

**Posudek oponenta diplomové práce
předložené v rámci studia na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity
v Českých Budějovicích**

Autorka předkládané práce: Bc. Linda Jandová
Název práce: Možná asociace polymorfismů v genu pro dopaminový receptor D2 (DRD2) s lidským chováním

Jméno oponenta: Ing. Kateřina Veselá, Ph.D.
Pracoviště: Biocev a Klinika dětského a dorostového lékařství 1.LF UK a VFN v Praze
Kontaktní e-mail: katinka.vesela@gmail.com

Stručné hodnocení jednotlivých aspektů práce

1. Rozsah DP a její členění	
x	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
x	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů	
x	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
x	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - upokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
x	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo čtenějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Slovní komentář:

Předložená práce svým rozsahem a zpracováním splňuje formální požadavky pro diplomové práce. Členění a rozsah jednotlivých kapitol považuji za přiměřený a vyvážený.

Teoretický úvod ukazuje komplikovanost studovaného tématu vzhledem k rozmanitosti možných interakcí a korelací dotčených biochemických procesů nervové soustavy.

Experimentální část je zpracována přiměřeně.

Je obdivuhodná velikost skupiny respondentů. Ano, z pohledu statistiky a relevantnosti výsledků se jeví padesátka dobrovolníků jako malá skupina. Ovšem vzhledem k tomu, že autorka práce si skupinu sama vytvářela, a možné adepty oslovovala, je skupina úctyhodně velká.

Jisté výhrady bych měla k metodickým popisům. U metod izolace DNA, kde byly použity komerčně dodávané kity, považuji za zbytečné uvádět popis vlastního postupu, je-li shodný s doporučenou metodikou daného kitu. Pokud je přesto postup uváděn, bylo by možná zajímavější a čtivější, pro nezasevěné do tajů izolací DNA, popis postupu osvěžit faktickými komentáři o co v kterém kroku fyzicky jde (např. lyzace membrán, degradace proteinů, odmyvání přebytečného množství solí apod.).

Údaje o centrifugačních podmínkách je vhodné uvádět v jednotkách RCF neboli v „g“ nikoli v RPM. Údaj RPM udává toliko počet otáček rotoru centrifugy za minutu a nikoli požadované přetížení. Vzhledem k tomu, že je uváděn typ použité centrifugy, je zde šance, že případný zájemce o využití metody je schopen dopočítat RCF a aplikovat ho do svých laboratorních podmínek, ale domnívám se, že je obecně vhodné a korektnější uvádět hodnoty RCF neboli „g“ nikoli RPM.

Při popisu PCR reakcí jsou správně uváděny koncentrace použitých komponentů. Jediné u čeho koncentrace nejsou uváděny, je vstupní, templátová DNA. U té je uveden toliko objem. Pro měření koncentrace izolované DNA byla použita jedna z nejsofistikovanějších metod.

Přesto není nikde zmínka ani o hodnotách koncentrace izolovaných DNA, ze kterého by případně šlo dopočítat koncentrace použité do reakcí. Vzhledem ke komplikacím s „nízkou koncentrací u některých vzorků“ se domnívám, že uvádět tento údaj je poměrně zásadní.

Výstupy práce jsou uvedeny přehledně. Obdivuhodný je také rozsah statistického zpracování.

Výsledky korespondují s velikostí vyšetřované skupiny, která počtem a možná ani výběrem není ideální.

V diskuzi se studentka vhodně věnuje komentáři ke všem vytýčeným cílům a hypotézám své práce.

V závěru stručně shrnuje zásadní výstupy své práce.

Počet citací možná i převyšuje rozsah dané práce. Snad je jen na škodu, že 43% zdrojů je starších 15 let.

Jazyk práce hodnotím jako výborný. V textu se nevyskytují gramatické či pravopisné chyby.

Slohová obratnost i provázání na sebe navazujících logických celků dělají práci srozumitelnou a čtivou i přes komplikovanost předkládaného tématu.

Formální a grafická úroveň práce je také velmi dobrá. Chyby ve formátování jsem nepozorovala a překlepy se vyskytují jen ojediněle.

