

Posudek na diplomovou práci

školský posudek	Jméno posuzovatele: MVDr. Tomáš Ďuríček
Autor: Bc. Markéta Koubovská	Název práce: Opravy DNA v oocytech a preimplantačních embryích DNA repair in oocytes and early embryos
Cíle práce: Za posledných 10 rokov sa zvýšil počet vykonaných cyklov s hormonálnou stimuláciou v centrách asistovanej reprodukcie až trojnásobne. V literatúre je popísaných mnoho dopadov hormonálnej stimulácie na ženu a vyvíjajúci sa plod, ale jej vplyv na oocyty a preimplantačné embryá je preskúmaný len málo. Cieľom diplomovej práce bolo preto charakterizovať vplyv hormonálnej stimulácie na vznik poškodenia DNA v myšiacich oocytoch a embryách. Prvotnou hypotézou bolo, že zvýšená dávka hormonálnej stimulácie vedie k nárastu dvojreťazcových DNA zlomov v oocytoch. Následne bola práca zameraná na sledovanie vplyvu vysokej hormonálnej stimulácie na meiotickú maturáciu oocytov. Bol tiež skúmaný vplyv vysokej hormonálnej stimulácie na poškodenie DNA v zygotách a ich následný proliferačný vývoj do blastocysty.	
Literární přehled: V práci bolo použitých 110 citácií, 25 % citácií je z posledných 5 rokov, 61 % citácií je z posledných 10 rokov, čo poukazuje na to, že v práci sú citované recentné práce. Sekundárne citácie sú správne označené (*). Diplomová práca je v českom jazyku a je štrukturovaná podľa pravidiel. V úvode a prvých kapitolách literárneho prehľadu je všeobecný opis oogenézy, embryogenézy a hormonálnej stimulácie. Ďalej sú opísané mechanizmy detekcie a opravy poškodenej DNA v oocytoch a embryách. V poslednej kapitole je opísaný vplyv veku ženy na bunkovú odpoveď na poškodenú DNA, ktorá odkazuje na Markétinu bakalársku prácu. Literárny prehľad zhrňuje súčasný stav poznania negatívneho vplyvu hormonálnej stimulácie a je relevantný k diplomovej práci.	
Metódy: Markéta pracovala v našom laboratóriu od marca 2019. Postupne sa naučila samostatne hormonálne stimulovať myši, izolovať a kultivovať myšiacie oocyty a embryá. Následne zvládla techniky nepriamej imunofluorescencie spolu s konfokálnou mikroskopiou. Získané výsledky sa naučila správne zanalyzovať, štatisticky vyhodnotiť a spracovať do grafickej podoby. Jej prácu v laboratóriu hodnotím veľmi kladne. Markéta je laboratórne veľmi zručná, je cieľavedomá, iniciatívna, pracovitá a komunikatívna. Disponuje veľmi dobrým logickým myslením a v neskorších štádiách projektu bola schopná samostatne navrhovať experimenty.	
Výsledky a diskuze: Práca je súvislá a jednotlivé experimenty na seba logicky nadväzujú, na základe vývojových štádií oocytov a embryí. Po použití vyššej dávky hormonálnej stimulácie bolo v oocytoch signifikantne zvýšené množstvo dvojlákových DNA zlomov. V zygotách už množstvo dvojlákových DNA zlomov signifikantne zvýšené	

nebolo, čo poukázalo na efektívnu opravu poškodenej DNA v oocytoch. Napriek tomu, však bolo signifikantne zvýšené množstvo fragmentovaných embryí, ktoré vznikali postupne počas embryonálneho preimplantačného vývoja. Markéta kvalitne a kriticky spracovala výsledky svojich experimentov v literárnom kontexte a vyvodila závery, ktoré poukazujú na zvýšené riziká hormonálnej stimulácie v centrách asistovanej reprodukcie. Použitie vyššej dávky hormónov pre stimuláciu menštruačného cyklu by malo byť vždy dôkladne zvážené.

Záver:

Závery tejto práce prinášajú nové poznatky do oblasti reprodukčnej biológie a môžu byť použité ako zdroj informácií pre centrá asistovanej reprodukcie. Výsledky práce majú potenciál viesť po hlbšom preskúmaní problematiky k publikácii v impaktovanom časopise. Diplomovú prácu doporučujem bez výhrad k obhajobe a hodnotím stupňom výborne.

V Liběchove dne 30.5.2022

.....

MVDr. Tomáš Ďuríček