

Posudek na diplomovou práci Bc. Jiřího Navrátila na téma "Pohlavní přenos *Toxoplasma gondii* ze samců na samice: experimentální ověření na laboratorních zvířatech"

Na čtení posuzované DP jsem se opravdu těšil a byl jsem zvědav, co se dozvím nového v rámci tohoto velmi kontroverzního tématu – tj. zda je či není toxoplasma přenášena pohlavní cestou. Opravdu oceňuji téma zvolené práce i odhodlání autora se tomuto tématu věnovat. Něco nového jsem se skutečně dozvěděl, nicméně na definitivní odpověď na položenou otázku si ještě asi budeme muset počkat, i když se zdá být zřejmé, že z epidemiologického hlediska není případný sexuální přenos toxoplasmy příliš relevantní.

Práce má řadu předností, avšak úkolem oponenta je poukazovat především na její slabiny. Zadání, cíle i náplň DP jsou poměrně jasné a srozumitelné, dosažené výsledky však nejsou až tak přesvědčivé jak by mohly být a následná diskuse by mohla být považována za lehce přeceňující dosažené výsledky. V rámci literárního přehledu není pro čtenáře příliš pochopitelné zařazení některých kapitol, jako je např. diagnostika, terapie či projevy toxoplasmózy u člověka, nebo např. polemika o schizofrenii a o manipulační hypotéze apod. Chápu sice, že se při psaní těchto částí autor seznámil obecněji s problematikou toxoplasmózy, na druhou stranu tyto části s řešenou problematikou příliš nesouvisí (nebo jen velmi okrajově, i když zařazení kapitolky o schizofrenii čtenář částečně pochopí při pročitání diskuse). Ocenil bych spíše detailnější zpracování tématu přenosu, případně i kapitolu věnující se sexuálnímu přenosu u dalších kokcií/parazitů apod. Stručnost textu je na závadu v kapitole věnované sexuálnímu přenosu toxoplasmózy. V této (dle mého názoru stěžejní) kapitole by bylo vhodné uvést trochu více detailů, např. zda v pracích potvrzující výskyt parazita ve spermatu samců se jednalo a akutní či latentní fázi, jaké kmeny toxoplasmy autoři použili atd. Není rovněž příliš jasné, proč byla hledána toxoplasma ve spermatu koček (DH) apod.

Faktické připomínky:

Není zřejmé, proč byly v experimentech použity myši dvou kmenů, resp. proč se používaly samice BALB/c a ne vůči infekci vnímavější C57B1/6.

Je trochu matoucí, že pro (q)PCR byla použita jen jedna skupina samců, a to navíc skupina, s níž se pokus o sexuální přenos nezdařil (kvůli nezájmu samic). Avšak na získané výsledky nemá tato skutečnost žádný vliv.

Není rovněž jasné, co znamená termín "pohlavní aktivita", a zda lze tuto považovat za možnou cestu přenosu parazita ze samců na samice.

Největší problém vidím především v získaném výsledku. Pokud v kombinaci zvoleného kmene toxoplasmy a (velmi vnímavého) kmene myší došlo při infekční dávce 15 cyst / myš k nákaze pouze pěti samců z celkového počtu 14ti nakažovaných jedinců, jaká je asi šance, že dojde k přenosu na (méně vnímavé) samice prostřednictvím spermatu, ve kterém se bude vyskytovat maximálně několik málo jedinců parazita? Řekl bych, že poměrně malá. Bohužel průběh pokusu (málo vnímavý kmen myší a pravděpodobně i málo infekční kmen parazita v kombinaci se značným nezájmem samic o kopulaci) téměř vyloučil možnost, že by k sexuálnímu přenosu mohlo dojít. Navíc vzhledem k mizivému počtu gravidit u samic, je otázkou, zda a jak často vůbec došlo k přenosu spermatu, a tedy i možnosti přenosu parazita. Bohužel ale taková už je biologie, že se systém většinou vůbec nechová dle našich představ.

Zatímco pokusy se sexuálním přenosem zůstávají v rovině spekulací, data získaná pomocí qPCR a analyzující výskyt parazitů v jednotlivých tkání jsou mnohem přesvědčivější. Potvrzují jednak velké individuální rozdíly (mnohem větší, než jaké by člověk předpokládal) a současně jednoznačně potvrzují, že toxoplasma nemá žádnou speciální afinitu k samčí rozmnožovací soustavě (dokonce spíše naopak). Osobně jsem byl překvapen tím, jak málo tkání bylo infikováno (a jak nízké počty parazitů byly detekovány) v akutní fázi (za použití virulentního kmene), stejně tak jsem byl udiven tím, že u dvou jedinců s prokazatelně proběhnuvší klinickou toxoplasmózou (a pozitivními KFR testy) byla qPCR zcela negativní (v rámci všech testovaných tkání). (Na str. 47 autor uvádí, že DNA byla nalezena jen v orgánech tří myší, "přestože infekce prokazatelně proběhla u všech jedinců" – avšak dle uvedených výsledků proběhla jen u pěti ze čtrnácti?!)

V diskusi se objevuje argument srovnávající dlouhodobou znalost (vzácného) kongenitálního přenosu a neznalost přenosu sexuálního – je to pochopitelně věc názoru, ale myslím, že tento argument není (z řady důvodů) relevantní. Naopak v případě polemiky s pátým argumentem by bylo vhodné zmínit spíše pokles dalších (jiných) rizikových faktorů. Osobně musím říci, že přesvědčivěji než argumenty prof. Flegra, působí poznatky z roku 2015 uvádějící zvýšenou séropozitivitu u otců a kongenitálně infikovaných dětí a myslím, že by bylo vhodné se touto studií zabývat podrobněji.

Za jistou slabinu práce považuji absenci diskuse týkající se prací prokazující sexuální přenos toxoplasmy na zvířecích modelech (případně srovnání sexuálního přenosu u jiných parazitů).

Formální chyby: v práci se vyskytuje řada formálních chyb (možno nahlédnout do výtisku oponenta) včetně citací (např. hned první citace školitele není uvedena v seznamu literatury; v seznamu literatury se autor dopustil téměř všech myslitelných chyb atd.), kurzívy, desetinných čárek, popis nad vs. pod obrázkem, p vs. P atd. Některé formulace jsou nepřesné či zavádějící, kvalita některých převzatých obrázků je dost špatná. Některé údaje nejsou vysvětleny (Obr. 5. 20/400). Občas zbytečně velká atomizace textu na jednotlivé kapitoly - kapitola 3.1.1 má jen jednu větu apod. Kopírováním některých pasáží došlo ke vzniku chyb v označení skupin a podskupin myší v jednotlivých experimentech.

Otázky:

1. Proč nebyl testován sexuální přenos v akutní fázi infekce u cystického kmene parazita (epidemiologicky se mi zdá právě tato cesta nejpravděpodobnější)?
2. Proč byl "citlivý" kmen myší C57B1/6 tak necitlivý vůči použitému kmeni toxoplasmy a proč byly použity "méně citlivé" samice BALB/c?
3. Proč nebyla testována přítomnost toxoplasem ve spermatu?
4. U jakých parazitů (s.s.) dochází (byť vzácně) k sexuálnímu přenosu (pokud nebudeme uvažovat typické sexuálně přenosné parazity jako např. trichomonády)?

Práci i přes uvedené nedostatky jednoznačně doporučuji k obhajobě

V Praze 7. září 2017

Doc. RND. Jan Votýpka Ph.D.