

<sup>1</sup>Fakulta zdravotníctva a soc. práce TU Trnava Univerzitné nám. 1., 918 43 Trnava,

<sup>2</sup>Medirex, a.s. Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava.

## **Oponentský posudok** na dizertačnú prácu

RNDr. Evy Bínovej

Encystace a životní cyklus volně žijících améb rodu *Acanthamoeba* spp.

Encystation and life cycle of free living amoebae of the genus *Acanthamoeba* spp.

RNDr. Eva Bínová sa v dizertačnej práci zaoberá voľne žijúcimi meňavkami *Acanthamoeba* spp. ktoré spôsobujú u človeka závažné ochorenie oka a centrálnej nervovej sústavy. Ako autorka konštatuje vo svojej práci, terapia ochorenia človeka spôsobených akantamébami je často neúspešná, čoho príčinou je tvorba odolných cýst a pseudocýst, ktoré ostávajú v postihnutých tkanivách. Aké aspekty vplývajú na odolnosť cýst a pseudocýst ako aj determináciou odlišností oboch štádií a ich tvorbou je predmetom štúdie dr. Bínovej a preto tému považujem za vysoko aktuálnu a významnú. Práca je napísaná na 59 stranách, ktoré v závere dopĺňa tromi publikovanými prácami in extenso v zahraničných impaktovaných časopisoch. V úvodnej kapitole, ktorá je zároveň literárnym prehľadom, na 18 stranách uvádza čitateľa do problematiky akými mechanizmami sa prvoky chránia a dokážu sa udržať proti stresovým faktorom rôzneho pôvodu. Poukazuje na štruktúru povrchových vrstiev cýst, ktoré podstatným spôsobom zabezpečujú životaschopnosť buniek. Pokračuje prehľadom poznatkov o klasifikácii rodu *Acanthamoeba* spp., životnom cykle, výskyte a ekológii, ochoreniach spôsobených týmto rodom meňaviek a ich problematickej liečbe. Záver úvodnej kapitoly je venovaný poznatkom tvorbe cýst a kompozícii steny cýst, molekulárnej a biochemickej podstate encystácie a prácam pojednávajúcim o rezistencii cýst. Ciele dizertačnej práce autorka uvádza v druhej kapitole s parciálnymi tromi cieľmi, ktoré tvorili merito dizertačnej práce so zameraním na zistenie doposiaľ neznámych faktorov odolnosti cýst a pseudocýst, ďalej zistiť odlišnosti cýst a pseudocýst a aké procesy vplývajú na ich tvorbu. Samostatné

kapitoly pojednávajúce o metódach použitých v práci, taktiež samostatnú kapitolu o výsledkoch a diskusii autorka neuvádza, odkazuje ich na priložené publikácie, ktoré sú prílohou na konci práce. Sú to kvalitné časopisy s impaktom od 2,158 – 3,000, v ktorých je dr. Bínová prvou autorkou. Práce v týchto časopisoch prešli dôkladným recenzným konaním, preto sa k nim bližšie nebudem vyjadrovať. Priloženým publikáciám predchádzajú širšie informácie o obsahu jednotlivých publikácií. Napriek tomu, trocha mi chýba komplexnejšia diskusia k predmetnej problematike, ktorá býva obvyklou súčasťou dizertačných prác.

Výsledky štúdie ku ktorým dospela dr. Bínová sú veľmi cenné. Svedčia o autorkinej schopnosti dlhodobej a koncepcnej vedeckej práce, odbornej rozhl'adenosti a vyspelosti v rozsiahlej problematike voľne žijúcich meňaviek, najmä v štúdiu a objasnení mechanizmov encystácie *Acanthamoeba* spp. z ktorých niektoré majú prioritný význam. Týka sa to dôkazu cukru trehalózy, ktorý zistila vo všetkých vývinových štádiách akantaméb, okrem pseudocýst cýst aj v trofozoitoch, zatiaľ čo manitol, na ktorý sa v štúdiu zamerali nezistili. Ďalej zistila, že trofozoity akantaméb obsahujú bunky v štádiu G1 aj G2, pričom encystujú z fázy G2 bunkového cyklu, zatiaľ čo diferenciácia pseudocýst prebieha z oboch fáz G1 aj G2 bunkového cyklu. Obsah DNA v zreloch cýstach a pseudocýstach ostáva pritom rovnaký. V kapitole 4. autorka uvádza Závěry, ktorými sumarizuje výsledky jej dizertačnej práce. Úctyhodný počet literárnych prameňov – 242 dokumentuje autorkin prehľad a orientáciu v predmetnej problematike.

K práci mám otázky:

1. Aký mechanizmus štartuje tvorbu cýst u akantaméb v tkanivách hostiteľa? Sú trofozoity vystavené v prostredí oka alebo CNS takým stresovým faktorom, že sa bránia tvorbou pseudocýst a cýst?
2. Je známe a v úvodnom prehľade literatúry aj píšete o endosymbiontoch akantaméb: Oplyvňujú tieto symbionty encystáciu alebo tvorbu pseudocýst?

3. Vaše výsledky nepotvrdili v žiadnej fáze akantaméb prítomnosť manitolu, pre ktorý zistili génové sekvencie Watkins a Gray (2008). Nie je možné vysvetliť túto diskrepanciu okrem Vášho uvedeného dôvodu, aj rozdielmi medzi skúmanými izolátmi?

4. V práci uvádzate, že štádiá podobné pseudocystám boli zistené aj u morských amfizoických améb *Neoparamoeba perurans*, pôvodcov ochorenia žiabier rýb. Zaujímalo by ma, čo je známe o indukcii ich vzniku a ako sa tieto pseudocysty líšia od pseudocýst akantaméb?

5. U akantaméb bol experimentálne dokázaný vznik pseudocýst aj po aplikácii viacerých potenciálnych terapeutík najmä na báze alkylfosfocholínov (napr. Garajová et al. 2014) alebo fosfóniových solí (Dušeková et al. 2021). Aký je Váš názor na možnú úlohu pseudocýst v infikovaných tkanivách pri perzistujúcich infekciách?

Predloženú dizertačnú prácu považujem za hodnotné vedecké dielo, je svojou kvalitou prínosom pre praktické využitie i pre ďalší rozvoj výskumu v problematike voľne žijúcich améb. Svedčí o autorkinej vysokej odbornej erudícii a jej schopnosti samostatne vedecky tvorivo pokračovať, preto odporúčam aby po úspešnej obhajobe bol RNDr. Eve Bínovej priznaný titul „PhD“.

V Bratislave, 29.3. 2021

prof. RNDr. František Ondriska, PhD.  
oponent

