

Oponentský posudek na dizertační práci Renaty Konopkové

Dizertační práce s názvem "*Mapování optických signálů (Optical Signals of the Brain)*" byla vypracována na oddělení Vývojové epileptologie Fyziologického ústavu AV ČR v.v.i. pod vedením MUDr. Jakuba Otáhala, PhD.

Záměrem práce je v teoretické části nastínit biofyzikální podstatu metody detekce optických signálů a popis optických vlastností nervové tkáně. V experimentální části se autorka zabývá detekcí transmitance na modelu hipokampálních řezů laboratorního potkana během farmakologického ovlivnění jeho činnosti a dále návrhem měřicích a registračních zařízení, jejich aplikací *in vitro* a *in vivo* a identifikací zdrojů šumu a jejich odlišení od změn optických vlastností nervové tkáně.

Po formální stránce je práce členěna na úvod, cíle práce, experimentální části, diskusi, závěr, seznam použitých zkratk a literaturu. V úvodu autorka výstižně popisuje neurofyziologické a biomechanické parametry nervové tkáně jak na buněčné úrovni, tak vlastnosti hipokampu a neokortexu, jako modelových struktur CNS. V dalších kapitolách se zabývá metodami měření nervové aktivity, především srovnáním výhod a nevýhod jednotlivých přístupů. Následují jasně formulované cíle práce. Experimentální části práce nejsou z pohledu čtenáře úplně intuitivně členěny. Nicméně lze je tematicky rozdělit do tří okruhů. Za prvé zdroje šumu a způsoby odlišení od optických signálů. Za druhé postupy přípravy mozkových řízků a měření transmitance světla *in vitro* při rostoucí aktivitě a farmakologickém ovlivnění nervové tkáně. Posledním tematickým okruhem je koncept vývoje klinicky použitelného zařízení a softwaru pro *in vivo* měření optických i elektrofyziologických signálů. Následuje logicky členěná diskuse a závěry. Seznam zkratk je poněkud nelogicky až před použitou literaturou. Celkem bylo citováno 166 původních studií. Výběr i rozsah svědčí o výborném přehledu autorky.

Je třeba vyzdvihnout interdisciplinární charakter práce, který zahrnuje především přístupy a metody neurovědy, biomechaniky, biofyziky a technických oborů.

Na druhou stranu je nutné zmínit i nedostatky textu. Především nezanedbatelné množství překlepů, stylistických neobratností a gramatických chyb. Příkladem může být text na straně 85, kde závěry odporují popisu i nadpisu příslušného grafu. Také používání zkratk, které navíc nejsou často uvedeny v seznamu zkratk, v nadpisech kapitol a podkapitol činí text i pro zkušenějšího čtenáře odborných textů poněkud náročným. Za méně závažné lze považovat absenci chemických názvů některých použitých farmak (např. DL-TBOA). Naopak závažnější formální nedostatek je nejednotné a místy vadné značení os v grafech.

Detekce optických signálů patří mezi nově se rozvíjející zobrazovací metody, které nalézají uplatnění nejen v experimentálním výzkumu. Výsledky předložené práce obsahují řadu nových výsledků a řešení, které svědčí o invenčním přístupu autorky. Především kombinace s elektrofyziologickými technikami nabízí nové možnosti pro studium a monitorování aktivity nervové tkáně.

Výsledkem experimentální práce je především úspěšná identifikace zdrojů šumu. V další části se podařilo prokázat závislost transmitance na intenzitě stimulace v hipokampální formaci *in vitro*. Na tyto výsledky přímo navazovalo *in vitro* testování vlivu farmak. Aplikace TTX, blokátoru Na⁺ kanálů, vedla k výraznému poklesu transmitance. Dále aplikace antagonistů glutamátových receptorů vedla také k poklesu světelné transmitance, byť pouze mírnému. Podobně aplikace DL-TBOA, blokátor transportéru excitačních aminokyselin, vede k vzestupu transmitance. Tyto nálezy potvrzují jednak participaci glutamatergní neurotransmise na změnách transmitance. Ale především do budoucna umožní studovat participaci tohoto neuro-přenašečového systému na fyziologických i patofyziologických procesech. V protikladu s těmito výsledky nedošlo překvapivě k signifikantním změnám po aplikaci furosemidu. V závěrečných partiích experimentální části je popsán návrh a konstrukce vybavení a softwaru pro detekci změn optických signálů *in vivo*.

Po seznámení se s prací by oponent rád znal odpovědi na následující otázky:

- Jedním z cílů práce je mapování epileptogenní aktivity *in vitro*. Z výsledků není úplně zřetelná kvalitativní ani kvantitativní charakteristika optických signálů během této aktivity. Mohla by autorka detailněji popsat svá pozorování?

- Po aplikaci furosemidu nedošlo překvapivě k signifikantním změnám transmitance. O kolik procent byl extracelulární prostor zmenšen při použité koncentraci?

- U furosemidu není uvedena oblast měření. Je stejná jako u ostatních pokusů?

- Jak byla testována funkčnost a spolehlivost navrženého zařízení umožňujícího sledovat *in vivo* optické signály?

- Z jakých oblastí, resp. z jaké hloubky tkáně je schopno navržené zařízení monitorovat optické signály?

Je zřejmé, že autorka prokázala samostatnou tvůrčí činnost, schopnost nastudovat a kriticky zhodnotit odbornou literaturu z různých oborů, plánovat a provádět vědecké experimenty. Získané výsledky úspěšně prezentovala na odborných setkáních a konferencích.

Závěrem konstatuji, že disertační práce Mgr. Renaty Konopkové splňuje nároky dané řádem doktorského studia a především prokazuje jednoznačně, že autorka má všechny předpoklady pro samostatnou tvořivou vědeckou práci a proto práci doporučuji k obhajobě a udělení titulu „Ph.D.“.

V Praze, dne 10.8.2010

RNDr. Karel Valeš, PhD.
oddělení Neurofyziologie paměti
Fyziologický ústav AV ČR v.v.i.
Václavská 1083
Praha 4, 142 20