

Školitelský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Jany Chaloupecké s názvem „Odvrhování glykokalyxu u cercárií ptačích schistosom“ vypracovanou na Katedře parazitologie PřF UK v Praze v r. 2012.

Školitel: RNDr. Libor Mikeš, PhD., Katedra parazitologie PřF UK v Praze

Předložená práce měla za hlavní cíl popis procesu odvrhování glykokalyxu u cercárií ptačích schistosom, zejména druhu *Trichobilharzia regenti*, penetrujících za pomoci sekretů penetračních žláz do kůže definitivního hostitele. Ačkoliv jsou schistosomy obecně snad nejprobádanější skupinou motolic, tento jev je popsán jen velmi povrchně a de facto existují pouze spekulace o mechanismu, kterým probíhá. Na jednu stranu se předpokládá přímé zapojení produktů penetračních žláz (hlavně proteáz), na druhou stranu existují ultrastrukturální důkazy o odlučování povrchové membrány cercárie při transformaci na schistosomulum, se kterou by mohl být odvrhován i glykokalyx, který cercárii slouží zřejmě jako ochrana ve vnějším prostředí, ale pro imunitní systém hostitele je silně atraktivní strukturou. Stimuly pro odvrhování glykokalyxu nejsou známy vůbec, lze jen hypotetizovat, že by mohly být stejné jako stimuly pro sekreci obsahu penetračních žláz (tedy nenasycené mastné kyseliny kůže). Tato práce měla vnést trochu světla do této problematiky.

Na začátku stálo pozorování sekrece penetračních žláz po in vitro stimulaci kyselinou linolovou, kdy po specifickém barvení sekretů jsme si všimli, že tyto sekrety adherují na povrch cercárií, cercárie jimi prolézají a nakonec se jich zbavují. Odtud byl jen kousek k myšlence, že spolu se sekrety je odvrhován i glykokalyx. Toto se Janě skutečně podařilo prokázat sérií pokusů s fluorescenčně značenými lektiny značícími povrch cercárií. Během těchto experimentů zjistila, že lektiny stimulují sekreci penetračních žláz a některé z nich dokonce odvrhování glykokalyxu, i bez použití známého specifického přirozeného stimulantu sekrece, kyseliny linolové. Zřejmě ne náhodou jsou to právě lektiny, které se silně vážou na povrch těla cercárií. To považuji za nejzajímavější výsledek celé studie, který ovlivnil náš pohled na proces transformace cercárií na schistosomula. Je totiž možné, že do tohoto procesu jsou zapojené molekuly hostitele s lektinovou aktivitou, např. mannose-binding protein, který je součástí komplementového systému obratlovců. To podporuje další publikované výsledky, naznačující, že vývoj schistosom je silně stimulován a regulován signály z hostitele. Kromě toho se Janě podařilo detekovat sacharidové struktury na povrchu schistosomul, které potvrzují, že interakce lektin-sacharid budou obecně hrát důležité role v interakcích motolic

čeledi schistosomatidae s hostiteli (konkrétně Lewis X antigen, nalezený v předchozích studiích u lidských schistosom). Experimenty se žlázovou peptidázou *T. regenti* a spektrem inhibitorů různých katalytických tříd peptidáz dále ukazují, že mechanismus svlékání glykokalyxu zřejmě není závislý na proteolytické aktivitě žlázových enzymů. Výše popsané výsledky Jana prezentovala na Helmintologických dnech. Širšího ohlasu odborné veřejnosti doznaly na jarní konferenci British Society for Parasitology v roce 2011, věnované z velké části biologii schistosom.

Diplomová práce je klasicky členěná a jazykově slušně zpracovaná. Musím pochválit Janu za samostatnost při práci, které se během studia patřičně věnovala jak „manuálně“, tak myšlenkově („jen víc takových studentů!“). Závažnější problémy nenastaly ani při vyhodnocování, interpretaci a diskusi výsledků při sepisování práce.

Studentka si osvojila v průběhu studia potřebné metody parazitologické (udržování životního cyklu trichobilharzií v laboratoři, sběr materiálu na experimenty - cercárií z laboratorních plžů a schistosomul z nervové tkáně kachen, E/S produktů pro charakterizaci proteomu penetračních žláz), metody „lektinářské“ a mikroskopické, které je nyní schopna rutinně používat.

Závěrem shrnuji, že práce přinesla velmi zajímavé a nové poznatky týkající se možného mechanismu odvrhování glykokalyxu schistosomami. Nastolila tím řadu dalších otázek, jimž se Jana bude, k mé radosti, věnovat dále během svého postgraduálního studia.

Podrobné kritické zhodnocení práce ponechávám oponentovi. Z pozice školitele považuji předloženou magisterskou diplomovou práci Jany Chaloupeck za velmi kvalitní, vyhovující požadovaným kritériím, a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 18. září 2012

Libor Mikeš