



## Oponenský posudek na bakalářskou práci

Autorka: **Dominika Veselá**

Název práce: **Vliv klíštěcích slin na myší neutrofilní granulocyty aktivované virem klíštěvé encefalitidy**

Předkládaná bakalářská práce vychází z vlastní experimentální práce autorky.

Práce je v rozsahu 52 stran. První číslovaná strana začíná číslem 6. Práce je členěna na kapitoly: Teoretická část (13 stran), Cíle práce (1 strana), Materiály a Metody (5 stran), Výsledky (5 stran), Diskuze (4 strany), Závěr (1 strana), Seznam zkratk (2 strany), Seznam literatury (15 stran).

V teoretické části se autorka věnuje popisu klíštěte, navazuje poměrně obsáhlou kapitolkou o klíštěcích slinách a látkách v nich obsažených. Věnuje se též problematice viru klíštěvé encefalitidy. Závěr teoretické části je věnován funkci neutrofilů a jejich roli při onemocněních. V dalších kapitolách autorka popisuje vlastní experimentální práci a výsledky, které jsou následně diskutovány v příslušné kapitole. Autorka se během své práce seznámila s prací v laboratoři a osvojila si základní metody z virologie a imunologie. Kapitola diskuze je psána velmi pěkně a to v rozsahu až 4 stran.

K literární rešerši mám následující připomínky a otázky:

1. V textu odborného typu by se autorka měla vyvarovat formulací jako např.
  - Klíšťata před samotným sáním **proříznou** kůži hostitele, do rány vsunou hypostom a jím následně **protrhnou** cévu (str. 7)
  - Nastala fáze „**přivázání**“, následována „**kutálením**“ neutrofilů podél stěn (str. 15)
  - ...**verbování** neutrofilů... (str. 15, 17, 18)
2. V textu se objevují neúplné a nestejně citace např.
  - **[(Krbková, 2007)]** (str. 7), **(Junqueira, 2005)** (str. 8) **(Mans & Neitz, 2002a)** (str. 9)
3. Nesprávně zvolené mezery mezi číslem a procenty např.
  - Klíště rodu *Ixodes persulcatus* zahrnuje 80 – 97% všech druhů klíšťat ... (str. 11)  
správně by mělo být 97 % (s mezerou) = devadesát sedm procent
4. Vyskytují se nesprávné formulace např.
  - C protein váže virovou **DNA** k vytvoření virového nukleokapsidu... (str. 12)
  - **Člověk je náhodný hostitel viru klíštěvé encefalitidy, což znamená, že může rozšiřovat chorobu s celkem vysokou virémií**, ale neúčastní se cirkulace viru v přírodě a je jakýmsi konečným článkem při oběhu viru... (str. 13)
  - V tu dobu neutrofilů vytvářejí glykosilované ligandy k těmto selektinům, jedním z nich je například PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand 1). Tyto molekuly **naváží P a E selektiny** na endoteliální buňky, poté dojde k přilnutí neutrofilů k stěnám cév...(str. 15)



5. Autorka uvádí v kapitole, která se věnuje způsobu přenosu viru klíšťové encefalitidy, že ve střevech klíštěte dojde k pomnožení viru, ale v příslušných citacích, které autorka uvedla, jsem tuto informaci nenalezla.

...Klíště nasaje infikovanou krev, ta putuje do střeva, kde dojde k pomnožení viru. Následně putují patogeny do slinných žláz, kde migrují do slin a spolu s těmi se dostávají do dalšího hostitele, na kterém infikované klíště saje (**Labuda et al., 1993; Růžek et al., 2011**). (str. 12)...

V které publikaci jste tuto informaci našla?

6. Jaké jiné viry jsou přenášeny klíšťaty? (jmenujete minimálně 6 virů)  
7. Čím si autorka vysvětluje, že sliny nemají vliv na sekreci IL-6 a IL-12p40p70? (str. 10)  
8. Jsou známy receptory pro virus klíšťové encefalitidy? Pokud ano, tak jaké?

K metodice, výsledkům a diskuzi mám následující připomínky a otázky:

1. Nejsou vysvětleny zkratka FCS a MVEC (ani v seznamu zkratek). Prosím doplnit. (str. 22 a 33)
2. Uveden chybný název firmy Miltenyi.  
Neutrophil Isolation Kit – mouse (**Mylytenyi** Biotec, USA) (str. 22)
3. Prosím autorku o vysvětlení co je to kondiční medium, které použila v experimentu s IFN  $\beta$ .
4. Infekční dávka viru byla 5:1, což znamená, že 5 virových částic připadalo na 1 buňku (str. 22)  
Lepší by bylo uvést 5 MOI.
5. Obrázky 1 a 2 mají špatnou kvalitu. (str. 26 a str. 27).
6. V diskuzi autorka uvádí, že virulentní kmeny rychle pronikají do buňky a aktivně se v ní replikují (str. 31). Proč nezkusila infikovat neutrofile kmenem HYPR a proč byla snížena infekční dávka z 5 MOI na 1 MOI?
7. Pozorovala autorka nižší životnost neutrofilů během infekce?
8. U experimentů, kde se měřila koncentrace TNF  $\alpha$  není uvedena kontrola. Jakou autorka použila?
9. Kolikrát autorka opakovala jednotlivé experimenty (analýza apoptózy, replikace viru v neutrofilech)?
10. Jak jinak by se dala pozorovat absorpce viru klíšťové encefalitidy v neutrofilech?
11. Téma této bakalářské práce je velmi zajímavé a bylo by dobré v něm pokračovat a rozvinout. Jaký postup dalších prací by autorka navrhovala?

Závěrem mohu konstatovat, že předložená práce splňuje všechny odborné náležitosti vyžadované pro tento typ práce a proto doporučuji práci k obhajobě.

Navrhuji hodnocení **velmi dobře**.

V Brně 9. 1. 2017

RNDr. Jana Širmarová