

Oponentský posudek na disertační práci MUDr. Aleny Langerové:

“Epigenetické a strukturální charakteristiky savčích oocytů a embryí: extrapolace pro humánní asistovanou reprodukci ART”

Během posledních let byly pozorované abnormality a poruchy v plodnosti živočichů, včetně člověka. V evropské populaci má více jak 15% párů v reprodukčním věku problémy s oplozením. Během posledních deseti let došlo k dramatickému poklesu kvality spermatu u mužů a poruchy neplodnosti u mužů činí 60%. Srovnatelného procenta dosahuje neplodnost žen, příčiny u obou partnerů jsou různé. Vzhledem k tomu, že se očekává nárůst dětí narozených pomocí asistované reprodukce, dostávají se do popředí zájmu metody a diagnostika použitelná pro zvýšení úspěchu asistované reprodukce.

Z těchto důvodů, práce A. Langerové patří k aktuálním tématům nejen léčby neplodnosti, ale i základního výzkumu.

Práce je členěná na úvod, cíle práce, komentář k jednotlivým publikacím, seznam literatury a seznam publikací.

Cíl práce je jasně definován:

Sledování epigenetických a strukturálních změn během zrání oocytů a časného embryonálního vývoje s cílem užití těchto informací v humánní asistované reprodukci.

Následují čtyři konkrétní cíle:

1. Vyhodnocení stimulačních protokolů, které jsou používány ke kontrolované hyperstimulaci u žen v asistované reprodukci.
2. Charakterizace kvality lidských oocytů (které nejsou ve stádiu MII), jejich epigenetický status konkrétně acetylaci histonů v souvislosti s aneuploidii lidských oocytů
3. Vyhodnotit možnost použití oocytů pro přípravu linie ESC (konverze meiosis na mitosu)
4. Objasnit funkci specifických jadérek (NPBs), která jsou v oocytech s dokončeným růstem a v embryích během prvních stádiích embryonálního vývoje a využít tyto poznatky k hodnocení vývojového potenciálu zygot.

Abstrakt a úvod práce je stručný, ale velice přehledný, shrnující současné znalosti v daném oboru.

Následuje komentář a diskuse k jednotlivým publikacím.

Autorka předkládá osm publikací v kvalitních reprodukčních časopisech a kapitulu v knize, třikrát je první autorkou. Není třeba diskutovat nad vědeckou kvalitou výsledků, všechny práce prošly náročným oponentním řízením v časopisech s vysokou úrovní.

Práci samotnou jsem přečetla s velkým zájmem a děkuji tím za doplnění mých znalostí.

Formálně bych předložené práci vytkla pouze dvě drobnosti, které by byly pro čtenáře předložené práce příjemnější a to: vytvořit jeden souhrnný abecední seznam literatury za úvod i všechny publikace a v Příloze uvést práce v pořadí, jak jsou popsány a diskutovány v textu.

Předkládám pár otázek a směřuji k diskusi:

Odborné dotazy:

1. Autorka na str. 26 konstatuje: „Přítomnost NPB má zásadní vliv na regulaci centrických a pericentrických sekvencí DNA a ovlivňuje výrazně průběh buněčného cyklu – z jednoho do dvoubuněčného stádia a remodelaci chromatinu zejména parentálního genomu“.
Můžete prosím rozvést?
2. Jak je možné vysvětlit vysoký stupeň acetylace u lidských oocytů? Souvisí s aneuploidii a jak?
3. Jaké jsou v současnosti pokroky s ustavením hESC?

Otázky k diskusi o IVF centrech:

Souhlasím s názorem A. Langerové a s výzvou pro IVF centra, využít nepoužitá embrya k dalšímu detailnějšímu výzkumu molekulárních mechanismů vývoje lidských embryí.

To by však předpokládalo ochotu vedení center IVF podporovat výzkum a také možnosti a zájem pracovníku směřovat svoji práci i do výzkumu.

Bez asistované reprodukce bychom se nyní ani v budoucnu neobešli, ale je dobré si uvědomit, že asistovaná reprodukce není srovnatelná se situací *in vivo*. Byly publikovány práce upozorňující na fakt, že u dětí počatých asistovanou reprodukci

(IVF, ICSI) se vyskytuje nárůst poruch a chorob proti dětem, které přišly na svět přirozeným způsobem.

Je třeba brát do úvahy, že první děti IVF se dostávají do reprodukčního věku – ke konečnému vyhodnocení vlivu asistované reprodukce na zdraví lidí je ještě daleko.

Důležité je též si uvědomit, že sice neplodnost je nemoc, ale její léčba je směřována nejen na daného jedince nebo pár, ale ovlivňuje populaci lidí.

Takže, pokládám trochu provokující otázky:

1. Chceme vylepšit naše znalost v genetice, epigenetice a metodách asistované reprodukce, aby nenarůstaly poruchy v lidské populaci?
2. Kam až jít v reparaci poškozených embryí – chceme odpovědně pomoci pacientkám, nebo mít větší úspěch v oplození a narození dětí v centrech asistované reprodukce?
3. Jaký je názor autorky?

Dr. A. Langerová plně využila šance pracovat v laboratoři světové kvality pod vedením Ing. Josefa Fulky, Jr a spolupracovat s Dr. Helenou Fulkovou.

Nesnižuji tím však zásluhy autorky - předložená práce má vysokou odbornou úroveň, dokazuje nejen pracovitost kandidátky, ale též její schopnost získané poznatky analyzovat a dávat do souvislostí.

Doporučuji tuto práci k přijetí a udělení vědecké hodnosti PhD.

V Praze 19. 11. 2014

Doc. RNDr. Jana Pěkníková, CSc