



Dátum: 8.9.2024

Prof. Ing. Vladimír Wsóla, PhD.

Č.j.:
Vybavuje:

Oponentský posudok na dizertačnú prácu Mgr. Karolíny Štěrbovej: „VYUŽITÍ TRANSKRIPTOMICKÉ ANALÝZY PRO STUDIUM LÉKOVÉ REZISTENCE HLÍSTIC“

Predložená dizertačná práca na tému „VYUŽITÍ TRANSKRIPTOMICKÉ ANALÝZY PRO STUDIUM LÉKOVÉ REZISTENCE HLÍSTIC“ pozostáva z textovej časti na 57 stranách. Práca obsahuje 9 kapitol rozdelených do obsahu, teoretického úvodu do problematiky, ktorý pozostáva z informácií týkajúcich sa zvolenej problematiky. Ďalej nasledujú stanovené ciele, výsledky a diskusia, závery a zoznam opublikovaných prác s uvedením autorského podielu dizertantky. V samostatnej kapitole sú uvedené ostatné výstupy Mgr. Štěrbovej ako sú participácia na vedeckých podujatiach, projektoch, kurzoch a stážach ako aj jej pedagogické skúsenosti. Práca je ukončená zoznamom použitej literatúry ktorý obsahuje 127 citovaných prác. Dizertačná práca má po formálnej stránke všetky požadované náležitosti a predpísané členenie. Práca je písaná vedeckým štýlom na kvalitnej odbornej úrovni.

1. Význam zvolenej problematiky

Aktuálnosť zvolenej témy potvrdzuje aj skutočnosť, že gastro-intestinálne nematódy sú významnou skupinou parazitov z ktorých viaceré spôsobujú závažné, v niektorých prípadoch až život ohrozujúce infekcie u domácich zvierat. Keďže parazitárne ochorenia tvoria závažnú skupinu ochorení treba s nimi počítať a vypracovať účinný systém antiparazitárnej prevencie a efektívnej terapie s akcentom na možný vznik rezistencie na antihelmintiká. Uvedené svedčí o tom, že zvolená téma je nielen aktuálna ale aj naliehavo potrebná pre chovateľskú a veterinárnu komunitu.

2. Splnenie sledovaných cieľov

Hlavným cieľom tejto práce bolo rozšíriť poznatky o mechanizme liekovej rezistencie u parazitického helminta *H. contortus*. Mgr. Štěrbová sa zamerala na analýzu konštitatívnej expresie vybraných enzýmov metabolizujúcich xenobiotiká počas životného cyklu parazita a porovnávala zmeny expresie medzi jednotlivými kmeňmi *H. contortus* s rôznymi úrovňami rezistencie. Za dôležité z hľadiska problematiky považujem aj formuláciu šiestich dielčích cieľov dizertačnej práce. Pri konfrontácii stanovených cieľov práce s dosiahnutými výsledkami je možné jednoznačne konštatovať, že stanovené ciele boli splnené v plnom rozsahu a na solídnej úrovni.

Teoretická časť práce je spracovaná na 18 stranách. Táto časť práce poskytuje základné informácie o systematickom zaradení nematóda *H. contortus*, ktorý parazituje v sleze malých prežúvavcov, o jeho morfológii a životnom cykle. V ďalších podkapitolách

autorka uvádza všeobecné informácie o liečbe, vývine rezistencie na antihelmintiká, biotransformácii xenobiotík a biotrasformácii antihelmintík u nematódov.

3. Zvolené metódy spracovania

Možno jednoznačne povedať, že v 6 publikáciách (jedna v recenznom konaní), ktorých výsledky sú súčasťou dizertačnej práce boli použité tradičné ako i najmodernejšie pracovné postupy akceptované v tejto oblasti výskumu. Vzhľadom k tomu, že v každej z publikácií sú uvedené metodické postupy a celé publikácie prešli predpokladám kvalitným medzinárodným recenzným konaním môžem len konštatovať, že zvolené metódy spracovania sú vhodné k získaniu výsledkov a poznatkov, ktoré dovoľujú formulovať hodnotné a využiteľné závery.

4. Výsledky dizertačnej práce, získanie nových vedeckých poznatkov

Táto práca poskytla nové informácie o vybraných enzýmoch metabolizujúcich xenobiotiká a rozšírila poznatky o mechanizme liekovej rezistencie u rôznych životných štádií parazitického helminta *H. contortus*.

