

Oponentský posudek

doktorské disertační práce Mgr. Martiny Spišákové „Charakter bunkovej smrti hostitelskej bunky indukovanej virusom vakcinie a inhibičný efekt kyseliny lipoovej na rast virusu vakcinie“.

Hlavním tématem práce je studium viru vakcinie. Prvá část práce je věnována indukci apoptózy v důsledku virové infekce, v druhé části se autorka věnovala mechanismu antivirového účinku kyseliny alfa-lipoové. Výsledky v obou případech byly publikovány ve dvou mezinárodních odborných časopisech s IF formou původní práce, kde je v obou případech uvedena jako první autor. Práce je sepsána slovensky a má klasické členění. Úvod (28 stran) poskytuje přehled znalostí o viru vakcinie, jeho životním cyklu, interakcích s hostitelem na úrovni buňky i organismu, využití viru jak vakcíny a antivirových látkách. Závěrem této kapitoly, autorka seznamuje čtenáře pro lepší orientaci s předchozími výsledky pracovní skupiny. „Materiál a metody“ (11 stran) jsou popsány dostatečně a výstižně.

Kapitola „Výsledky“ (44 stran) obsahuje přehled výsledků z obou publikací. Studium indukce apoptózy v permisivních buňkách HeLa a BSC-40 potvrdilo, že anti-apoptické mechanismy viru vakcinie jsou velmi účinné a jsou schopny blokovat i apoptózu vyvolanou syntetickým inhibitorem. Vypracování metodiky a stanovení průběhu buněčné smrti během produktivní infekce VACV má velký význam. V další fázi může být využito pro studium buněčné smrti při infekci různými mutantami a nereplikujícími se vektory odvozenými od poxvirů a při infekci nepermissivních buněk při přirozené infekci organismu. Nalezení částečného protivirového efektu u kyseliny alfa-lipoové, je vzhledem k jejímu využití ve farmakologii zajímavou novinkou, přestože míra inhibice je dosti nízká. Důležité bude zjistit, zda tento efekt se uplatňuje při akutní infekci např. opičím poxvirem, nebo jiným lidským patogenem, jako je virus molluscum contagiosum.

V další kapitole „Diskuze (15 stran) autorka rozebírá výsledky práce a pokouší se je vysvětlit a srovnat z publikovanými znalostmi. Členění na speciální podkapitoly usnadňuje studium předložené práce.

Následují „Závěr“ obsahující výstižný souhrn výsledků a „Seznam literatury“, kde jsou doloženy všechny citované zdroje.

Zpracování disertační práce i její obsah svědčí o tom, že J. Špičáková má výborné schopnosti pro teoretickou i experimentální činnost. Práce neobsahuje žádné závažné nedostatky a

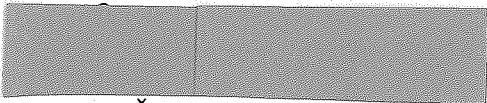
výsledky jsou tak přesvědčivé, že mohu bez jakýchkoliv pochybností práci doporučit jako podklad k obhajobě doktorského titulu.

Připomínky

Str. 14 – Jako možný původ viru vakcinie uvádíte neustálé pasážování viru varioly na kůži krav a lidí. Můžete vysvětlit, jak by mohl výhradně lidský patogen infikovat kravskou kůži? Jako zajímavý příspěvek k této problematice doporučuji fylogenetickou analýzu poxvirů (Gubser C et al., J.Gen Virol (2004) 85,105-117) z níž je zřejmé, že genom viru vakcinie je od varioly signifikantně vzdálen a naopak je vysoce homologický s kravským poxvirem CPV-GRI 90, jenž je v současnosti považován za nejpravděpodobnějšího předka.

Otázky a náměty pro diskuzi:

1. Jaký význam může mít apoptóza při poxvirové abortivní infekci a jak ovlivní množení viru např. v lymfatických orgánech a jaký to může mít význam pro indukci protivirové imunity?
2. Kyselina alfa-lipoová obsahuje opticky aktivní uhlíkový atom. Živé organizmy syntetizují pouze (+) formu, jež např. stereospecificky aktivuje cytoprotektivní geny pomocí transkripčního faktoru Nrf2. Předpokládá se, že (-) forma je neaktivní ba, že by mohla mít i inhibiční efekt. S jakou formou jste pracovala vy?
3. Jsou již k dispozici výsledky pokusů terapie LA infekce VACV nebo EV na myších?


RNDr. Š. Němečková DrSc.

V Praze, 7. května 2010