

Oponentský posudek na bakalářskou práci Lenky Doudové „Infekce primárních makrofágů a dendritických buněk virem klíšťové encefalitidy“

Bakalářská práce řeší problematiku interakce viru klíšťové encefalitidy s buňkami imunitního systému, které jako první přicházejí do styku s virem a mohou se podílet na jeho šíření v organismu. Na časnou patogenezi infekce virem KE se zřejmě podílí Langerhansovy buňky, které virus přenášejí do spádových lymfatických uzlin kde se virus množí, což vede k primární viremii. O úloze dermálních rezidentních makrofágů v patogenezi KE se toho už tolik neví.

Lenka Doudová si k pokusům *in vitro* vybrala CD11c pozitivní dendritické buňky a makrofágy derivované z kostní dřeně. Jako pozitivní kontrolu použila makrofágovou linii P388D1, která je velmi permissivní k infekci virem KE.

Interakci dvou kmenů viru KE s poněkud odlišnou virulencí s buňkami hodnotila z několika hledisek. Sledovala vliv virové infekce na životnost buněk, replikaci virové RNA a produkci virových částic do kultivačního media.

Výsledkem bylo zjištění, že virová infekce prakticky neovlivňuje viabilitu buněk, a to ani P388D1, ve kterých se virus KE intenzivně množí. Replikace viru v dendritických buňkách byla poněkud vyšší než v makrofázích, i když výrazně nižší než v buňkách P388D1. Tomu odpovídalo jak množství virové RNA, tak produkce infekčního viru.

Práce je klasicky členěna na Literární přehled, Cíle, Materiál a metody, Výsledky, Diskusi a Závěr.

Úvod na 14 stránek je velmi pěkně zpracován a zahrnuje informaci jak o viru KE, tak o buňkách imunitního systému, které jsou předmětem výzkumu. Úvod je vhodně doplněn převzatými schématy.

Materiál a metody ukazují, že studentka zvládla řadu náročných metod od izolace a kultivace dendritických buněk a makrofágů, přes stanovení životnosti buněk pomocí Alamar Blue, kvantifikaci virové RNA pomocí qRT-PCR až po plakovou titraci. V metodické části je vidět snaha o pečlivou korekci množství zpracovávané RNA v souvislosti s viabilitou buněk.

Kapitola Výsledky podrobně popisuje dosažené výsledky, které jsou znázorněny devíti grafy a dvěma tabulkami. Všechny obrázky jsou opatřeny podrobnými popisy a nechybí statistické zhodnocení rozdílů mezi experimentálními skupinami.

Diskuse na 4 stranách podrobně diskutuje dosažené výsledky a porovnává je se světovou literaturou. Zřejmě pro připomenutí se zde opakují popisy některých metodických přístupů, které jsou uvedeny již v metodice. Dosažené výsledky s virem KE jsou porovnány s výsledky u jiných flavivirů.

V Závěru jsou v sedmi bodech shrnuty dosažené výsledky.

Literatura obsahuje celkem 97 odkazů a 3 elektronické zdroje.

Nechybí přehled použitých zkratk.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

Str. 9 dole: bílé krvinky neprezentují antigen B buňkám

Str. 10, předposlední odstavec: z tvrzení, že „Díky schopnosti makrofágů produkovat oxid dusnatý, mohou makrofágy zabíjet mikroorganismy“ by mohlo vyplývat, že NO je jediným zabíječským mechanismem makrofágů. Jaké jsou ty další?

Str. 18: jaký byl zdroj LCCM media?

Dá se odhadnout, s jakým fenotypem makrofágů (M1/M2) studentka pracovala? Jaká by byla interakce viru KE s M1 makrofágy, eventuálně s makrofágy aktivovanými IFN γ ?

Jakou roli hrají rezidentní makrofágy a dendritické buňky v obraně proti infekci kůže virem KE a jaká je jejich role v šíření viru?

Závěr: Předložená práce je velmi kvalitně zpracována, metodicky bohatá s kvalitním literárním úvodem i diskusí. V podstatě jí není co vytknout.

Proto navrhuji hodnocení „výborně“

V Českých Budějovicích 15. 5. 2021

prof. RNDr. Jan Kopecký, CSc.