

Magisterská práca Bc. Viktorie Laštůvkové je zameraná na štúdium vplyvu lysmeralu (2-(4-terc-butylbenzyl)propionaldehyd), potenciálneho endokrinného disruptora, na priebeh meiotického zrenia prasačích oocytov v *in vitro* podmienkach.

Hodnotenie výsledkov z hľadiska tvorivého prístupu

Práca vo svojej praktickej časti venuje pozornosť syntetickému aldehydu – lysmeralu, ktorého spektrum možných negatívnych dopadov na zdravie nie je v súčasnosti dostatočne známe. Praktická časť práce sa zameriava na jeho možný negatívny vplyv na reprodukčný systém cicavcov a analyzuje jeho pôsobenie na priebeh meiotického zrenia oocytov.

Aplikovaný metodický prístup zodpovedá aktuálnym poznatkom v danej oblasti. Vplyv lysmeralu je mapovaný z viacerých hľadísk, akými sú samotná progresia meiotického zrenia, analýza formovania deliaceho vretienka, miera integrity chromatinu, či metylácia histónu H3K4me3. Dosiagnuté výsledky signifikantne potvrdili negatívny účinok lysmeralu na priebeh meiotického zrenia, čím zároveň posilnili doterajšie domnienky, ktoré naznačovali jeho možné pôsobenie v roli potenciálneho endokrinného disruptora. Nie je to prvýkrát, čo by sa vo veľkej miere v priemysle používaná látka ocitla na zozname polutantov. Získané výsledky preto považujem za dôležité a veľmi aktuálne a mala by im byť venovaná náležitá pozornosť.

Rozsah práce adekvátne zodpovedá štandardom pre zadaný typ záverečnej práce.

Formálna stránka predloženej práce

Práca má adekvátny rozsah, zodpovedajúcu štruktúru a členenie. Text je vhodne doplnený o obrázky a grafy, ktoré približujú riešený problém. Výhradu mám k niektorým nepresnostiam, predovšetkým v časti venovanej výsledkom.

Jazyk

Formulácia viet a vetnej skladby je jasná a prehľadná. Gramatickú stránku práce mi neprináleží hodnotiť. V práci sú ojedinelé preklepy.

Hodnotenie jednotlivých častí predloženej práce

Literárny prehľad

Považujem ho za veľmi silnú stránku danej práce a mimoriadne pozitívne hodnotím jeho spracovanie. Teoretická časť je prehľadná, logicky nadväzujúca a z pohľadu čitateľa pútavá. Je potrebné vyzdvihnúť autorkin prehľad v skúmanej oblasti a rozsah citovaných zdrojov, ktorých počet prevýšil hodnotu 300 citácií.

Materiál a metódy

Rozsah použitých metód je primeraný, dostatočný a zodpovedá aktuálnym poznatkom. Autorka sledovala pôsobenie hneď troch rozličných koncentrácií lysmeralu, pričom jej snahou bolo zachytiť aj tzv. „efekt nízkej dávky“, kedy má práve subtoxická hladina látky vo výsledku horší dopad, ako jej vyššie koncentrácie. Vzhľadom na početnosť vzoriek a skúmané faktory usudzujem, že si praktická časť práce vyžiadala veľkú časovú investíciu autorky, čo tak isto hodnotím pozitívne.

Výsledky

Autorka získanými výsledkami demonštruje negatívny vplyv syntetického aldehydu – lysmeral na priebeh meiotického zrenia prasačích oocytov v *in vitro* podmienkach. Z výsledkov vyplýva, že boli zistené signifikantné rozdiely u sledovaných skupín v porovnaní s kontrolnou skupinou. Výsledky zároveň naznačujú, že by sa v prípade sledovanej látky mohlo skutočne jednať o potenciálny endokrinný disruptor. Autorka zvolila vhodnú formu prezentácie výsledkov v podobe prehľadných grafov a reprezentatívnych obrázkov.

