

OPONENTSKÝ POSUDEK

Disertační práce Mgr. Andriy Doroshe

„Effect of selected pollutants on mammalian organisms in vivo and cells in vitro
and preparation of specific monoclonal antibodies for their detection“

Disertační práce je vypracována v jazyce anglickém. Její stylizace i jazyková úroveň nepochybně svědčí o tom, že student se aktivně podílel na všech publikacích, na kterých je disertace založena.

Práce začíná velmi důkladným seznamem zkratk, který je pro oponenta i budoucí čtenáře velmi potřebný.

Literární přehled je soustředěn na tři druhy látek znečišťujících životní prostředí, bromované zpomalovače hoření, mykotoxín zearalenon a tetracyklinových antibiotik. Všechna tato témata, stejně jako osvětlení hormonální regulace reprodukce samců, jsou zpracována přehledně s použitím všech nejspolehlivějších citací. Nepochybně velmi důležitou kapitolu představuje možnost transgeneračního přenosu negativního vlivu polutantů na reprodukční parametry samců. I když je tato oblast dosud otevřena dalším experimentálními studiemi, rád bych vyzval autora, aby ve své prezentaci blíže osvětlil svůj názor na možné epigenetické mechanismy, kterými by bylo možné předpokládat negativní ovlivnění potomstva.

Stanovení cílů disertační práce je formulováno jasně a přiložené publikace dokazují, že došlo k jejich naplnění.

Metodická část práce se soustředila jen na ty metodiky, které nejsou uvedeny in extenso v primárních publikacích. Přesto bych požadoval v prezentaci bližší popis metodiky sledování hyperaktivace spermií.

Výsledky a diskuse se soustřeďují na pět nejdůležitějších oblastí výzkumu. Experimentální studie byly započaty snahou o vytvoření komplexního panelu monoklonálních protilátek proti celé paletě možných polutantů. Tato snaha, založená na jedinečné metodické zkušenosti laboratoře školitelky, vytvořila nezbytný základ pro všechny další studie.

Estrogenní aktivita endogenních disruptorů byla hodnocena na buněčné linii MCF-7, kde byla zaznamenána jak zvýšená exprese genu TFF1, tak specifická inhibice anti-estrogenní látkou ICI 162,780. V této souvislosti bych se rád zeptal, jestli v současné době nedošlo k objasnění možné funkce produktu tohoto genu.

Velmi důkladné analýzy byly soustředěny na vyhodnocení vlivu jak endokrinních disruptorů i tetracyklinových antibiotik na reprodukční parametry a histologickou skladbu varlat myšičích

samců. Rád bych se zeptal, na které somatické buňky testikulární tkáně se analýza soustředila a kterou ontogenetickou fází vývoje organismu považujete za nejsensibilnější k testovaným látkám.

Nesporně velmi přínosné jsou studie, které se věnovaly studiu genové exprese ve vzorcích testikulárních biopsií pacientů s diagnostikovanou azospermii. Komplexní přístup k jednotlivým diagnosám, obstrukční ayoospermii, hypospermatogenezi a syndromu „Sertoli cell-only“, otevírá možnost pro diferenciální diagnostiku těchto patologických stavů. Rád bych se zeptal, jestli z těchto výsledků rezultovalo doporučení pro klinická pracoviště, třeba ve formě ověřené metodiky.

Neméně významné jsou studie vazby spermie na vajíčko, kde bylo zjištěno, že monoklonální protilátka Hs-8 značí testikulární formu proteinu GAPDHS, který je významný v procesu glykolýzy. Protože immunocytochemické studie odhalily značení jak akrosomální části hlavičky spermií, tak podstatnou část bičíku spermií, rád bych se zeptal, zdali autor v těchto pokusech sledoval vliv na hyperaktivaci spermií.

V diskusi bych pak ještě požádal o objasnění významu ERE, estrogen response elementu, a jeho přítomnosti ERE v lidském genomu. Stejně tak bych uvítal názor autor na význam hyperaktivace spermií pro proniknutí zónou pellucidou savčího vajíčka.

Předložená disertační práce je založena na sedmi primárních publikacích, které vznikly v průběhu PhD studia. Z tohoto důvodu práce splňuje všechna potřebná kritéria pro disertační práci. Proto doporučuji, po uskutečnění úspěšné obhajoby, udělit Mgr. Andriy Doroshovi titul PhD.

Prof. MVDr. Jan Motlík, DrSc.