

## Posudek na bakalářskou práci Zdeňky Jankovské: „Vliv TNF- $\alpha$ na vývoj infekce *Encephalitozoon cuniculi* v peritoneálních makrofázích“

Předložená práce se zabývá tematikou imunitní odpovědi na infekci působenou mikrosporidii *Encephalitozoon cuniculi*. Tato infekce patří mezi život ohrožující komplikace u imunodeficientních pacientů. Poznání imunitních mechanismů pomocí *in vitro* experimentů přispívá ke zvládnutí imunoprofylaxe případně imunoterapie mikrosporidiody.

Zmíněná bakalářská práce navazuje a rozšiřuje výsledky bakalářské práce Jiřího Jelínka, kdy byl sledován vliv interferonu gama v kulturách myších makrofágů.

Diplomová práce je tradičně rozdělena do hlavních kapitol úvod, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuze, souhrn, a seznam použité literatury. Celkový rozsah práce činí 38 stran.

Úvodní část bakalářské práce je zpracována přehledně a je věnována taxonomii mikrosporidií, jejich morfologii a životnímu cyklu, šířením infekce a popisu hlavních imunologických charakteristik a účinků tumor necrosis factor-alfa.

Cíle práce jsou formulovány do dvou bodů. První se zabývá zhodnocením vlivu TNF- $\alpha$  na replikaci *E. cuniculi* v myších peritoneálních makrofázích *in vitro*, druhým cílem bylo posouzení této v buněčné linii PMJ2-R.

Kapitola materiál a metody obsahuje soupis všech hlavních postupů a metod používaných k získání a vyhodnocování experimentálních výsledků.

Výsledky jsou podrobně zpracovány a rozděleny do šesti podkapitol podle prováděných experimentů s přehlednými grafy, které shrnují slovy psané výsledky.

V diskuzi autorka konfrontuje získané výsledky s literárními údaji.

Souhrn je jasně a přehledně formulován do čtyř bodů týkajících se účinků TNF- $\alpha$  na množení mikrosporidií v *in vitro* kulturách myších makrofágů.

K práci mám pár formálních připomínek, týkajících se nesprávné volby slov a překlepů, kterým se nikdo z nás nevyhne, ale posudek jimi nebudu zatěžovat a jsou uvedeny v soupisu níže.

(- překlad názvu práce – Faculty of Biological Sciences (správně **Faculty of Science**)

- 1.1.1 Taxonomie

- parazit (správně **paraziti**)

- mikrosporidie choroboplodné pro člověka (**infekční**)

- haplophasea a diplophasea (**dihaplophasea**)

- 1.1.2 Morfologie - ve stádiu bujení mohou být spory kulatější (**aktivace**)

- 1.2 Životní cyklus

- životní cyklus mikrosporidií je vcelku rozdílný (**se liší podle druhu**)

- všudypřítomná přenosová cesta (**cesta přenosu, způsob přenosu**)

- 1.2.1 Přenos na hostitele

- díky mateřskému vodnímu prostředí

- 1.2.3 Infekce hostitele

- probodnutí přilehlé hostitelské buňky (**infekce** - polární trubice

jak se otáčí naruby, tak proniká do buňky, takže ji neprobodne, ale spíše infiltuje)

1.2.4 Vývoj infekce v hostitelské buňce

- proces pohlavního rozmnožování byl poprvé pozorován u parazitického

moskyta *Amblyospora* (**jedná se o mikrosporidie komárů**)

- odstavec o vývoji mikrosporidií v cytoplasmě či parazitoforní vakuole nešťastně navazuje na pohlavní rozmnožování, přičemž se čtenář milně dozvídá, že pohlavní rozmnožování probíhá u rodu *Encephalitozoon* v cytoplasmě hostitelské buňky.

-1.4 Tumor necrosis factor-alfa - .....různou stabilitu (Bemelmans.....) (**.....různou stabilitu**

**(Bemelmans.....)**) – takových překlepů je v práci více, chybí mezery

- 3.1.1 Čištění spor *E. cuniculi* - .....spory *E. cuniculi* byli..... (**byly**)

- .....nabarven Uvexem..... (**Uvitexem**)

Nicméně neodpustím si upozornit na závažné nedostatky v literárním přehledu, kdy autorka v textu cituje minimálně 15 prací, které nejsou uvedeny v literárním přehledu (např. Vivarés a Méténier 2001, Nägeli 1857, Weiss 2001, Southern 2007, Schottelius a spol. 2000, Hazard a Brookbank 1984, átd.) a naopak v literárním přehledu jsou uvedeny publikace, které nejsou citovány v textu (např. Vávra a Undeen 1970, Khan a Moretto 1999 a další). Dále autorka

nejednotně vypisuje citace v textu, kdy publikace tří autorů jsou uváděny buď jako např. Franzen a spol. 2004 (strana 15, kapitola 1.4.4) nebo jako např. Didier, Snowden, Shaddock 1998 (strana 8, kapitola 1.1.2).


**K autorce mám několik věcných dotazů:**

1. Jak si autorka vysvětluje z textu vyplývající „vliv zvýšení osmotického tlaku na aktivaci spory degradací trehalózy na glukosové monomery, čímž se výrazně zvýší počet rozpustných molekul vně spory“ (str. 9, kapitola 1.2.2)?
2. Jak byly stanoveny uvedené dávky anti-TNF- $\alpha$  protilátek pro posuzování vlivu v kulturách myších peritoneálních makrofágů (0,6  $\mu\text{g/ml}$ ) a záchytné protilátky při ELISA testu (5 $\mu\text{g/ml}$ )?
3. Proč bylo používáno v experimentech relativně malé množství buněk a makrofágů ( $4 \times 10^4$ ) a v souvislosti s tím i spor, přičemž autorka sama zmiňuje, že některé získané negativní výsledky mohly být způsobeny nedostatečným množstvím nasazených makrofágů?
4. Jak si autorka vysvětluje zvýšenou míru množení *E. cuniculi* v INF- $\gamma$  aktivovaných PMJ2-R buňkách, přičemž u peritoneálních makrofágů tento jev sledován nebyl?
5. Jak si autorka vysvětluje klesající hladiny TNF- $\alpha$  v čase ve skupinách PMJ2-R buněk s přídatkem TNF- $\alpha$ ?

**Závěr:**

Přes výše uvedené připomínky a výtky, které mají spíše sloužit k poučení autorky do budoucna než jako fakta snižující kvalitu získaných výsledků, považují předloženou práci za zdařilou, splňující vytyčené cíle. Svědčí o schopnosti autorky pracovat s vědeckou literaturou, plánovat, provádět a vyhodnocovat experimenty a ze získaných výsledků vyvozovat závěry. Předložená bakalářská práce Zdeňky Jankovské splňuje veškeré požadavky kladené na bakalářské diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a po úspěšné obhajobě ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 25.5.2008

  
RNDr. Bohumil Sak, Ph.D.