Fakt, že experimentální data ne vždy odpovídají očekávaným tezím je neodmyslitelnou součástí vědecké práce. Domnívám se, že je často škoda, že jsou tato data obtížně publikovatelná, protože jejich zveřejnění by mohlo jiným pomoci ve smyslu „tohle už někdo zkusil, tudy cesta nevede“, ale hold žijeme v době, která dychtí toliko po úspěchu.

Oceňuji, že se studentka nesnaží svá data nijak ovlivnit, a pokouší se výsledky objektivně zhodnotit.

Obávám se, že je vždy poněkud riskantní vybírat porovnávané skupiny na základě objektivně neměřitelných kritérií. Což rozhodně „sebehodnocení“ je. Dva lidé, kteří budou tvrdit, že se věnují adrenalinovému horolezectví, se mohou dost zásadně lišit. Jeden sice může 4x týdně zdolávat osmičkové trasy na umělých stěnách v nějakém „městském lezeckém centru“ a považovat to za adrenalinový výkon. Druhý by se při takovém super bezpečném lezení k smrti nudil a nikdy by se umělé lezecké stěny nedotkl. Takový horolezec do chvíle, než mu kloužou prsty po „oslizlých“ skalách a než si zatlouká vlastní skoby do skály visící na jedné ruce desítky metrů nad zemí, žádný adrenalin nezažívá... Je dost pravděpodobné, že první začal lézt proto, že lezl jeho starší bratr, nebo dobrý kamarád a on vlastně nevěděl, co s volným časem, kdežto druhý je opravdu ten „bláznivý nebojsa“. Umím si představit, že tito dva budou mít odlišné skóre novelty seeking a i genotyp... ale dle určitého primárního výběru spadnou do stejné skupiny a jejich výsledky se logicky projeví na zvětšení rozptylu vypočítaných hodnot.

Dotaz k obhajobě

1. V textu uvádíte dvě použité metody izolace DNA. Nevysvětlujete ale důvod, proč jste volila různé metody. Každá z užitých metod je založena na trochu odlišném principu izolace DNA. Jedna jde chemickou cestou postupné solubilizace a srážení jednotlivých komponentů směsi, které je potřeba oddělit. Druhá je založena na fyzikálně chemickém principu vycházejícím z odlišného náboje silikátové náplně kolonky a izolované DNA. V textu se pozastavujete nad nízkou efektivitou izolace DNA u schizofrenních pacientů a zmiňujete opakované izolace vzorků od těchto pacientů. Zajímalo by mne, zda byly na tyto vzorky aplikovány obě metody izolace, nebo jen jedna? Pokud obě, byl vidět rozdíl ve výtěžku izolace či následné úspěšnosti amplifikace? Neb jednou z hypotéz, pro vysvětlení pozorovaných problémů, uvádíte i typ léčby. Právě metoda použitá na izolaci DNA může mít zásadní vliv na např. odmytí chemických látek – léčiv, intermediátů apod., které mohou vést buď k netypickým jevům (změnám afinity apod.) ovlivňující izolaci DNA jako takovou, nebo které následně, pokud v roztoku izolované DNA zůstanou, mohou zásadně ovlivnit i práci polymeráz použitých pro amplifikaci.

Závěr

Vzhledem ke komplikovanosti studovaného tématu a k velmi složitému nastavení kritérií pro zařazení dobrovolníků do skupin, související s množstvím vnějších vlivů fyzických či sociálních apod. hodnotím práci velmi kladně. Studentka se, dle mého soudu, vypořádala jak s tématem, analytickým provedením, tak se svými následnými výsledky velmi statečně a se ctí.

Navržené hodnocení: **výborně**

Datum vypracování posudku: 16.5.2019


Ing. Kateřina Veselá, Ph.D.

Posudek práce „Možná asociace polymorfismů v genu pro dopaminový receptor D2 (DRD2) s lidským chováním“

Diplomová práce slečny Bc. Lindy Jandové „Možná asociace polymorfismů v genu pro dopaminový receptor D2 (DRD2) s lidským chováním“, byla inspirována prací paní Mgr. Martiny Polgar obhájené v roce 2017. Ta hodnotila možnosti využití psychologického testování a genetické analýzy pro výběr vhodných dobrovolníků pro výzkum vzácně se vyskytující abnormálně vysoké obsazenosti dopaminergních receptorů pomocí pozitronové emisní tomografie. Přesto, že tento cíl práce není explicitně uveden, největší přínos spatřuji právě v rozšíření bádání z roku 2017 a v získání důležitých poznatků pro budoucí tomografický výzkum.

