

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Evy Žatecké „Effect of selected endocrine disruptors on the male mouse reproductive system *in vivo*“

Oponent: Ing. Michal Kubelka, CSc., ÚŽFG AV ČR Liběchov

Předložená disertační práce se zabývá závažným tématem současné reprodukční biologie, a to působením některých hormonálně aktivních látek (endogenních disruptorů) na samčí reprodukční systém na modelu myši. Tyto studie mají velký význam pro objasnění působení endogenních disruptorů, které tvoří určitou část z množství polutantů uvolňujících se do životního prostředí, na hormonální systém savců, a v tomto případě především na hormonální regulaci jejich reprodukčního systému, a to v korelaci s jejich možným působením na snižování plodnosti.

Cílem předkládané práce bylo charakterizovat účinek dvou vybraných endogenních disruptorů (tetrabrombisfenolu – TBBPA a zearalenonu – ZEA) na reprodukční systém myších samců *in vivo*. Konkrétně byly experimenty zaměřeny na sledování účinků těchto dvou látek na kvalitu spermií a expresi vybraných genů, které mají úlohu především při spermatogenezi, jsou exprimovány v Sertoliho buňkách nebo jsou spojeny s apoptózou. Kromě toho se práce též zaměřovala na analýzu exprese genů spojených se spermatogenezí ve vzorcích z testikulárních biopsií neplodných mužů podstupujících TESE.

Práce je napsána v anglickém jazyce a lze ji rozčlenit do pěti základních částí – přehledu současné úrovně poznání (zahrnujícím shrnutí poznatků o spermatogenezi a spermiogenezi, úloze protaminů pro správnou funkci spermií, stejně tak jako charakterizaci vybraných endogenních disruptorů, TBBPA a ZEA), cílů práce, prezentace vlastních studií, komentáře k publikovaným výsledkům shrnutých do tří tematických okruhů a celkového shrnutí získaných výsledků. Literární rešerše je zpracovaná velmi přehledně a poskytuje dostatečný přehled o současných poznatcích ve studované oblasti. Cíle jsou jasně stanoveny a z mého pohledu splněny vyčerpávajícím způsobem. Vlastní studie jsou pak doloženy čtyřmi

vědeckými články (z toho 3 prvoautorskými) publikovanými v kvalitních impaktovaných časopisech.

Výsledky jednotlivých cílů práce je možné shrnout následovně

1. TBBPA je v testikulárních buňkách schopen vyvolat apoptózu a zároveň se v důsledku jeho působení snižuje exprese některých vybraných testikulárních genů.
2. Expozice TBBPA vede také ke změně poměru dvou typů protaminů ve spermiích a v důsledku toho též ke zvýšené fragmentaci DNA.
3. Expozice ZEA vede ke snížené kvalitě spermií (snížená koncentrace spermií, zvýšená přítomnost abnormálních spermií). Kromě toho také dochází ke změnám v expresi některých testikulárních genů, a to jak genů exprimovaných v zárodečných, tak i v Sertoliho buňkách, stejně tak jako genů souvisejících s epigenetickými procesy.
4. U vzorků získaných při testikulární biopsii mužů po TESE byla detekována snížená exprese genů souvisejících se spermatogenezí, přičemž tyto výsledky byly v dobré korelaci s výsledky histologického vyšetření pacientů.

V souhrnu předkládaná práce přináší velké množství nových poznatků o možných mechanismech působení endokrinních disruptorů na samčí reprodukční systém, stejně tak jako o změnách v expresi genů podílejících se na regulaci spermatogeneze u azospermických pacientů.

Přesto bych měl na předkladatelku několik následujících otázek, které však nijak nesnižují vysokou hodnotu předkládané disertační práce:

Otázky:

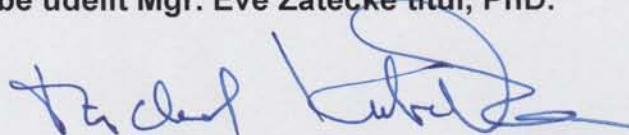
1. Předpokládám, že v našem životním prostředí se nachází poměrně velké množství polutantů s vlastnostmi endokrinních disruptorů, zajímalo by mne, co vedlo předkladatelku ke studiu účinku právě těchto dvou výše zmíněných látek na samčí reprodukční systém?

2. V literárním přehledu předkladatelka zmiňuje důležitou úlohu protaminů pro fertilitu samců, přičemž uvedené studie (stejně jako jedna z publikovaných prací předkladatelky) se týkají především savců (tj. především lidí a myší). Zajímalo by mne zda podobnou roli hrají protaminy i u dalších živočichů, popř. jak velké jsou mezidruhové rozdíly?

3. Dále v literárním přehledu předkladatelka také zmiňuje, že část DNA spermie není asociována s protaminy, ale zůstává asociována s histony a právě tato část DNA spermie obsahuje geny důležité pro časný embryonální vývoj, jako jsou skupiny imprintovaných genů, skupiny miRNA, či promotory transkripčních a signálních faktorů. Hodlá předkladatelka do budoucna směřovat svoje vědecké zaměření i tímto výzkumným směrem?

Závěrem lze říci, že práce oponenta předkládané disertační práce byla značně usnadněna faktem, že velká většina práce již byla oponována zahraničními nebo domácími odborníky, přičemž experimentální výsledky byly natolik významné, že byly publikovány v kvalitních mezinárodních vědeckých časopisech. Dle mého názoru se jedná o disertační práci velmi dobré kvality.

Z těchto důvodů jsem plně přesvědčen, že hodnocená práce splňuje všechny požadavky kladené na disertační práci. **Doporučuji proto komisi pro obhajobu disertační práci přijmout a po její obhajobě udělit Mgr. Evě Žatecké titul, PhD.**



V Liběchově dne 25.8.2015

Ing. Michal Kubelka, CSc.