

Oponentský posudek bakalářské práce **Moniky Ederové**

Název práce: **Anti-hemostatické účinky serpínů z klíštěte *Ixodes ricinus***

Školitel: **RNDr. Jindřich Chmelař, Ph.D.**

Oponent: Tereza Pospíšilová

Práce je psána v českém jazyce, má 48 stran a je rozdělena do standardních oddílů. Je psána srozumitelnou češtinou bez formálních a gramatických nedostatků. Autorka používá vhodné vědecké termíny a výrazy. Text je logicky členěn a jednotlivé části jsou plynule propojeny. Svým zaměřením a obsahem plně splňuje požadavky bakalářské práce.

Autorka se v práci zaměřuje na antihemostatické účinky čtyř rekombinantně vytvořených serpínů (IRS 2, IRS 3, IRS 5 a IRS 8) z klíštěte *Ixodes ricinus*. Nejprve se snažila zavést a optimalizovat metody testování agregace a aktivace krevních destiček pomocí průtokové cytometrie. V případě agregace destiček se však cíle nepodařilo dosáhnout z důvodu nekonzistentní agregace destiček. Nebylo tedy možné vyhodnocovat výsledky kvantitativně a vyvozovat závěry o účinku jednotlivých serpínů na agregaci trombocytů. V případě aktivace destiček se ukázalo, že ani jeden z použitých serpínů zřejmě nemá inhibiční účinky na jejich aktivaci. S využitím nového koagulometru byly poté provedeny základní koagulační testy (PT, APT, TT). Cílem bylo zjistit, zda jednotlivé serpiny inhibují vnější, vnitřní či společnou dráhu koagulace. Byly prokázány antikoagulační účinky serpínů IRS 3 a IRS 8, kdy IRS 3 mírně inhiboval vnější koagulační kaskádu a IRS 8 velmi výrazně inhiboval vnitřní koagulační kaskádu.

Během své práce si studentka osvojila metody průtokové cytometrie, agregometrie, koagulometrie i práci s laboratorními zvířaty, což se jí může v budoucnosti jistě hodit. I přesto, že cíle práce byly naplněny jen částečně, z práce je patrné, že studentka vyvinula značné úsilí a hledala a zkoušela různé způsoby při zavádění a optimalizaci jednotlivých metod, a to je třeba ocenit. V diskusi poté autorka správně porovnává své výsledky s publikovanými zjištěními. Srozumitelně uvádí důvody, proč bylo obtížné metody optimalizovat a navrhuje další možný postup i jiné metody, pomocí nichž by se dala agregace testovat.

Bakalářská práce Moniky Ederové je zpracována pečlivě a neobsahuje závažnější nedostatky. Zmíním pouze několik poznámek, které nesnižují úroveň práce. Dle mého názoru není snadné testovat aktivaci či agregaci destiček, neboť právě trombocyty jako první téměř okamžitě svou aktivací reagují na porušení hemostázy. Precizní a rychlý odběr krve a vhodné zvolení antikoagulačního média je nezbytnou podmínkou. V tomto případě je nutné mít metody odběru krve a izolace destiček dokonale zvládnuté, jinak se nelze posunout dál. Pokud víte, že odběr krve z ramenního pletence myši nebyl ideální, neměli byste se tímto úvodním krokem zabývat pečlivěji?

1. Odkud je nejvhodnější brát krev myši, abychom minimalizovali srážení krve a aktivaci trombocytů?
2. Jak jinak než pomocí citrátu lze zamezit srážení krve a aktivaci destiček- jaké znáte antikoagulanty a jak fungují?
3. Destičky lze aktivovat různými způsoby. Jakými signály a mechanismy jsou aktivovány trombocyty v lidském těle? Jaké jiné aktivátory se používají k měření aktivace či agregace destiček a jaký je mechanismus jejich účinku?
4. Jakými jinými metodami se dá testovat koagulace, pokud nemáme k dispozici koagulometr? Na jakém principu funguje koagulometr?

Závěr:

Bakalářská práce Moniky Ederové splňuje požadavky na bakalářskou práci na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity, doporučuji ji k obhajobě a navrhuji známku 1.

V Českých Budějovicích dne 25. 6. 2020

Tereza Pospíšilová