

Oponentský posudek disertační práce

Mgr. Kateřiny Skulinové

Dominantní proteinové antigeny *Toxocara canis*

Disertační práce Kateřiny Skulinové je zaměřena zejména na problematiku sérodiagnostiky larvální toxokarózy a hledání vhodných diagnostických markerů pro toto infekční onemocnění. Larvální toxokaróza je zoonóza, která je rozšířena celosvětově. U člověka může nákaza probíhat zcela asymptomaticky, ovšem migrující larvy mohou způsobit poškození různých tkání. Zejména infekce CNS může vést k závažným následkům. Z tohoto důvodu je monitorování výskytu larvální toxokarózy velmi přínosné a téma práce je značně aktuální.

Kateřina Skulinová vypracovala svou disertační práci na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy pod vedením RNDr. Martina Kašného, Ph.D. a konzultantkou jí byla prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc. V této spolupráci vznikly 3 vědecké články publikované v impaktovaných časopisech. U dvou z nich je Kateřina Skulinová prvním autorem. Výsledky své práce autorka prezentovala také na několika českých a jedné zahraniční konferenci. Předložená disertační práce je psaná pečlivě a srozumitelně jen s malým množstvím překlepů a chyb. V literárním přehledu autorka shrnula současné poznatky o problematice larvální toxokarózy a nastínila úskalí laboratorní diagnostiky tohoto infekčního onemocnění. Dále se zaměřila na funkční molekuly exkrečně-sekrecčních produktů larev *T. canis*, u kterých je známa, nebo se předpokládá, interakce s imunitním systémem hostitele a tyto molekuly by mohly sloužit jako diagnostické markery. Literární přehled je zpracován na 31 stranách, je přehledně členěn a vhodně doplněn obrázky a schémata. Následují jasně definované cíle práce, metodika k jednotlivým publikacím a výsledky a diskuze k těmto publikacím. Práce je doplněna dostatečným počtem literárních odkazů na celkem devatenácti stranách.

K formální stránce práce mám dvě drobné poznámky. Přehlednější by bylo uvést metodické postupy přímo u jednotlivých publikací, a ne je popisovat v samostatné kapitole. Dále by bylo vhodné v úvodu k jednotlivým publikacím napsat, co bylo cílem konkrétní studie.

Cílem předložené práce bylo vypracovat rešerši týkající se problematiky sérodiagnostiky larvální toxokarózy a za použití sekrečně-exkrečních produktů *T. canis* otestovat protilátkovou odpověď infikovaných hostitelů. Dále autorka chtěla rozšířit současné poznatky týkající se proteinového složení exkrečně-sekrecčních produktů larev *T. canis*, identifikovat dominantní proteinové antigeny. Připravit jejich rekombinantní formy a ty otestovat jako možné diagnostické markery. S využitím vhodných metod a postupů Kateřina tyto své cíle splnila a získala řadu hodnotných výsledků. Nad rámec těchto cílů se zapojila do studia vlivu infekce *T. canis* na průběh experimentální autoimunitní

encefalomyelitidy (EAE) u myší. Tato studie přinesla zajímavé výsledky, které jsou alarmující a jistě přispějí k dalšímu výzkumu problematiky možných důsledků infekce *T. canis* u pacientů s roztroušenou sklerózou.

Autorce bych ráda položila několik doplňujících otázek:

- 1) Čím si vysvětlujete, že u starších psů dochází stejně jako u paratenického hostitele k tzv. somatické migraci larev?
- 2) V první publikaci „Séroprevalence larvální toxokarózy v České republice“ uvádíte, že TES produkty byly sbírány počínaje dnem extrakce larev do média denně po dobu 14 dnů a dále jednou týdně po dobu několika měsíců. Není však dále uvedeno, které vzorky TES produktů byly použity jako antigen v ELISA reakci a na western blotu. V publikaci č. 2 pak jednotlivé sběry rozlišujete a analyzujete proteinové složení TES produktů vyloučených v průběhu 14 dnů po extrakci larev do média. V průběhu času se toto složení lišilo. Jaký je tedy běžný postup v laboratoři při sérodiagnostice? Používá se směsný vzorek z těchto sběrů? Liší se proteinové složení i v pozdějších časových intervalech, po měsíci a déle?
- 3) Doba rýhování vajíčka *T. canis* je závislá na teplotě a vlhkosti. Jak nízkou teplotu je ještě vajíčko schopno přežít? Může přežít i současné teplé zimy v České republice? Mohlo by tedy oteplování mít vliv na růst séroprevalence u nás, např. vlivem kumulace infekčních vajíček v prostředí?
- 4) Na str. 79, obr. 18, je porovnání TES produktů ze sběrů během 14 dnů a jejich vazby s protilátkami z myších sér. Testovala jste na těchto imunoblotech i reakci se séry infikovaných pacientů? Možná by se objevily i jiné antigeny, které reagují specificky s lidskými séry.
- 5) V závěru u publikace č. 2 píšete, že použití rekombinantních antigenů by mělo výrazně redukovat případnou zkříženou reaktivitu s ostatními parazitárními infekcemi. Testovala jste tedy i zkřížené reakce s jinými helmintárními infekcemi?
- 6) Poznámka: Studium dominantních antigenů z TES produktů by obohatilo, kdyby rekombinantní proteiny byly využity na vytvoření protilátek a otestovala by se lokalizace těchto antigenů v larvách *T. canis*. Uvažovala jste o tom? Případně budete ještě tyto proteiny v larvách imunolokalizovat?
- 7) K publikaci č. 3: Bylo u myší z jednotlivých skupin provedeno i histopatologické vyšetření? Zajímalo by mě, jak se lišilo množství larev migrujících do nervové soustavy myší bez indukce a s indukci EAE. Docházelo u myší s indukovanou EAE a současně infikovaných *T. canis* k paralýzám končetin? Mohly být tyto paralýzy i důsledkem poškození CNS migrujícími larvami? Jsou v literatuře popsány paralýzy končetin u myší infikovaných *T. canis*?

Závěr:

Předložená disertační práce Kateřiny Skulinové přináší řadu zajímavých výsledků publikovaných v impaktovaných časopisech, čímž autorka prokázala předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a schopnost zpracovat a publikovat výsledky svého výzkumu. Doporučuji, aby disertace byla přijata jako podklad k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Praze dne 25.5.2023

RNDr. Lucie Panská, Ph.D.