Autorka deklaruje následující cíle práce:

1. získat dobrovolníky pro studii a rozdělit je do skupin,
2. otestovat u participantů pomocí psychologického dotazníku TCI-R skóre novelty seeking a porovnat je,
3. zjistit u participantů skutečnou frekvenci mutovaných alel (A1, Met, -141C Del) vybraných polymorfismů,
4. zjistit možnou asociaci mutovaných alel vybraných polymorfismů s novelty seeking,
5. zjistit možný vliv pohlaví na novelty seeking.

Dle mého názoru první tři body nejsou cíle, ale metodika výzkumu.
Cíle 4 a 5 byly dosaženy.

Největší přínos práce vidím v zjištění korelace polymorfismu TaqIA v genu DRD2 s novelty seeking i přes relativně nízký počet dobrovolníků. Z výsledků výzkumu korelace polymorfismu Val158Met genu COMT s novelty seeking je zřejmá nutnost navýšení počtu dobrovolníků, aby pozorované trendy bylo možno popsat na požadované hladině významnosti. Je pozoruhodné, že byla vyvrácena hypotéza o korelaci výskytu alely A1 (která je spojována s až o 30 % nižší expresí D2 receptorů) s vyšším skóre novelty seeking. Tento výsledek by po nezávislém ověření by mohl ovlivnit plánování budoucího tomografického výzkumu.

Nemohu souhlasit s jedním ze závěrů autorky o „rozdílu v rozsahu dosahovaných hodnot novelty seeking u mužů a žen, který naznačuje vliv testosteronu“. Svoji roli určitě hraje odlišný výskyt serotoninu v jednotlivých regionech mozků mužů a žen a významné rozdíly v meziphemisférním propojení neuronů v mozcích mužů a žen.

Práce je napsána čtivě, překlepů je velice málo.

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě. Vzhledem k přínosu pro plánování budoucího tomografického výzkumu i přes drobné nedostatky navrhuji hodnocení „výborně“.

V Českých Budějovicích, dne 16. května 2019



doc. Ing. Alexandr Popkov, Ph.D

POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Diplomantka : BC. LINDA JANDOVÁ
Název diplomové práce : Možná asociace polymorfismů v genu pro dopaminový receptor D2 (DRD2) s lidským chováním
Studijní obor : Medicínská biologie, Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Akademický rok : 2018/2019
Vedoucí diplomové práce : Mgr. Dagmar Riegert Bystřická, Ph.D.

1. Cíl práce, obsahové zpracování a aktuálnost řešeného problému

Diplomová práce se zabývá možnou asociací polymorfismů v genu pro dopaminový receptor D2 s lidským chováním. Problematika je uchopena komplexně, má podrobnou a srozumitelnou teoretickou část, která objasňuje výzkumné hypotézy, pečlivě zpracovanou experimentální část s popisem genetického vyšetření, psychologického testování, zpracováním výsledků, diskusí a závěrečným zhodnocením. Struktura, rozsah i metodika práce odpovídá požadovaným nárokům na diplomovou práci. Výsledky výzkumu jsou porovnávány s literaturou a jsou z nich vyvozeny kritické závěry s návrhem možného dalšího řešení problematiky v případě budoucích experimentů. Velmi zajímavým aspektem práce je její mezioborový přesah. Vyzdvihují i šíří znalostí, která byla potřebná k dostatečnému porozumění řešenému problému. K obsahu práce mám jen drobné výhrady. V otázce hypotéz o etiopatogenezi schizofrenie bych zmínila i v současnosti nejvíce zmiňovanou teorii o poruše konektivity, která aktuálně překonává dopaminovou hypotézu, nicméně farmakoterapie je na dopaminové hypotéze i nadále založena, a proto považuji tuto práci za aktuální a přínosnou. Dále bych v práci více rozvedla limity snížené spolupráce schizofrenních pacientů při buklálních stěrech, které následně vedlo k nízké koncentraci DNA vzorků a stejně tak i omezenou možnost většího souboru těchto pacientů s návrhem možných opatření v případě dalších studií.

