Oponentský posudek na bakalářskou práci Evy Slepičkové:

Vliv klíštěcích slin na produkci cytokinu MIP-2 myšími makrofágy

Bakalářská diplomová práce Evy Slepičkové se zabývá studiem vlivu extraktu ze slinných žláz klíštěte *Ixodes ricinus* na produkci myšího prozánětlivého cytokinu MIP-2, který se svým chemotaktickým působením na neutrofily významně podílí na nespecifické obraně hostitelského organismu při sání tohoto ektoparazita.

Hned na úvod tohoto posudku bych tedy měla výhrady k názvu práce, která, jak mi zajisté dá autorka za pravdu, nestudovala vliv klíštěcích slin, ale vliv SGE.

Předložená práce rozsahu 36 stran má následující členění: úvod, cíl práce, materiál a metody, výsledky, diskuse, souhrn, přehled použitých zkratek a seznam použité literatury. Práce s velmi dobrou úpravou je psána srozumitelným jazykem s minimem chyb. Zde bych měla pouze poznámku k citacím se spolupracovníky, kde je vhodné zvolit jednu z možností spol. nebo kol. a nerozepisovat je (str. 6 Ribeiro a kol. 1985 x str. 8 Klener a spolupracovníci 1997) a dále bych nahradila ixodidní klíšťata za klíšťata rodu *Ixodes* str. 6.

Úvod je dostatečně rozsáhlý a přehledný, i když mě trochu mrzí, že poslední části (1.6 Cysteinové peptidázy a jejich inhibitory) je věnována poměrně velká pozornost, která však nepokračuje ve výsledkové a zejména diskusní části této práce.

Cíle práce jsou definovány stručně a jasně a pro bakalářskou práci také vhodně a reálně.

Z kapitoly **Materiál a metody** je zřejmé, že autorka zvládla širokou škálu laboratorních technik od kultivace různých typů buněk, přes přípravu extraktu ze slinných žláz klíšťat a jejich slin a na schématech jednotlivých pokusů a jejich vypracování je zřejmé, že autorka výborně zvládla i experimentální část této práce. Zde bych měla několik připomínek či dotazů:

- ✓ Proč byly v této práci použity právě tyto buněčné kultury (P388/D1, PMJ2/R a WEHI) ?
- ✓ Proč se v jednotlivých experimentech lišila výsledná koncentrace lipopolysacharidu (LPS) použitého pro aktivaci makrofágových linií? Jsou zde použity koncentrace od 2μg po 10 ng/ml.

- V údaji o centrifugaci nestačí uvést pouze počet otáček, jak uvádí autorka, ale je nutno ho doplnit o čas a velikost rotoru a ještě lépe přepočítat tento údaj do jednotek g (str. 17)
- Pro ještě lepší orientaci v textu bych k jednotlivým schématům pokusů připsala odpovídající výsledkový graf.
- Při popisu ELISA testu, který byl proveden za použití komerčních kitů a vlastní testování probíhalo dle přiložených návodů, není nezbytně nutné popisovat jednotlivé kroky metody, pokud se ovšem významně nelišily od těchto návodů.

Experimentální **výsledky** této práce jsou velmi dobře dokumentovány 8 grafy, které zahrnují jednotlivé pokusy se srozumitelným shrnujícím komentářem. K této kapitole jsem se chtěla zeptat:

- ✓ Proč byla zvolena výsledná koncentrace stimulujícího LPS 2μg/ml (graf 1) a čím si autorka pokusí vysvětlit, že buněčná linie WEHI v tomto pokusu na LPS nereagovala, v dalším pokusu již však reagovala zvýšenou produkcí MIP-2 vůči kontrole, přestože byla použita méně než polovina původní výsledné koncentrace LPS? A proč byla do následujících experimentů nakonec vybrána makrofágová linie PMJ2/R?
- ✓ Jak si autorka vysvětluje, že polovina použitých SGE měla inhibiční efekt na produkci cytokinu IL-8 a u druhé poloviny se inhibice neprokázala (graf 6) a v případě cytokinu MIP-2 pouze tři z 8 SGE měly inhibiční efekt(graf 4)?
- ✓ Má autorka představu o tom, proč u stimulovaných makrofágů nedošlo k inhibici produkce cytokinu MIP-2 extraktem ze slinných žláz klíštěte ani jeho slinami (graf 5)? Zkoušela autorka klíštěcí sliny také v jiných pokusech?
- ✓ Mohla by se autorka pokusit vysvětlit, proč při studiu mechanismu inhibice cytokinu MIP-2 došlo k jeho snížení pouze u SGE, které bylo po celou dobu inkubováno s buňkami (str. 28, kap. 4.9)? jaké SGE zde použila?

Diskuse je psána jasně a zasvěceně a snaží se analyzovat získané výsledky v konfrontaci se světovou literaturou.

Autorka sepsáním této práce dokázala, že je schopna samostatně pracovat s vědeckou literaturou, plánovat a provést experimenty, porovnat a vyhodnotit získané výsledky. Předloženou bakalářskou práci studentky Evy Slepičkové považuji po stránce formální a obsahové za spis, který splňuje standardní požadavky kladené na bakalářské diplomové práce na Biologické fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Práci doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 3.6.2007.

Pavlína Tinavská

RNDr.Pavlína Tinavská, PhD.