



Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
Katedra parazitologie

Viničná 7, 128 44 Praha 2

Tel: 221951820; Fax: 224919704; E-mail: parazit@natur.cuni.cz
<http://www.natur.cuni.cz/parasitology/>

Oponentský posudek na dizertační práci RNDr. Marcely Šilerové
„Antimicrobial Factors in Earthworms“

Předložená práce má strukturu preferovanou v současné době - jde o soubor šesti publikací doplněných obecným úvodem (přehledem problematiky) a komentářem (zdůrazněním hlavních výsledků, diskuzí, závěrem). Úvod do problematiky je sepsán čtivě a přehledně, a usnadňuje pochopení významu připojených publikací. Pokud mohu posoudit, je použita srozumitelná, stručná a přitom elegantní angličtina.

Autorka navazuje na mezinárodně vysoce uznávaný výzkum Dr. Martina Bileje a jeho týmu, a i proto připouští, že pracovala především s již objevenými látkami/faktory, jejichž bližší charakterizace (mechanismy účinku, exprese) je však nezbytná pro pochopení reakcí v rámci vnitřního obranného systému bezobratlých. Nejen z pohledu imunologa, ale také z pohledu parazitologa jde o nesmírně zajímavá témata, neboť řada lidských infekčních onemocnění (včetně parazitárních) se přenáší bezobratlými vektory. Žížaly jsou bezesporu (vedle dalších bezobratlých – např. plžů, klíšťat či dvoukřídlého hmyzu) vhodnými modely studia vnitřního obranného systému.

Dle mého názoru není nutné detailně analyzovat výsledky uvedené v publikacích – jde o publikace v impaktovaných zahraničních časopisech (IF v rozmezí asi 1,7 – 4,0), a proto vše již bylo jednou hodnoceno přísnými oponenty v rámci recenzního řízení. Položím proto raději několik otázek, které mají blízko i k parazitologii:

- Při představení antimikrobiálních peptidů bezobratlých (str. 10-11) byli zmíněni především členovci a volně žijící kroužkovci. Nicméně i u parazitů (např. pijavek či endoparazitických hlístic) byly nalezeny takové peptidy. Existují vůbec nějaké zásadní odlišnosti (pokud to lze v tuto chvíli porovnat) ve spektru či účinku antimikrobiálních peptidů u volně žijících a parazitických bezobratlých?
- V pokusech pro první přiloženou publikaci (viz i úvod na str. 24-25) bylo zjištěno, že produkce (exprese) liseninu i celková hemolytická aktivita coelomové tekutiny jsou odlišné u různých jedinců *Eisenia fetida andrei*. Nenašel jsem však žádné úvahy o příčinách těchto odlišností. Jedná se o vnitrodruhovou variabilitu, odlišnou předchozí stimulaci (faktory vnějšího prostředí, bakteriálními nebo jinými infekcemi) či ještě něco dalšího?
- Některé látky identifikované v bezobratlých (a produkováné již třeba jako rekombinantní proteiny) mohou nacházet uplatnění v medicíně – jmenovat je možno hirudin z pijavek, další antikoagulační faktor z měchovců (hlístic), atd. U žížal je nesporně velmi zajímavá funkční analogie CCF a TNF, a z hlediska parazitologie trypanolytická aktivita coelomové tekutiny, resp. CCF (možná by CCF měl negativní vliv i na další eukaryotické patogeny exprimující N,N'-

diacetylchitobiosu). Lze tedy (alespoň hypoteticky) již uvažovat o nějakém budoucím (medicínském?) využití látek identifikovaných v žížalách?

- Existují již nějaké práce, které by popisovaly z imunologického hlediska reakce proti eukaryotickým organismům (patogenům) v žížalách? Lze připomenout, že žížaly jsou např. mezihostiteli larev některých ptačích tasemnic, hostiteli gregarin rodu *Monocystis* či transportními hostiteli vajíček a larev škrkavek s histomonádami.

Po stránce formální nemám k předložené práci žádné závažné připomínky; nalezené nedostatky jsou zanedbatelné (např. odkaz na obrázek s dorzálním pórem, který však není zakreslen či vyznačen - str. 5, či záměna termínů autonomie vs. autotomie - str. 7), a nemohou proto ovlivnit celkově pozitivní dojem z předložené práce.

Lze konstatovat, že předložená dizertační práce představuje velmi povedené dílo, dokládající široký rozhled autorky v oblasti imunologie bezobratlých, zejména kroužkocvů. Obdivuhodný je nejen výčet zkoumaných látek/faktorů (např. CCF, fetidin, lysenin, kalretikulin, složky profenoloxidázové kaskády), ale i spektrum použitých metod, zahrnujících sledování genové exprese, detekci, izolaci, charakterizaci či lokalizaci vybraných peptidů/proteinů, přípravu rekombinantních proteinů, případně i fylogenetické analýzy (podobnost aminokyselinových sekvencí kalretikulinů a CCF/CCF-like). Pochopitelně, že realizace takových analýz je záležitostí celých výzkumných týmů (naprosto nezbytná věc v moderní vědě), jak ostatně naznačuje počet spoluautorů publikací; autorka dizertace je první autorkou u dvou ze šesti předložených publikací.

Jsem přesvědčen, že M. Šilerová prokázala dostatečným způsobem, že je kvalitní vědeckou pracovníci se schopností pracovat v týmu, reflektovat ve své práci nejnovější mezinárodní trendy oboru a prezentovat výsledky v renomovaných vědeckých médiích. Jednoznačně doporučuji obhájení práce a udělení titulu PhD.

V Praze 4. září 2007

prof. Petr Horák