2. Přínos diplomové práce pro klinickou práci

Přínos práce vidím v možnosti další specifikace poruch exprese dopaminergních receptorů a dostupnosti dopaminu, která při korelaci s psychologickým testováním může více přispět k vysvětlení etiopatogeneze neuropsychiatrických onemocnění a v případě dalších podobných výzkumů konkrétně u schizofrenních pacientů pomoci více objasnit i jejich rozličný fenotyp, o schizofrenii se nyní začíná uvažovat i více jako o schizofrenním syndromu, který může obsahovat různé nosologické jednotky, než jako o onemocnění, i když se doposud toto označení používá. Zároveň mohou podobné práce s větším souborem pacientů umožnit porozumění nejen vlivu genotypu, ale i epigenetiky a vlivů prostředí na výslednou podobu onemocnění či syndromů. Dalším významným prvkem pro klinickou praxi potom může být možnost více individualizované farmakoterapie, ale i psychoterapeutických přístupů. Další zajímavou oblastí je studium vlivu pohlaví na novelty seeking, to by také mohlo v budoucnu otvírat nové možnosti více cílené farmakoterapie.

3. Formální náležitosti práce

Práce je přehledně zpracována, splňuje formální náležitosti. V práci jsou správně uvedeny citace, teoretický text doplňují názorné obrázky, grafy a diagramy, které umožňují lepší porozumění. V závěru je uveden i obsáhlý souhrn použité literatury. V textu jsem narazila pouze na drobné překlepy.

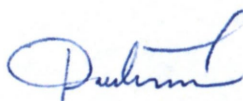
4. Dotazy k obhajobě na diplomanta

- a) Jakým způsobem by bylo možné zlepšit výbor respondentů do studie a jejich spolupráci a získat tím větší výzkumný vzorek ?
- b) Čím ještě (kromě malého souboru pacientů a vlivů prostředí) by bylo možné zdůvodnit, že v rozporu s hypotézou i literaturou není frekvence výskytu mutovaných alel (A1, Met, Del) vyšší u schizofrenních pacientů a sportovců než u kontrolní skupiny ?
- c) Jakým způsobem by mohla být do budoucna pojata epigenetická analýza ?
- d) U jakých dalších neuropsychiatrických onemocnění by se dal podobný výzkum aplikovat a co by mohlo být jeho přínosem pro klinickou praxi ?
- e) Bylo by možné použít podobný design výzkumu pro studium polymorfismů D3 a D4 receptorů?

5. Celkové zhodnocení diplomové práce

Diplomantka teoretickým studiem problematiky asociace polymorfismů v genu pro dopaminový receptor DRD 2 s lidským chováním a svým experimentem projevila vzhled do problematiky vlivu genetických polymorfismů na jednu z možných etiologií vzniku některých neuropsychiatrických onemocnění, přičemž největší pozornost byla vzhledem k výzkumnému vzorku věnována onemocnění schizofrenií. Podobné studie s větším souborem pacientů by mohly vést k větší individualizaci farmakoterapie, přičemž velmi zajímavá se jeví i zmínka o možnosti rozšíření podobných studií do budoucna o epigenetické analýzy. Inspirativní je i propojení genetického výzkumu s psychologickým testováním odkazujícím na osobnostní charakteristiku s významným vlivem na prožívání a chování, tedy v tomto případě novelty seeking, přičemž osoby s nízkým či vysokým skóre tohoto typu chování se vyskytují u mnoha dalších psychiatrických onemocnění a bylo by přínosné rozpracovat tuto teorii i u dalších souborů pacientů. V diskusi diplomantka projevila schopnost kritického myšlení a rozpracovala i nedostatky studie a působení dalších faktorů, které mohly ovlivnit výsledky výzkumu.

Diplomovou práci tímto **doporučuji** k obhajobě před státní zkušební komisí.



MUDr. Kateřina Duchoňová
oponentka diplomové práce

Psychiatrické oddělení
Ústřední vojenská nemocnice –
Vojenská fakultní nemocnice Praha

V Praze, dne 14.5.2019