

## Oponentský posudek disertační práce

**Mgr. Monika Holická:**

### **Ovlivnění infekce *Francisella tularensis* LVS *in vitro* působením interferonu- $\gamma$ a lipopolysacharidu**

Předložená práce obsahuje 108 stran, tabulky a grafy jsou přiřazeny k textu, ke kterému se vztahují. Je citováno 109 relevantních, vesměs cizojazyčných pramenů. Práce je rozdělena běžným způsobem do sedmi částí. Text je velmi přehledný, koncizní a výborně srozumitelný, tabulky a grafy jsou pečlivě zpracované, jazyk svědčí o výborných vyjadřovacích schopnostech autorky, avšak používání pasiva v popisu vlastní činnosti je nečeské a nesprávné.

Teoretická část fundovaně popisuje současný stav problematiky ve všech aspektech zamýšlené práce, setkáme se tedy s částí taxonomickou, epidemiologickou, klinickou, imunologickou i molekulárně biologickou. Výběr literárních pramenů je velmi pečlivý, zpracování informací je provedeno s kritickým nadhledem a smyslem pro proporce.

Cíle práce jsou pregnantně formulovány v kap. 2. Téma práce se dotýká patogeneze tularemie, u výstupů se dá předpokládat jak teoretický, tak praktický dopad.

Ke splnění cílů práce byly zvoleny adekvátní metody, jejich popis svědčí o autorčině zručnosti a schopnosti provádět naznačené pracovní postupy. Již samo zvládnutí a zavedení metod je třeba ocenit. Autorka mohla ovšem vysvětlit, proč byl pro daný úkol použit popsáný model. O tom, že metody byly zvládnuty na vysoké úrovni, svědčí i prezentované výsledky.

Přečetná experimentální data jsou přehledně zpracovaná do grafů a pomocných tabulek udávajících statistické významnosti rozdílů. Data jsou komentovaná. Asi je obtížné najít obecnější vyjádření pro produkci jednotlivých cytokinů stimulovanými/nestimulovanými resp. infikovanými/neinfikovanými buňkami v průběhu 24 hodin. Přesto bych uvítal srovnání produkce větší skupiny cytokinů v jednom modelovém uspořádání, např. F.t. + (IFN $\gamma$  + LPS) v čase např. 12 hod. ve formě např. násobků hodnot nestimulovaných buněk.

Diskusi k dosaženým výsledkům provedla autorka zodpovědně a pokorně, spíše popisně. Nevím, zda bylo možno provést výraznější zobecnění nebo úvahu o vztahu dosažených výsledků k interakci francisela – makroorganismus na úrovni cytokinové sítě či spekulaci o významu dosažených výsledků pro pochopení dosud tajemného onemocnění tularemíí.

Závěry práce jsou formulovány zřetelně, někdy až příliš skromně.

Nemám k práci zásadní věcné připomínky, lze pouze upozornit na určité detaily, jež jsem při studiu práce postupně zaznamenal (není třeba reagovat):

- Některé chemické struktury mají zbytečně latinská jména, např. fosforibosylamin není třeba psát s Ph místo F (s. 14)
- Při uvádění zdrojů informací někdy neskloňujete jméno autora, např. Lindgren, s. 17
- centrifugace se charakterizuje hodnotou G, ne ot. /min s. 26
- Nesprávný termín na s. 77 místo "proliferace" by mělo být „generační doba“

k autorce mám dotazy, prosím o reakci:

- Na s 15. zmiňujete replikaci *F. tularensis* v akantamébách – je nějaká podobnost mezi franciselami a legionelami, které mají také amébového hostitele a v živočišných je najdeme v makrofázích?
- Není mi jasný způsob stanovení počtu CFU francisel v suspenzi buněk J774.2. Ve vašem postupu není uvedena lýza buněk, při postupu, který je popsán, by počet CFU korespondoval nejspíš s počtem (nelyzovaných) napadených buněk
- Jak je linie J774 blízka/vzdálená monocytům-makrofágům v těle napadených živočichů
- Který cytokin signalizuje infekci MO/MF buněk *F. tularensis*, je-li takový, mohl by mít diagnostický význam?
- Lze cytokinovou odezvu na infekci MO/MF buněk *F. tularensis* přirovnat k jinému vztahu makrofág-patogen?

I přes výše uvedené připomínky lze shrnout, že hodnocená práce je výborně zpracovaná a dokumentovaná, svědčí o zralé invenci autorky. Výsledky zde prezentované budou jistě základem pro pokračování v experimentech nutných pro bližší pochopení vztahu patogen-hostitel. Doporučuji práci k obhajobě a navrhuji nejvyšší ocenění.

v Hradci Králové dne 14. 6. 2010

PharmDr. Petr Jílek, CSc.  
Univerzita Karlova v Praze,  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,  
katedra biologických a lékařských věd