



## POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI Bc. Aloise Zdrhy

### **Vliv endosymbiontů na složení a vlastnosti exosomů *Trichomonas vaginalis***

Předložená diplomová práce je skvělým příspěvkem k pochopení komplexních procesů mezi hostitelem a parazitem, která může být modulována mnoha faktory, včetně vícečetné endosymbiózy/parazitace dalšími partnery. V tomto konkrétním případě se jedná primárně o interakci mezi *Trichomonas vaginalis* a lidským hostitelem (v práci reprezentovaným buněčnou linií HaCaT), přičemž je tato interakce modifikována infekcí virem VTT (popř. kombinovanou virémií VTT1-VTT3). Práce se zaměřuje na analýzu extracelulární vezikulární frakce uvolňované parazitem, jejíž složení se liší v závislosti na přítomnosti VTT – a to komplexním způsobem charakterizujícím příslušný proteom i různé populace RNA, mj. prokazující i přítomnost příslušných virových komponent a tak ukazující na využití exosomů pro jeho infektivitu. Předložená práce je moderního stříhu – využívá velké množství bioinformatických přístupů, snaží se vytěžít s primárních experimentálních dat (velice pečlivým způsobem a korektně získaných) maximum informací. Tyto přístupy kombinují strukturní analýzu, proteinové anotace, pečlivou sekvenční a interakční analýzu identifikovaný sekvencí RNA – v celkovém vyznění se jedná o skutečně impresivní a v podstatě limitně komplexní přístup, který by mohl být inspirací pro ostatní kvalifikační práce.

Téma interakce patogen-hostitel v takto realizovaném obsahu a formě bez diskuse spadá do imunologického studijního programu. Jedná se o metodicky a modelově inspirativní přístup, který ukazuje, že obory nemají jasně definované hranice, navzájem se překrývají a obohacují. Podstatná část práce, včetně kvalitní diskuse se věnuje analýze cytokinových profilů a jejich relevance pro odlišnost v klinickém obrazu mezi různými typy izolátů – v kontextu přítomnosti, nebo absence virového endosymbionta. Pro oponenta bylo čtení předložené práce velice inspirativní a podnětné, včetně toho, že při něm mohl reflektovat posun od prvotního představení prostřednictvím posteru a průběžné prezentace projektu. I v tomto ohledu je evidentní, k jakému kvalitativnímu posunu průběžně docházelo – což vyvrcholilo předloženou diplomovou prací.

Je skvělé, že v předložené práci se kombinuje obsahová kvalita s kvalitou formální. Alois Zdrha se formátu své práce zhostil velice dobře, sepsal ji výbornou angličtinou, čtivě bez formálních pochybení. Je evidentní, že konečné editaci práce věnoval velké množství úsilí, což vedlo k výsledkům, který opět může sloužit ostatním studentům jako vhodná inspirace.

Metodiky jsou dostatečně popsány, umožňují reprodukování a pochopení provedených experimentů. Výsledková část je opět vysoce kvalitní, je skutečně výsledková – sumarizuje získaná data velice koncizním způsobem, interpretace správně nechává na následnou diskusi. Citovaná literatura je reprezentativní, počtem jednoznačně dostačující, v podstatě vyčerpávající sevrené a dobře definované téma. Kladem práce je velice kvalitní diskuse, která se nejen zamýšlí nad získanými daty, ale též je vhodně uvádí do kontextu publikovaných prací. I zde je evidentní, že autor studované problematice dokonale rozumí, nebojí se zaujmout k publikovaným pracím kritický přístup, který je ale schopen si relevantně obhájit. Jedinou připomínku mám z pozice čtenáře, který se dlouhodobě nepohybuje ve studované problematice – zde jsem se musel často vracet k celostránkovému (a nutno konstatovat jejich bezchybnému a vyčerpávajícímu) seznamu zkratk, které jsou široce v práci využívány, v některých případech bych osobně dal přednost nezkrácené variantě.



K práci bych měl několik dotazů a dalších specifických komentářů:

1. První dotaz je možná spíš filosofický – je možné virus považovat za endosymbionta? Můžete sumarizovat benefity, které *Trichomonas vaginalis* při infekci získává.
2. Neuvažovali jste o separátní infekci „germ free“ trichomonád separátními VTT (VTT1-3) pro charakterizaci jejich možných unikátních vlastností – včetně těch imunomodulačních?
3. V práci je popsána infekční nika *T. vaginalis* v reprodukční a vylučovací soustavě. Neexistují i jiné, např. v soustavě dýchací? Jak je to s průběhem onemocnění a možnou tkáňovou a orgánovou distribucí parazita u imunokompromitovaných jedinců?
4. Na straně 4 je zmíněn mechanismus likvidace parazita neutrofily prostřednictvím trogocytózy. Jakým způsobem se to děje?
5. V práci je zmíněno, že na rozpoznávání *T. vaginalis* se podílejí konkrétní TLR – o jaké parazitární ligandy se zde jedná?
6. Na straně 10 zmiňujete, že rezistence k metronidazolu je spojena s absencí TVV – jaké zde může být vysvětlení?
7. Na straně 11 zmiňujete, že hlavním imunogenem *T. vaginalis* je P270 (upregulovaný po infekci VTT). Jedná se o molekulu, proti níž se generují protilátky, nebo je mechanismus jejího imunogenního účinku jiný?
8. V metodice je zmiňováno, že byla zjišťována viabilita *T. vaginalis* v kultuře pomocí trypan blue testu. Jaké hodnoty byly typické?
9. Na straně 48 se věnujete identifikaci imunologicky relevantních homologů v proteomu *T. vaginalis*. Podařilo se vám nalézt celou řadu zajímavých molekul. Mohlo by se v některých případech jednat o příklad horizontálního transferu genů mezi lidským a trypanozomovým genomem?

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená diplomová práce je velice kvalitní a je zajímavým příspěvkem k důležitému tématu na pomezí parazitologie a imunologie, které odkazuje na obecný fakt, že studované fenomény mají velkou míru vnitřní komplexity – zde tematizované např. odlišným chováním parazita vůči hostiteli v kontextu vlastní parazitace/endosymbiózy. Práce je sepsána čtivě, formálně na velmi dobré úrovni, a co je důležité zmínit, pomocí kombinace metodik vhodně zvolených pro testování příslušné hypotézy. Co třeba dále ocenit je fakt, že využívá vhodné kombinace experimentálních a bioinformatických přístupů. Autorovi se bezesporu podařilo získat unikátní data, které se zcela jistě stanou součástí kvalitní publikace, která vnese světlo do poněkud rozporuplných publikovaných informací.

Tuto práci jednoznačně doporučuji k obhajobě s výborným hodnocením.

**prof. RNDr. Jan Černý Ph.D.**

V Praze 7.9.2022