

Oponentský posudek disertační práce

Název práce: **Vliv vybraných environmentálních polutantů na gametogenezi a časný embryonální vývoj**

Autorka práce: **Ing. Tereza Fenclová**

Školitel: **Doc. Ing. Jan Nevoral, Ph.D.**

Oponent: **Mgr. Lukáš Děd, Ph.D.**

Doktorský studijní program: **Anatomie, histologie a embryologie, Univerzita Karlova,**

Lékařská fakulta v Plzni

Téma a východiska a cíle práce

Tématem předkládané disertační práce je studium vlivu vybraných látek znečišťujících životní prostředí na proces tvorby pohlavních buněk a časný embryonální vývoj na myším modelu. Znečištění životního prostředí je pokládáno za jeden z hlavních faktorů podílejících se na zhoršování reprodukčních parametrů v lidské populaci a je předmětem studia tisíců publikací a hlavním tématem několika specializovaných časopisů. Významnou skupinu environmentálních polutantů pak tvoří tzv. endokrinní disruptory, tedy látky, které interferují s humorální regulací a negativně ovlivňují funkci endokrinního systému. Autorka se pak spolu s celým výzkumným kolektivem zaměřila na dvě látky, a to sice bisfenoly S a F (BPS, BPF). Jejich předpokládaný negativní efekt při přímé a nepřímé expozici na gametogenezi a časný embryonální vývoj pak formuluje jakou svou obecnou hypotézu. Testování hypotézy je pak zahrnuto do pěti obecných cílů formulovaných na str. 25 předkládané práce.

Formální struktura práce

Z formálního hlediska je pak práce předkládána jako souhrn pěti publikací (4 již publikovaných a jedné v recenzním řízení) přiložených k shrnujícímu vlatnímu textu práce v celkové délce cca 40 stran a seznamu literatury v podobné délce. Jednotlivé práce byly publikovány v recenzovaných vědeckých časopisech s IF včetně významného časopisu v dané oblasti – *Reproductive toxicology*. Předkladatelka práce je pak první autorkou dvou původních prací (jedné již publikované a druhé toho času v recenzním řízení). Obecné výstupy jednotlivých prací a jejich konkrétní výsledky pak pokrývají všechny cíle formulované v hlavním textu práce. Ten pak tvoří samostatný literární celek vynikajícím způsobem uvádějící teoretický rámec jednotlivých publikačních výstupů, popisující jednotlivé metodiky použité k získání experimentálních dat, shrnující výsledky jednotlivých experimentů a obsahující jejich kritickou diskusi a citace použité literatury. Z formálního hlediska mám pouze námět k diskusi pro členy komise, jaká je nejvhodnější forma příloh publikačních výstupů (zde je pro oponenta zvolena nejpříjemnější forma přílohy jednotlivých publikačních výstupů přímo ve formátování vydavatele časopisu, což však může způsobovat problémy s autorskými právy) a pro autorku a školitele otázku vhodnosti použití češtiny ve vlatním textu práce, kdy by použití angličtiny stejně jako v jednotlivých publikačních výstupech umožnilo lepší propojení obou celků.

Shrnutí a závěry práce

Co se týče výstupů práce, nezbyvá než konstatovat, že předkladatelka spolu se školitelem a celým autorským kolektivem jednotlivých publikačních výstupů splnila vytyčené cíle a přinesla nová, významná zjištění v oblasti vlivu environmentálních polutantů a endokrinních disruptorů na gametogenzi a časný embryonální vývoj na myším modelu. Konkrétně pak tyto významná zjištění zahrnují negativní vliv BPS a BPF na kvalitu myších oocytů, tvorbu dělicího vřeténka, stabilitu genomu a epigenetické profily během meiotické maturace, u samců pak negativní vliv na kvalitu spermií a vznik dvouvláknových zlomů DNA v buňkách testikulární tkáně. Jednotlivé negativní vlivy pak byly přeneseny do zygot a blastocyst. K jednotlivým metodikám/výsledkům mám pak několik doplňujících dotazů na konci tohoto posudku.

Doporučení komisi

Z výše uvedeného je zřejmé, že dle názoru oponenta autorka spolu s kolektivem předložila nová, významná vědecká zjištění o vlivu environmentálních polutantů na gametogenezi a časný embryonální vývoj na myším experimentálním modelu s možným přesahem do oblasti lidské (patho)fyziologie a naplnila tak formulované cíle práce. Tato zjištění pak publikovala ve čtyřech původních článcích a jednom, který je toho času v recenzním řízení, přičemž ve dvou článcích je předkladatelka první autorkou. Jednotlivé články pak tvoří přílohy kvalitně zpracovaného vlastního textu disertační práce.

Tímto předkladatelka dle názoru oponenta splnila podmínky doktorského studijního programu *Anatomie, histologie a embryologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni* a proto komisi doporučuji přijmout předkládanou disertační práci k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení udělit předkladatelce akademický titul Ph.D.

Otázky

1. Z jednotlivých metodických přístupů použitých v předkládané práci mne zaujalo hodnocení stavu meiotického vřeténka a prosím autorku o detailní popis přístupu k hodnocení jeho malformací a popis způsobu, jakým se autorský kolektiv vypořádával s různými orientacemi vřeténka v 3D prostoru a různými fázemi jeho stavu v okamžiku fixace (zde jsem ovlivněn vlastními experimenty s holografickou mikroskopií kde pozorujeme dynamicky se měnící vzhled mitotického vřeténka v 5 minutových intervalech snímání).

2. V panelu 2, 3 publikace *Fenclova et al., 2022* mne zajímá, jakým způsobem autorka a kolektiv přistupovali k normalizaci fluorescenčního signálu z histonových modifikací, kde jejich intenzita může být celkově ovlivněna nedostatečnou výměnou histonů za protaminy po ovlivnění testikulární tkáně (především pak spermatid a spermií) endokrinními disruptory.

3. Jakým způsobem autorka a kolektiv zvolili expoziční dávky BPS a BPF? Můžeme se s příslušnými hladinami jako lidská populace setkat v běžném životě?

4. Mohou být environmentální polutanty samy o sobě příčinou infertility (tj. nikoli pouze snížené plodnosti) jedince (člověka), popř. jaký relativní podíl na jejím vzniku v kontextu ostatních vlivů autorka uvažuje?

V Praze 18.8.2022

.....
Mgr. Lukáš Děd, Ph.D.