

Oponentský posudek na bakalářskou práci Jany Levé:

Sledování změn genové exprese interleukinu 10 u potkana jako modelového organismu v průběhu infekce tasemnicí *Hymenolepis diminuta*

Práce Jany Levé se věnuje velmi zajímavé problematice, a to možnosti využít terapeuticky vlivu helmintů na vývoj imunitní odpovědi hostitele. Na infekci helminty totiž imunitní systém reaguje aktivací Th2 větve imunitní odpovědi, která vede k potlačení zánětu. Podle jedné hypotézy je tak zvýšení výskytu některých autoimunitních chorob, např. zánětlivých onemocnění střev důsledkem nepřítomnosti helmintických infekcí a související Th2 imunitní reakce. Základním mediátorem Th2 odpovědi je cytokin IL-10, proto může sledování jeho exprese během infekce helmintem prokázat rozvoj Th-2 odpovědi.

Jana Levá během své práce provedla dva experimenty, během nichž infikovala pokusné potkany tasemnicí *Hymenolepis diminuta* a sledovala expresi IL-10 v krvi. Práce má 28 stran a je psána čtivým, úsporným a vědeckým slohem, což je třeba u bakalářské práce ocenit. Úvod tvoří velmi dobře zpracovaná rešerše, zaměřená obecně na helmintoterapii a pak konkrétněji na použitý modelový organismus. Až na dva překlepy (viscelární místo viscerální a hexant místo hexakant) je úvod zpracován výborně. Metody jsou popsány detailně a až na analýzu qPCR, ke které se ještě vrátím, dostatečně. K metodám mám několik otázek:

1. Kolik tasemnic se uchytí v jednom potkanu? Je možné jejich počet odhadnout, např. z počtu vajíček?
2. Byla po ukončení experimentu potvrzena přítomnost tasemnic v potkanech pitvou?
3. Kolik RNA bylo vyizolováno z 250ul krve?
4. Proč byl použit ubiquitin jako housekeeping? Jaké jiné geny by se daly použít?

Výsledky jsou na můj vkus až příliš stručné. Obsahují pouze dva grafy a jejich velmi stručný popis, který bohužel není dostatečný k pochopení prezentovaných dat. Pokud byly použity tři hlavní metody - izolace RNA, reverzní transkripce a qPCR, možná by stálo za to uvést ve výsledcích i průběžné výsledky, např. úspěšnost izolace RNA (množství, čistota), případně nějaké fotky tasemnic atp. Ke grafům mám následující připomínku a dotaz: Relativní exprese se vždy k něčemu vztahuje. Je třeba dvou vztahů, za prvé vztah mezi sledovaným genem a referenčním genem (housekeeping) a za druhé vztah mezi experimentální a kontrolní skupinou. **K čemu je třeba každý z těchto vztahů? Co je v grafech považováno za 100%?**

Diskuze je provedena velmi dobře, výsledky diskutuje s literaturou a seznam použité literatury odpovídá rozsahu práce. Mám následující dotazy:

1. Nikde v práci jsem nenašel, u jakých buněk v krvi se předpokládá exprese IL-10. Je krev vhodným materiálem pro sledování exprese IL-10?
2. Jakou další metodou by šlo sledovat IL-10?
3. Jak si autorka vysvětluje tak výrazné zvýšení exprese v 6. dni na Obr. 4, které pak opět klesá na bazální úroveň? Neměl by být spíše nárůst exprese IL-10 kontinuální a trvalý?

Celkově považuji práci Jany Levé za velmi zdařilou a velmi dobře napsanou. Výsledkům by měla být věnována větší pozornost a větší prostor. Přesto navrhuji práci ohodnotit známkou **výborně**.

V Českých Budějovicích 4.5.2017

RNDr. Jindřich Chmelář, Ph.D.

