

VLIV ESTROGENNÍCH HORMONŮ NA KAPACITACI A AKROZOMÁLNÍ REAKCI MYŠÍCH SPERMIÍ IN VITRO

V posledních letech se zvyšuje počet párů, které nemohou počít dítě přirozenou cestou. Snižuje se kvalita spermií a tím také úspěšnost oplození. Na samčí reprodukční buňky působí nepříznivě mimo jiné vlivy životního prostředí. Předkládaná diplomová práce Magdy Tejnické je zaměřena na vliv estrogenních hormonů na kapacitaci a následné prodělání akrosomální reakce spermií u myšičího modelu. Efekt daných látek byl hodnocen mírou tyrosinové fosforylace v hlavičce spermií při kapacitaci *in vitro*. Estrogeny jsou typické samčí pohlavní hormony, ale hrají významnou roli i v regulaci samčí reprodukce. Nicméně rostoucí koncentrace estrogenů v životním prostředí může představovat možné riziko ve změně některých mechanismů na molekulární úrovni, které přispívají ke schopnosti spermií oplodnit vajíčko.

Literární úvod diplomové práce je napsán velmi podrobně a čtivě, obsahuje vývoj spermií, popisuje proces kapacitace a akrosomální reakce a základní poznatky o struktuře a funkci estrogenů v samčí reprodukci. Autorka zde cituje přibližně 100 publikací, což svědčí o jejím získání velmi přehledných znalostí k danému tématu.

V kapitole Materiál a Metody je popsána *in vitro* kapacitace spermií v přítomnosti estrogenních hormonů o různé koncentraci, imunofluorescenční metody, SDS-elektroforesa a imunodetekce na membráně pomocí protilátky proti fosfotyrosinu. Výsledky jsou shrnuty do několika tabulek a obrázků. V následné diskusi autorka zasvěceně hodnotí své dosažené výsledky v porovnání s literárními údaji. Závěry práce vychází ze získaných výsledků a shrnují celou práci.

K práci bych měla několik formálních připomínek a dotazů:

Metodika

str. 48 – místo „pufr na blot“ bych se přikláběla k výrazu pufr pro přenos proteinů po SDS-elektroforese na membránu – „přenosový pufr“

str. 53 – obr. 3.4. je špatně označen, má být 3.3.

- není jasné, které protilátky a značené próby byly použity pro imunofluorescenci a které pro detekci na membráně
- chybí popis postupu statistického vyhodnocení

Výsledky

- tabulky by měly být samonosné, chybí u nich legendy, není jasné, co který řádek značí a že jsou výsledné hodnoty vyjádřeny v procentech; procenta by nemusela být na tři desetinná místa
- pro názornost a lepší přehlednost mohly být výsledky vyneseny do grafu

Dotazy k obhajobě:

- 1) Jsou známy konkrétní proteiny, u nichž se zvyšuje tyrosinová fosforylace během kapacitace?
- 2) Čím si vysvětlujete největší snížení schopnosti prodělání AR u spermií kapacitovaných *in vitro* po 30 minutách u vyšších koncentrací 17- β -estradiolu a estronu?
- 3) Co by znamenalo zvýšené procento spermií, které prodělají AR při kratší době kapacitace v přítomnosti vyšší koncentrace estrogenních hormonů, pro úspěšné oplození *in vivo*? Případ Vašich výsledků při inkubaci s estriolem.

Mé připomínky nikterak nesnižují kvalitu předkládané diplomové práce, která je zajímavá a přehledně sepsaná. Práce Magdy Tejnické doplňuje poznatky již publikované u jiných savčích druhů na téma vlivu estrogenních látek na kvalitu spermií a průběh kapacitace a akrosomové reakce. Myslím, že toto téma je velmi aktuální vzhledem ke snižování úspěšnosti přirozené reprodukce. Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím jako výbornou.

V Praze 20.9.2010



RNDr. Pavla Postlerová, PhD.
Biotechnologický ústav
Akademie věd České republiky, v.v.i., Praha