

Oponentský posudek na bakalářskou práci Michaely Kotkové „Vliv klišťecích slin na produkci IL-17 myšími splenocyty“

Předložená bakalářská práce Michaely Kotkové si klade za cíl popsat dynamiku produkce interleukinu 17A aktivovanými myšími splenocyty a definovat vliv slin a extraktu ze slinných žláz klišťete *Ixodes ricinus* na hladinu IL-17 v supernatantech splenocytárních kultur. Práce obsahuje 31 stran textu a je členěna standardně na kapitoly *Úvod*, *Cíle práce*, *Materiál a metody*, *Výsledky*, *Diskuse*, *Závěr* a *Seznam použité literatury* (64 položek). Cíle práce autorka splnila, výsledky jsou zajímavé, k formě a obsahu předložené práce mám ale mnoho výhrad.

V celém textu je značné množství faktických nepřesností, stylistických neobratností i formálních chyb (jednopísmenné předložky a spojky na konci řádku, nejednotné psaní názvů cytokinů, přebývající nebo chybějící mezery v textu, střídání minulého a přítomného času). Některé věty jsou téměř nesrozumitelné, autorka používá anglický slovosled, nevhodné pády a nezvyklé umístění interpunkčních znamének:

„Proti bakteriální infekci, IL-23 je rychle produkován aktivovanými makrofágy a dendritickými buňkami v místě infekce.“ (s. 8)

„Navíc, mohou neutrofily uvolnit pro-zánětlivý cytokin TNF- α (tumor necrosis faktor α), jehož zvýšená produkce je nalézána u obstruktivních chorob dýchacích cest.“ (s. 11)

Citace nejsou uváděny v jednotné formě, některé citace chybí v seznamu použité literatury (Hajnická, 2004; Schoeler et al., 2000), jiné naopak nejsou uvedeny v textu (Schoeler et al., 2002; Yujing et al., 2006). U některých prací není v textu uveden rok vydání. Autorka také nijak neodlišuje články stejného autora publikované v jednom roce.

Úvod by mohl být logičtější jak obsahem, tak strukturou. Například kapitola 1.4. obecně pojednávající o cytokinech by měla předcházet kapitole, ve které autorka popisuje konkrétní vlivy klišťecích slin/SGE na imunitní odpověď hostitele, tedy i na produkci a aktivitu cytokinů. V této kapitole, nazvané „*Extrakt ze slinných žláz klišťete*“, autorka uvádí několik imunomodulačních efektů klišťecích slin/SGE. Není však vůbec jasné, na základě jakých kritérií byly vybrány zrovna tyto efekty a jiné, podle mého názoru pro předloženou práci s těžejší, byly autorkou zcela opomenuty. Bakalářská práce týkající se vlivu klišťecích slin na imunitu hostitele by si určitě zasloužila pečlivější zpracování tohoto tématu. Naopak historie objevu interleukinů (kap. 1.4.1.), podrobný popis struktury a funkce IL-17F (kap. 1.5.2.) a relativně rozsáhlá kapitola o expresi všech známých proteinů z rodiny IL-17 (1.5.3.) jsou vzhledem k rozsahu i tématu práce poněkud irelevantní. Některé publikace týkající se IL-17 jsou zjevně zastaralé (Aggarawal et al., 2003). Bylo by určitě lepší, kdyby autorka v tomto případě čerpala z recentních článků (2006 a novějších) publikovaných v kvalitních časopisech a důkladněji se zamyslela nad tím, které informace jsou důležité a které podružné.

V kapitole *Materiál a metody* autorka neuvádí koncentrace použitých protilátek (koncentrace se uvádí v $\mu\text{g/ml}$, objem o množství protilátky v kultuře nevypovídá), v tabulce na straně 14 je navíc chyba ve složení substrátového roztoku.

Některé formulace jsou velmi zavádějící, například:

„Pro kontrolu byla vytvořena triplikace jamek s buňkami stimulovanými anti-CD3, ale bez přidání SGE. Součástí kontroly byly také inhibitory proteáz, které byly přidávány ve stejných koncentracích jako SGE.“ (s.16)

Z uvedených vět vyplývá, že autorka použila pouze jednu kontrolu, a to buňky stimulované anti-CD3 protilátkou, ke kterým byly přidány inhibitory proteáz o výsledné koncentraci 20, 5 a 1 µg/ml. Taková kontrola by však mnoho informací nepřinesla.

V popisu ELISA testu (s.19, 20) autorka uvádí, že vytvořila kalibrační křivku naředěním standardu dvojkovou řadou na nulovou koncentraci. Taková řada by však byla nekonečná, předpokládám, že autorka použila jako nulovou hodnotu absorbanci blanku?

V kapitole **Výsledky** jsou v grafech 1, 7A a 7B zavádějící legendy, nejedná se přece o zobrazení rozdílů mezi kontrolou a cytokinem, ale mezi kontrolními a stimulovanými buňkami. Grafy 7A a 7B jsou chybně značeny jako 5A a 5B. U grafu 5 by měla být legenda pod grafem, nikoli na další straně. Autorka by mohla být opatrnější v používání výrazů jako „markantní“, „mnohem více“ a „inhibovat“. Rozdíly mezi skupinami jsou sice signifikantní, produkce IL-17 je ale pouze snížena, nikoli inhibována. Také tvrzení, že sliny snižovaly množství IL-17 ještě při koncentraci 0,01 µg/ml je chybné, žádný statisticky významný rozdíl z grafu patrný není.

Diskuse je poměrně vyvážená, opět se v ní však objevují nepřesné formulace. Inhibice proliferace T lymfocytů v přítomnosti klišťecích slin není teorií, ale mnoha autory potvrzeným faktem. Z výsledků nevyplývá zcela jednoznačně, že se IL-17 neváže na SGE. Je možné, že se váže, ale jiným epitopem, než jakým se následně váže na monoklonální protilátku v ELISA testu. Také tvrzení, že z výsledků se dá usuzovat na inhibici produkce cytokinu v raných fázích jeho exprese, považuji za velmi odvážné.

V kapitole **Závěr**, která je jinak napsaná srozumitelně, by autorka měla uvádět pouze své výsledky. Tvrzení, že: *„Inhibice pro-zánětlivého cytokinu IL-17 klišťecími slinami zřejmě usnadňuje klišťatům sání krve a současně přenos patogenů klišťaty,“* je nepodložené, jde pouze o hypotézu a data autorky nic o vlivu IL-17 na sání klišťat nebo přenos patogenů nevypovídají.

Přes všechny výhrady se domnívám, že práce Michaely Kotkové splňuje požadavky kladené katedrou Obecné biologie Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity na bakalářské práce a doporučuji ji k obhajobě.