



BIOLOGICKÉ CENTRUM Akademie věd České republiky, v.v.i.

Parazitologický ústav

Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika
Telefon 38-777 5403; Fax 00420-38-53 10 388

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Jitky Hostomské

Anglicky psaná práce Mgr. Jitky Hostomské „Antigenic and enzymatic properties of sand fly saliva“ se zabývá otázkami významu proteinových složek slin flebotomů. Zvolené téma plně zapadá do dlouhodobě řešené problematiky „domovské“ laboratoře a zaměřuje se na výzkum komponent slin vektora v souvislosti s aktuálním studiem slinami aktivovaného přenosu patogenů.

Spis je koncipován jako soubor čtyř rukopisů, který je doplněn úvodním literárním přehledem, kapitolou popisující cíle práce, závěrečným souhrnem a seznamem použité literatury.

V úvodu autorka stručně ale výstižně shrnuje dostupné poznatky týkající se studovaného tématu. Jednotlivé podkapitoly čtenáře seznamují s flebotomy co by přenašeči leishmaniózy, s imunitní odpovědí hostitele na leishmaniózu, s významem složek slin přenašečů a s imunitní odpovědí, která se vytváří jako reakce na sání vektora.

Stěžejní částí předkládané disertace jsou tři rukopisy publikované nebo přijaté k publikaci v recenzovaných časopisech a jeden manuskript, na jejichž vzniku se autorka podílela. V této části čtenář nalézá konkrétní dosažené výsledky řešeného tématu.

Předně, podařilo se prokázat, že hyaluronidáza obsažená ve slinách vektora *Phlebotomus papatasi* napomáhá zvětšování kožní léze působené druhem *Leishmania major* a tímto způsobem pravděpodobně pozitivně ovlivňuje šíření patogena v hostiteli.

Neméně důležitou částí disertace bylo vyhodnocení kinetiky tvorby protilátek proti slinám flebotomů u hostitele exponovaného sání vektora. Výsledky této studie se mohou stát podkladem pro případné vyhodnocování rizika leishmaniózy v ohrožených oblastech.

Závěrečnou část výsledků tvoří manuskript popisující analýzu transkribovaných genů ze slinných žláz *Phlebotomus arabisicus*. S využitím molekulárně biologických metod se autorce podařilo popsat značné množství transkribovaných skupin genů, které pravděpodobně umožňují sání vektora na hostiteli a zároveň pozitivně ovlivňují přenos patogenů.

Disertační práce je uzavřena oddílem souhrn a závěry, ve kterém autorka velice stručně, takřikajíc formou abstraktů, shrnuje dosažené výsledky jednotlivých rukopisů.

V rámci spisu postrádám kapitolu diskuse. I přesto, že je možné zařadit všechny rukopisy v práci obsažené pod jedno širší téma: „patogen - vektor - hostitel“, působí na mě práce do jisté míry neuceleně. Domnívám se, že právě oddíl, ve kterém by se autorka pokusila propojit uvedené rukopisy, popřípadě konfrontovat data v pracích obsažená i nad rámec diskusí nacházejících se v jednotlivých člancích, by měl pozitivní vliv na konečné dílo. Svě místo by zde jistě našly i nepublikované výsledky a vlastní názory autorky týkající se této problematiky, popřípadě nastínění dalšího směřování vývoje tohoto odvětví výzkumu.

Pozitivně hodnotím metodické přístupy zvolené k testování hypotéz, kterými byla zjištěna řada prioritních výsledků. Pozoruhodný je i rozsah parazitologických,

imunologických a molekulárních metod, se kterými se autorka v průběhu řešení projektů seznámila.

K práci mám následující dotazy a připomínky:

1) V publikaci popisující vliv hyaluronidázy na leishmaniovou infekci autoři mimo jiné prokázali, že hyaluronidázovou aktivitu má i extrakt ze slinných žláz komára rodu *Culex*. V případě testování stejné aktivity v extraktu slinných žláz komárů rodu *Aedes* a *Anopheles* již prokázána nebyla (Obr. 1). Jak si autorka vysvětluje tuto odlišnost v rámci jedné skupiny solenofágních členovců?

2) V práci o kinetice tvorby protilátek u psů proti slinám *Lutzomyia longipalpis* autorka porovnává produkci protilátek u psů „více“ a „méně“ exponovaných flebotomům (Tab. 1). Nižší expozice byla zajištěna aplikací repelentu. Zajímalo by mě jaký repelentu byl použit, jaká byla jeho účinná složka a jak byl aplikován. Tyto údaje jsem v článku nenalezl. Z uvedené tabulky vyplývá, že aplikace repelentu měla větší účinnost u skupiny 4 než u skupiny 2 (alespoň v prvních třech týdnech). Čím to mohlo být způsobeno?

3) V posledním uvedeném manuskriptu autorka také charakterizuje antigeny slinných žláz *Phlebotomus arabicus* (Obr 1.). Elektroforeticky rozdělené antigeny slinných žláz přenesené na nitrocelulóзовou membránu nechává inkubovat se séry naivních nebo imunizovaných myší a následně prokazuje, proti kterým antigenům se vytvořily protilátky. Jak si autorka vysvětluje, že i v případě aplikace naivního séra je možné na nitrocelulóзовé membráně nalézt reakce s „nízkou specifitou“, ale v případě inkubace stejné membrány se sérem myši „imunizované slinami“ *Phlebothomus papatasi* je membrána zcela bez reakce? Byly použity inbrední myši?

4) V souvislosti se zmíněnou absencí souhrnné diskuse u této práce bych se autorky rád zeptal na její vlastní názor ohledně potenciálního využití antigenů slin flebotomů pro přípravu vakcín blokujících přenos leishmanií. Domnívá se autorka, že bude taková vakcína, určená pro humánní nebo alespoň veterinární medicínu, připravena? Pokud ano, bude založena na jednom či více antigenech? Mohla by taková vakcína představovat nějaké riziko i pro toho, koho by měla chránit?

Závěrem posudku konstatuji, že předložená práce dle mého názoru splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci. Kvality předložené práce byly mimo jiné prokázány přijetím jednotlivých studií do recenzovaných vědeckých časopisů.

Doktorskou disertační práci Mgr. Jitky Hostomské doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 27. 8. 2008

RNDr. Jiří Salát, Ph.D.