

2. SOUHRN

Francisella tularensis je vysoce virulentní bakterie zodpovědná za onemocnění zvané tularémie. Bakterie je diskutována vzhledem ke své schopnosti množení a růstu v savčích buňkách. Nicméně, imunopatogeneze této infekce není stále kompletně známa. Předkládaná práce je zaměřena na sledování vzájemného vztahu mezi touto intracelulární parazitickou bakterií a myší monocyto-makrofágovou buněčnou linií J774.2.

Cíle: Sledovat schopnost myšního rekombinantního cytokinu **interferonu- γ** (INF- γ) a/nebo **lipopolysacharidu** (LPS) odvozeného z *E. coli in vitro* stimulovat antimikrobiální aktivitu buněčné linie J774.2 vůči živému vakcinačnímu kmenu (LVS) *Francisella tularensis* skrze schopnost těchto buněk produkovat prozánětlivé cytokiny a chemokiny a inhibovat růst bakterie ve sledovaných buňkách.

Metody: Proliferace bakterie v *in vitro* kultuře byla sledována metodou populační analýzy. Pro stimulaci okamžitě po infekci, nebo 3 hod před infekcí byl použit rekombinantní myší INF- γ , v koncentraci 100 I.U./ml nebo 1000 I.U./ml media a/nebo bakteriální LPS odvozený z *E. coli*, serotyp O55:B5, v koncentraci 10 ng/ml nebo 50 ng/ml media. Pro hodnocení cytokinů a chemokinů v buněčném supernatantu byla použita metoda ELISA. Hodnoceny jsou následující cytokiny a chemokiny: interleukin 12p40 (IL-12 p40), interleukin 18 (IL-18), interleukin 6 (IL-6), tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α), MCP-5 (Monocyte Chemoattractive Protein-5), RANTES (Regulated upon Activation, Normal T Expressed, and presumably Secreted), MIP-1 γ (Macrophage Inflammatory Protein 1 gamma) and MIP-2 (Macrophage Inflammatory Protein 2). Životnost buněk byla sledována použitím trypanové modře (0,5% roztok). Koncentrace NO₂⁻ byla sledována pomocí Griessova činidla. Výsledky tří nezávislých pokusů jsou vyjádřeny jako průměr \pm S.D.

Výsledky: Práce ukazuje protektivní vliv především kombinace INF- γ a LPS na buňky linie J774.2. Takto ovlivněné buňky jsou schopny potlačit růst *F. tularensis* LVS především z hlediska dlouhodobé stimulace buněk před následnou infekcí buněk J774.2 *F. tularensis* LVS. V případě již rozvinuté infekce, je třeba použít vyšší dávku kombinace INF- γ a LPS pro potlačení růstu bakterie v buňkách J774.2. *F. tularensis* LVS infekce zvyšuje produkci IL-12p40, snižuje produkci TNF- α a není schopna ovlivnit produkci IL-18, IL-6, MCP-5, RANTES, MIP-1 a MIP-2 stimulovanými buňkami linie J774.2. Generační čas bakterie v buňkách J774.2 je 3,5 hodiny, stabilita buněčné kultury je zaručena prvních 12 hodin.

Závěr: Infekce *F. tularensis* LVS ovlivňuje syntézu cytokinů monocyto-makrofágovou buněčnou linií J774.2. Stimulace buněk J774.2 kombinací INF- γ s LPS inhibuje růst *F. tularensis* LVS.