K uvedenej časti mám však aj výhradu. Sledované koncentrácie, vychádzajúc z uvedených dát v metodической časti, boli 5 nM, 500 nM a 50 µM. V časti venovanej integrite chromatinu je však v grafe koncentrácia 5 µM. Usudzujem, že ide o chybu, avšak neskôr sa opäť objavuje v časti venovanej záveru, čo vnáša do výsledkov nesúlad. Je to škoda, nakoľko ide o zaujímavú a metodicky dobre navrhnutú prácu.

Diskusia

Diskusia je vecná a vhodným spôsobom diskutuje dosiahnuté výsledky. Vyplýva z nej, že autorka má v predmetnej oblasti potrebný prehľad a svoje výsledky dokáže konfrontovať s dátami iných autorov.

Z pohľadu oponenta hodnotím prácu pozitívne. Oceňujem detailný prehľad sledovanej oblasti a zvolené metodické postupy, ako aj ich praktické prevedenie a zvládnutie. Práca prináša dôležité výsledky, ktoré môžu slúžiť ako podnet k ďalším analýzám. Rozsah spracovaných výsledkov taktiež hodnotím kladne. Výhradu mám len k nedôslednému formálnemu spracovaniu dát, ktoré sčasti zatieňuje inak kvalitnú prácu.

Prácu v predloženej podobe odporúčam k obhajobe a hodnotím známku „veľmi dobre“ („B“). V prípade úspešne zvládnutej obhajoby navrhujem udelenie titulu MSc.

Pripomienky k práci a otázky do diskusie

Pripomienky:

Pripomienka k prezentovaným výsledkom: Ako už bolo naznačené, v práci v časti výsledkov (str. 40) a v časti záver (str. 51) je nesprávne uvedená použitá koncentrácia lysmeralu. Pravdepodobne sa jedná o preklep, prípadne chybu z nepozornosti. Ide však o opakujúcu sa chybu, ktorá v zásadnej časti práce vnáša do výsledkov nejednotnosť.

Uveďte prosím, či ide o chybu alebo či ste naozaj použili u tohto pozorovania rozdielnu koncentráciu, než je uvedené v metodической časti práce?

Pripomienka k tvrdeniu: V závere práce (str. 51) sumarizujete citujem: „Vlivem expozice lysmeralu došlo u zrajících oocytů také k narušení tvorby DV. Nejčastěji byly pozorovány chyby při napojování ke kinetochorům chromozomů či tvarové abnormality. Statisticky významný rozdíl byl pozorován po kultivaci v 500 nM koncentraci lysmeralu.“

Uvádzate teda, že štatisticky významný rozdiel bol zaznamenaný len u skupiny s koncentráciou lysmeralu 500 nM. V časti výsledky (str. 38) však uvádzate, že štatisticky významný rozdiel bol pozorovaný až u dvoch skupín, konkrétne v skupine s koncentráciou 500 nM a 50 µM.

Ozrejmite prosím, u ktorých skupín teda došlo k štatisticky významnej odchýlke?

Pripomienka k tvrdeniu: V časti výsledkov str. 37 uvádzate, citujem: „Vliv lysmeralu na průběh meiotického zrání se v našem experimentu prokázal být lineárně závislý na dávce.“ V časti

diskusie (str. 45) k týmto výsledkom uvádzate, že sa jedná o nelineárny efekt. Vysvetlite prosím tieto tvrdenia.

Otázky:

Mohol by byť podľa Vás práve „efekt nízkej dávky“ príčinou vyššej incidencie chybovosti pri formovaní deliaceho vretienka u nižšej dávky lysmeralu (konkrétne u skupín 500 nM a 50 μ M)?

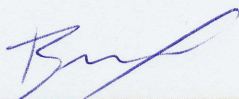
Mohlo by byť toto správanie náznakom, že sa jedná o endokrinný disruptor?

V spojitosti s analýzou formovania deliaceho vretienka, skúsili ste realizovať karyotypovanie?

Ak áno, akou metódou a aké sú predbežné výsledky?

Ak nie, plánujete ich realizovať? Akou metódou?

Bola realizovaná na Vašom výskumnom pracovisku aj partenogenetická aktivácia, prípadne IVF oocytov ošetrených látkou lysmeral? Ak áno, zachytili ste rozdiely v embryonálnom vývoji?



RNDr. Michal Benc, PhD.

V Nitre dňa 25.5.2022