Kapitola č. 4 „Výsledky“ je rozdelená do jednotlivých podkapitol z ktorých každá uvádza výsledky a diskusiu k jednotlivým publikáciám. V prvej publikácii (Kapitola 4.1) autorka uvádza, že kontakt dospelých jedincov *H. contortus* so subletálnymi dávkami albendazolu viedol k indukcii hlavne UGT a v menšej miere CYP a Pgp. Táto indukcia zlepšila schopnosť deaktivácie antihelmintika pri následnej expozícii prostredníctvom zvýšenej produkcie neaktívnych metabolitov a ich exportu z tela parazita. Analýza konštitutívnej expresie génov UDP-glykozylntransferáz (UGT) počas životného cyklu parazita poukázala na vyššie úrovne expresie u juvenilných štádií v porovnaní s dospelými jedincami (Kapitola 4.2). V genóme parazita *H. contortus* (Kapitola 4.3) bolo identifikovaných 46 členov dehydrogenáz/reduktáz s krátkym reťazcom (SDR) a 22 členov aldo-keto reduktáz (AKR). Väčšina SDR vykazovala najvyššiu úroveň expresie vo voľne žijúcich larvách (L1-L3), čo by mohlo naznačovať dôležitú funkciu týchto enzýmov v obrannej reakcii proti potenciálne škodlivým xenobiotikám prítomným v prostredí. Výsledky štúdie redukcie účinku flubendazolu (FLU) počas životného cyklu *H. contortus* potvrdzujú schopnosť voľne žijúcich štádií deaktivovať FLU prostredníctvom redukcie karbonylovej skupiny (Kapitola 4.4). Overenie účasti AKR v metabolizme anthelmintík poukázalo na gény *akr9*, *akr15* a *akr19*, ktoré boli indukované po kontakte so subletálnymi dávkami látky flubendazol (Kapitola 4.5). Výsledky štúdie vnútrogeneračnej a medzigeneračnej stability zmien v expresii génov UGT a Pgp dokazujú, že vystavenie voľne žijúcich štádií *H. contortus* počas ich vývoja subletálnym dávkam ABZ z prostredia vyvoláva zmeny v expresii génov *ugt* a *pgp*, pričom niektoré tieto zmeny sú stabilné počas životného cyklu helmintov a prenášajú sa do ďalšej generácie (Kapitola 4.6).

Je však obtiažné hodnotiť a vyjadriť sa k výsledkom publikácií, ktoré prešli náročným recenzným konaním v špičkových medzinárodných časopisoch v danej oblasti. Podrobný pohľad na jednotlivé publikácie a na tituly časopisov, v ktorých boli výsledky publikované, potvrdzujú jasnú koncepciu výskumnej práce, vzostupnú kvalitu vedeckej práce a súčasné zameranie práce Mgr. Štěrbovej a jej spolupracovníkov.

5. Význam práce pre praktický/teoretický rozvoj odboru

Pri hodnotení dosiahnutých výsledkov za veľmi cenné považujem, že autorka berie do úvahy fakt, že chemoterapeutická liečba gastro-intestinálnych nematódov je cestou na konci ktorej chovateľov a farmárov môže čakať aj totálne zlyhanie tohto prístupu, ako sa to už stalo vo väčšine krajín s rozvinutým chovom hospodárskych zvierat (vrátane Českej republiky a Slovenska). Oceniť je potrebné autorkinu snahu o rozšírenie poznatkov týkajúcich sa mechanizmov rezistencie na antihelmintiká u parazitického nematóda *H. contortus* so zameraním na analýzu konštitutívnej expresie vybraných xenobiotík počas životného cyklu parazita. Tieto výsledky môžu v konečnom dôsledku výrazne napomôcť k objasneniu mechanizmov vzniku rezistencie a k následnej kontrole týchto parazitárnych infekcií.

K posudzovanej odbornej práci nemám zásadné pripomienky, len formálne opravy resp. doplňujúce otázky:

1. Publikácie rozšírili poznatky o mechanizmu rezistencie na antihelmintiká u rozličných vývojových štádií parazita *H. contortus*. Väčšina uvedených prác objasňuje mechanizmus rezistencie u benzimidazolových antihelmintík. Aký má autorka názor na liečbu gastro-intestinálnych parazitov prežúvavcov pomocou tejto skupiny, ktorá sa už v mnohých krajinách nepoužíva (alebo používa minimálne) z dôvodu masívneho výskytu benzimidazol-rezistentných kmeňov nematódov?
2. Myslíte si, že poznatky získané pri riešení dizertačnej práce by mohli v budúcnosti viesť k zvýšeniu účinku benzimidazolových antihelmintík a tým k „reštaurácii“ a zvýšenému používaniu tejto skupiny antihelmintík?

Záver: Záverom posudku konštatujem, že považujem predloženú dizertačnú prácu Mgr. Karolíny Štěrbovej za kvalitný doklad jej vedeckej práce. Posudzovaná dizertačná práca je spis na kvalitnej odbornej úrovni s poznatkami ktoré je možné uplatniť vo veterinárnej praxi i vedeckom výskume. Autorka preukázala teoretické aj praktické vedomosti v riešení zadanej problematiky. Celkove prácu hodnotím ako výbornú, odporúčam ju k obhajobe a po úspešnom obhájení súhlasím s udelením akademického titulu „doktor“.