

Oponentský posudek na diplomovou práci Hany Hodkové – Behaviorální a neurofyziologické projevy latentní toxoplazmózy u myši

Posudek vypracoval: Mgr. Pavel Němec, PhD.

Předkládaná práce má celkem 104 stran, je doplněna 11 obrázky, 23 grafy a 15 tabulkami. Autorka v ní cituje 155 původních literárních pramenů. Přes značný rozsah je práce psána pregnantním a úsporným jazykem; autorka netíhne k dlouhým souvětím, jak bývá zvykem. V práci jen výjimečně nalezneme formulační nepřesnosti.

Předložená diplomová práce se skládá ze dvou částí. V první části autorka pomocí 6 behaviorálních testů studuje vliv latentní toxoplazmózy na chování myši. Zde autorka dochází k řadě zajímavých, netriviálních zjištění (schopnost rozlišit pach infikovaných a kontrolních zvířat, pachové preference samic myši komplexně závislé na fázi estrálního cyklu; snížená schopnost učení, horší motorická koordinace a zvýšená lokomoční aktivita u toxo-pozitivních myši), z nichž některé inspirativním způsobem interpretuje v kontextu neuromodulace dopaminergním systémem. Jsem přesvědčen, že výsledky prezentované v této části práce jsou bez problémů publikovatelné. V druhé části studuje vliv latentní toxoplazmózy na počet dopaminergních neuronů ve třech vybraných jádrech dopaminergního systému. Výsledky naznačují možný pokles počtu dopaminergních neuronů v *substantia nigra* u infikovaných myši. Tato část práce však zůstává z technických důvodů, které jsou v práci dostatečně diskutovány, na úrovni pilotní studie.

Na předložené práci hodnotím pozitivně následující:

1) **Mechanistické zaměření práce.** Nedostatečná znalost mechanismů, kterými toxoplazma manipuluje (nebo nemanipuluje) své meziphostitele, je jistě Achilovou patou manipulační hypotézy. Autorka v předložené práci testuje jak přímo (imunohistochemická část práce), tak nepřímo (vhodným výběrem behaviorálních testů) hypotézu, že toxoplazma manipuluje chování meziphostitele prostřednictvím vlivu na činnost dopaminergního systému. V tomto kontextu nezbývá než doufat, že imunohistochemická část studie bude v brzké době zopakována a rozšířena o kvantitativní studii zabývající se vlivem latentní toxoplazmózy na dopaminové receptory.

2) **Množství prezentovaných výsledků i způsob zpracování předložené práce.** Obě názorně demonstruje píli a cílevědomost autorky.

Na předložené práci hodnotím negativně následující:

1) Nepřehledné členění práce. Práce svým členěním připomíná spíše literární přehled (review) než diplomovou práci. Úvod do různých aspektů problematiky je rozčleněn do 6 kapitol. V kapitole 7 (Vliv toxoplazmózy na chování F1 kříženců myši kmenů Balb/c a C57/b) je shrnuta metodika (7.1 – 7.5) a výsledky etologických experimentů (7.6). V kapitole 8 (Porovnání počtu dopaminergních neuronů v jednotlivých oblastech nervové tkáně....) na je shrnuta metodika a výsledky imunocytochemických šetení. (8.1 – 8.8) a výsledky etologických experimentů (8.9). V kapitolách 9 a 10 pak následuje společná diskuse a závěry. Vhodnější a přehlednější by bylo klasické rozdělení na úvod, metodiku, výsledky, diskusi a závěr.

2) Zbytečně dlouhý a všeobjímající úvod. Autorka na 22 stranách podává komplexní úvod do problematiky. Najdou se v něm i tak obecné kapitoly jako jsou např. prostorová paměť a učení, lokomoční aktivita a explorace, imunohistochemie, analýza obrazu. Pojednání tak širokých témat na omezeném prostoru s sebou nutně nese zjednodušující tvrzení a odkazy na sekundární literaturu typu učebnic a skript. Jsem si jist, že schopnost napsat literární rešerši autorka náležitě demonstrovala již v bakalářské práci, v práci diplomové mi připadá nadbytečná. Uvítal bych spíše stručný (3-4 strany) úvod, kde by byl jasně definován cíl práce, testovaná hypotéza a teoretické východiska pro experimentální práci.

