických chyb či překlepů, které nijak nesnižují jeho srozumitelnost. Po grafické stránce je práce zdařilá, text doplňuje 1 tabulka a 10 obrázků/obrazových panelů, a to zejména ve výsledkové části. V práci je bez zásadních nedostatků citováno >100 zdrojů, a to jak původních prací, tak souhrnných článků či monografií, což považují za dostatečné.

V úvodu autorka prezentuje základní informace o EV, jejich roli v biologii helmintů s důrazem na imunomodulační potenciál EV a v poslední části představuje svůj modelový organismus. Pojetí první a třetí části je zdařilé a informativní, někdy s ohledem na zaměření práce možná až příliš detailní (např. odstavec o ESCRT dráze). Ve druhé části je však struktura textu mírně rozostřená, zejména v pasážích popisujících roli EV v biologii konkrétních druhů helmintů. Celkový dojem z této, podle mě klíčové (!), části úvodu je trochu zmatený. Zároveň není zřejmé, podle jakého klíče autorka příklady vybírala – postrádám zde například zmínku o EV schistosom (Kuipers et al, 2020) či filárií (Zamanian et al., 2015). Přehlednosti této části by myslím pomohla souhrnná tabulka. K úvodu mám tyto dílčí připomínky a dotazy:

- Z popisku tabulky 1 není jasné, zda jde o příklady, nebo kompletní přehled výskytu EV u lidí a také zda jde o výskyt normální, nebo patologický. Prostatomy a onkosomy nejsou buněčné typy. Raposo et al. (1996) není referencí pro výskyt EV u dendritických buněk, Lässer et al. (2011) pro výskyt EV v mateřském mléce. Sekundární zdroje (Akers et al., 2013; van Niel et al., 2018) by bylo vhodné nahradit primárními.
- Autorčin popis vzniku exosomů (str. 3) naznačuje následnost časného, pozdního a „recycling“ endosomu. To může být zavádějící stejně jako naznačený vztah mezi lysosomem a „recycling“ endosomem. Mohla by autorka stručně vysvětlit, a) co rozhoduje o tom, zda pozdní endosom splyne s lysosomem, nebo zamíří k membráně a uvolní exosomy a b) roli a biogenezi „recycling“ endosomu?
- Autorka píše o mechanismech, kterými helminti potlačují imunitní odpověď hostitele (str. 5), což může být prospěšné např. při infekci jinými patogeny či při alergiích. Odkazuje se při tom na „hygienickou hypotézu“ a práci Strachana (1989). Není to příliš zkratkovité? O čem je vlastně původní Strachanova práce? Bylo by možné uvést ještě alespoň jednu hypotézu, která se vlivu parazitů/endobiontů na přirozený vývoj imunitního systému zabývá?
- V poslední odstavci (str. 8) bych byl opatrnější s interpretací práce Kochnevý et al. (2021). Ta pro tvrzení o vlivu exkrečně-sekrecčních produktů *S. solidus* na ustanovení dlouhodobé infekce podle mého názoru nepřináší žádné důkazy.



Materiál a metody jsou popsány srozumitelně a umožňují téměř přesně reprodukovat prezentované postupy či experimenty. Pro úplnost by jen bylo vhodné uvést, v jaké vodě byli chováni experimentální hostitelé (odstátá kohoutková, rybníční?) a jak o ně bylo pečováno (výměna vody, krmení), jaká byla koncentrace CO₂ v atmosféře inkubátoru či ve 200 µl jakého roztoku byl resuspendován pelet po ultracentrifugaci kultivačního média. Autorka také místy zaměňuje „plerocerkoid“ a „dospělce“ – např. v sekci 3.2 píše o „(pitvou) získaných dospělcích“, ač později jako „dospělce“ označuje až kultivované jedince. Tato terminologická nejednotnost se objevuje i jinde v práci, např. abstrakt či závěr dokonce hovoří o „dospívajících plerocerkoidech“. Nepochybuji, že autorka ví, s jakým stadiem pracuje, sjednocení terminologie by však usnadnilo čtení textu a orientaci v něm.

Ve výsledkové části bych chtěl kromě zdařilých elektronmikroskopických snímků především vyzdvihnout zvládnutí laboratorního cyklu *S. solidus*, které bylo nezbytným předpokladem veškeré další práce. K výsledkům mám následující dotazy:

- Autorka uvádí, že povrch procerkoidu kryje tlustá vrstva exkrečně sekrečních produktů (obr. 5). Na základě čeho tak soudí? Nemůže jít spíše o glykokalyx?
- Autorka naznačuje, že přední část strobily produkuje více EV. Jak by bylo možné tuto hypotézu ověřit?
- Autorka zmiňuje, že tegument dospělců obsahuje velké množství denzních tělísek, původem patrně z mitochondrií (str. 16). O co tuto svoji úvahu o jejich původu opírá?
- V obr. 10 autorka prezentuje data z analýzy „Nanosight“, v metodice ale uvádí „TEM ExosomeAnalyzer“. Který nástroj reálně použila? A co představují červeně vyznačené chybové/konfidenční pásy?
- Pokusila se autorka o nějakou formu statistického zhodnocení svých výsledků – např. srovnání líhnutí vajíček při různých teplotách či korelaci počtu uvolněných vajíček a koncentrace proteinů v médiu?

V diskuzi autorka kriticky hodnotí své výsledky a porovnává je s vhodně zvolenými studiemi. Pozitivně hodnotím to, že svá data interpretačně nepřeceňuje a nepouští se na tenký led nepodložených spekulací. O vzhledu autorky do řešeného tématu svědčí skutečnost, že je schopná se zamyslet nad možnostmi, jak své výsledky dále ověřit a zpřesnit. Závěr přehledně shrnuje hlavní výstupy práce, které (kromě analýzy EV u vajíček a koracidí) korespondují s předem vytyčenými cíli.

Předloženou bakalářskou práci jednoznačně **doporučuji** k obhajobě a hodnotím ji jako **velmi dobrou**. V případě zdařilé prezentace se nebráním hodnocení lepšímu.

Praha 6. 1. 2022

RNDr. Tomáš Macháček, Ph.D.