

## Posudek na disertační práci

Tetyany Kobets, Msc.

### „Methods for *Leishmania* parasite detection and quantification as a tool for study of the pathogen-vector-host interactions“

Tématem disertační práce je imunogenetika leishmaniózu a práce tak zapadá do dlouhodobé strategie laboratoře Dr. Marie Lipoldové. Díky svému metodickému zaměření je však práce zajímavá i pro pracovníky, kteří se zabývají i jinými patogeny, a to i po stránce diagnostické.

Disertace je koncipována jako soubor čtyř publikací doplněných o průběžný text vlastní práce. Hned na počátku je třeba zdůraznit, že tato kombinace se autorce skutečně podařila – propojení publikací a textu je nenásilné, nedochází ke zbytečnému opakování informací a disertace působí jakožto celek s promyšlenou strukturou. I čtenář, který se přímo daným oborem nezabývá, je při čtení práce uveden do podstaty věci a může sledovat logickou nit' od úvodu k závěru.

Disertační práce Tetyany Kobets je psána anglicky. Má celkem 171 stran a je klasicky členěná - sestává z úvodu a literárního přehledu (36 stránek), cílů práce (1 stránka), kapitoly Materiál a metodika (12 stránek) výsledků (69 stran), diskuse (10 stran), závěrů (2 strany) a citované literatury (220 položek!). Nechybí ani seznam zkratk a český i anglický souhrn.

**Literární přehled** je obsáhlé, nicméně tématicky velice dobře cílené review, které seznámí čtenáře srozumitelnou formou se základními informacemi o leishmaniázích, metodách imunogenetických studií na myších modelech a o různých metodách detekce leishmanií, především kvantitativních. Autorka prokázala důkladnou znalost studované problematiky, což mimo jiné dokládá i přehled DNA testů k detekci a kvantifikaci leishmanií (Tab.1) jakož i úctyhodný přehled diagnostických metod ve čtyřstránkové tabulce 2.

**Cíle práce** jsou jasně formulované; všechny cíle se disertantce podařilo naplnit.

V kapitole **Materiál a metody** jsou stručně popsány všechny metodiky použité při provedení práce, je vysvětlena jejich podstata, přednosti i nevýhody.

Kapitola **Výsledky**, klíčová část celé disertace, sestává ze čtyř autorčiných publikací. U dvou z nich je disertantka první autorkou, u zbývajících je uvedena na druhém a čtvrtém místě. Na přípravě všech publikací se Tetyana Kobets podílela podstatným dílem. Publikace přináší zcela nové důležité poznatky o genetické regulaci imunitní odpovědi proti leishmaniím i velice podstatná metodická sdělení jako je například důkladný popis nově vyvinuté metody kvantifikace leishmanií v tkáních hostitele. Tři práce již byly publikovány v prestižních mezinárodních časopisech, čtvrtá je předložena v rukopise. Fakt, že práce úspěšně prošly (nebo právě procházejí) náročným recenzním řízením, dokládá jejich vysokou úroveň. Pro zachování kontinuity textu a pro zjednodušení orientace je každá publikace uvedena nedlouhým textem, který shrnuje nejdůležitější body práce.

V kapitole **Diskuse** autorka shrnuje analyzuje výsledky všech publikací, konfrontuje je literárními údaji a zamýšlí se nad nimi.

**Závěry** shrnují přehledným způsobem hlavní získané poznatky.

Disertace Tetyany Kobets je napsána logicky a srozumitelně, text je zajímavý a je potěšením jej číst. Úroveň angličtiny si netroufám kvalifikovaně hodnotit, připadala mi velmi dobrá. Přes všechnu snahu se mi (kromě chyby v rodovém jméně křečka zlatého na str. 104) nepodařilo najít žádný další překlep.

Disertantce bych si dovolil položit tyto **otázky**:

1. Zaujala mne Vaše PCR ELISA. Domníváte se, že by se dala použít i v rutinní diagnostice některých dalších lidských patogenů ?
2. Korelují (semi)kvantitativní výsledky PCR ELISA s výsledky „limiting /limited titration assay“? (pro metodu se v textu používají oba názvy – srov. např. str. 29 a 106).
3. Proč nebyla PCR ELISA použita i ke kvantifikaci *Leishmania tropica* ve Vaší nejnovější studii ?
4. Myši použité ve studii s *Leishmania tropica* byly infikovány ve věku 8-47 týdnů (viz str. 51). Nemůže mít tak velké věkové rozpětí vliv na výsledky experimentů ?
5. Proč je, na rozdíl od ostatních publikací, k rukopisu o *Leishmania tropica* připojeno „Author Summary“ ?
6. Lze logicky předpokládat, že čím více parazitů invaduje orgány hostitele, tím závažnější budou histopatologické změny. Dle Vašich výsledků tato úměra neplatí. Jak si to vysvětlujete ?
7. *Leishmania tropica* i *Leishmania major* jsou vcelku blízce příbuzní původci kožní leishmaniózy. V čem jsou dle Vašeho názoru tyto druhy natolik rozdílné, že imunitní odpověď vůči každému z nich je řízena odlišným způsobem ?
8. Jaký je další osud Vašeho rukopisu o *Leishmania tropica* ?

**Závěr: Předloženou práci považuji za velice kvalitní. Tetyana Kobets prokázala, že je schopna pracovat s odbornou literaturou, vyvíjet a provádět komplikované laboratorní testy, vyhodnocovat jejich výsledky a sepsat studie publikovatelné v impaktovaných časopisech. Práce přinesla mnoho cenných poznatků a splnila tak sledované cíle. Proto doporučuji, aby práce „Methods for *Leishmania* parasite detection and quantification as a tool for study of the pathogen-vector-host interactions“ byla přijata k obhajobě jako práce disertační a aby byla hodnocena kladně.**

V Praze, dne 15. srpna 2011

RNDr. Petr Kodym, CSc