Formální a drobné připomínky:

1) Některé termíny jsou zaváděny bez patřičného vysvětlení Např.

- Str. 5. – sizotýmie, afektotýmie
- Str. 30 – ritanserin
- Str. 79 – HT2A/HT2C receptory

2) Zavedené termíny nejsou vždy používány jednotně v celé práci.

- Např. str. 5. – faktor A Cattelova dotazníku je alternativně požíván termín vřelost a sizotýmie + afektotýmie.
- Podobně autorka používá termín Novelty seeking a na str 16 zavádí jeho český ekvivalent Vyhledávání nového.
- V úvodu je používána latinská nomenklatura pro jádra dopaminergního systému, ve výsledcích (na straně 64) je zavedena anglická nomenklatura pro totéž.

3) Str. 11. Je uvedeno "... Objevem hypokampálních pyramidových neuronů bylo umožněno studium prostorové paměti, ...". Studium prostorové paměti neumožnil objev pyramidových buněk jako takových, ale objev toho, že fungují jako „place cells“.

4) Str. 13 autorka používá nejasný termín motorické centrum centrální nervové soustavy. Motorických center je v CNS celá řada.

5) Chyby v používání anatomické nomenklatury.

- Např. str. 16, poslední odstavec v závorce uvedeno tegument, má být tegmentum. Na str. 19 ve ventrální části tegmentu – správně má být tegmenta (to tegmentum).
- Str. 16, 18, 20 i jinde – uvedeno substantia nigra, má být substantia nigra.
- Str. 18. A-12 – nucleus infundibuly, správný název je nucleus arcuatus; podobně A-13 zona interna, správný název je zona incerta.

- Str. 20. je uvedeno z A8-A10 (ze substantia nigra, pars compacta)....., Jelikož A 8 = nucleus reticularis pontis, A9 = substantia nigra, pars compacta a A10 = area ventralis tegmenti, tvrzení v závorce by mělo být upřesněno nebo vynecháno.

6) Nepřesné termíny.

- Str. 22. namísto 3,3'-diaminobenzidin je uvedeno 3,3'-diaminobenzin.
- Podobně na str. 61. namísto DAB tetrahydrochlorid je uvedeno DAB tetrachlorid.

7) Str. 30. Mělo by být vysvětleno proč byl ritanserin použit a jaké je jeho farmakologické působení.

8) Str. 59 a 60. Uvedeno že při perfuzi je nastřížena levá předšň a do pravé komory je zavedena kanyla. Má to být obráceně (pravá předšň, levá komora).

9) Str. 60, poslední věta 2. odstavce. Chybí výraz „po zmražení“.

10) Str. 62, autorka používá termín tygroidní substance. Jedná se o zastaralý výraz pro drsné endoplazmatické reticulum.

11) Str. 83, 1 odstavec. Text může u nezasvěceného čitatele vzbudit dojem, že dopamin je protein. Protilátkou je detekován je komplex glutaraldehyd-dopamin, tedy nikoli protein.

12) Str. 86, 3. odstavec. Na místě by byla mírnější formulace. Výsledky našich etologických testů a imunohistochemických experimentů *naznačují* (spíše než ukazují).....

Dotazy na autorku:

1) Na straně 7 uvádíte, že počet tkáňových cyst v mozku je maximální ve 2. měsíci po infekci. Co se s nimi děje v dalších fázích infekce?

2) Jaký biologický význam mají pozorované samičí pachové preference? Jsou pozorované preference samic interpretovatelné v kontextu manipulační hypotézy?

3) Můžete vysvětlit jaká rozvaha vedla k použití ritanserinu v Holeboard-testu? Jaký je jeho farmakologický účinek? Jakým mechanismem zvyšuje sekreci dopaminu v meso-kortikálním systému?

Závěrem je mou milou povinností konstatovat, že přes uvedené kritické připomínky (vesměs formální nedostatky) považuji předloženou práci za velmi kvalitní a ve všech ohledech splňující požadavky kladené na diplomovou práci. Autorka v ní jednoznačně prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce. Práci tedy plně doporučuji k obhájení a kladnému hodnocení.

V Praze dne 20.5. 2006

Pavel Němec