

Oponentský posudek

na doktorandskou dizertační práci **Mgr. Xenie Štramové**, absolventky doktorského studijního programu Katedry biologických a biochemických věd, fakulty Chemicko-technologické Univerzity Pardubice, zpracované na téma: **„Stanovení profilu mastných kyselin ve fosfolipidech membrány spermií a stavu oxidačního stresu u pacientů reprodukčního centra“**

Formální stránka:

Předložená dizertační práce Mgr. Xenie Štramové má celkem 157 stran textu, včetně názorných tabulek, obrázků a grafů, které adekvátně ilustrují výsledky výzkumu. Dizertace je koncipována dle vyhlášky a je členěna logicky do jednotlivých kapitol. Celá práce je pečlivě zpracována, našel jsem pouze minimum formálních chyb.

Abecedně uspořádaný seznam použitých zkratk s podrobným vysvětlením usnadňuje orientaci v textu. Autorka celkem uvádí více než 150 citací recentní, správně citované literatury.

Přehled současného stavu vědomostí je logicky strukturován a je ucelený. Cíle dizertační práce jsou stručně a jasně formulovány. Vlastní práce je klasicky členěna na část teoretickou a kapitoly týkající vlastní výzkumné činnosti. Jazyk je srozumitelný, bez gramatických chyb. Studentka zvolila pro zpracování zadaných cílů adekvátní metodiku. Výtěžnost informací z experimentálního materiálu je dostatečná, statistické zpracování považuji za velmi dobré. Dizertační práce přinesla vypracování metodiky stanovení malodialdehydu jako předpokládaného ukazatele proběhlé peroxidace a antioxidantů u mužů navštěvující centrum pro léčbu neplodnosti a splnila stanovené cíle. Při porovnání publikovaných výsledků s literárními údaji nemám podstatnějších připomínek a považuji diskuzi za korektní a dobře formulovanou. Práce Mgr. Xenie Štramové má význam jak pro obor biologie a biochemie tak i pro obor asistované reprodukce.

Dizertace splňuje podmínky samostatné tvůrčí vědecké činnosti a také obsahuje původní a autorem publikované výsledky vědecké práce.

Připomínky:

V kapitole 2.3: nazvané mužská neplodnost je v první větě uvedena definice neplodnosti jako neschopnost početí po jednom roce nechráněného styku. Správně by mělo být uvedeno po dvou letech nechráněného, správně naplánovaného styku. Pouze u žen nad 35 let se doba z důvodu věku snižuje na 1 rok.

Kapitola 2.4.2: je uvedeno, že metoda IVF přímo umožňuje hodnotit schopnost spermií oplodnit vajíčko. Toto tvrzení není zcela přesné, protože oplození závisí nejen na kvalitě přidaných spermií ale i na zralosti vajíčka, které se před metodou IVF (na rozdíl od metody ICSI) nezbavuje kumulárních buněk tak nelze hodnotit v jaké fázi zralosti (GV, M1, M2) se právě vajíčko nachází.

Kapitola 2.11.3: Podávání antioxidantů v léčbě neplodnosti má zcela jistě dobrý teoretický základ, v praxi však přineslo rozporuplné výsledky. Citace pacientky v této sekci jsou z literatury staré více jak 10 let. V současné době ve vyspělých zemích jsou upřednostňovány metody asistované reprodukce.

K metodice stanovení jednotlivých ukazatelů a její adekvátnosti se nemohu vzhledem ke své odbornosti vyjádřit.

Na autorku mám následující dotazy:

1. Proč jste se rozhodla pro hodnocení spermatu použít starší manuál hodnocení mužského ejakulátu WHO z roku 1999 a ne recentní z roku 2010?
2. Uvádíte, že pacienti se suplementací vitamínů byly ze studie vyřazeni, jak byla zjištěna tato informace? Co uživatelé přírodních vitamínů a antioxidantů?
3. Jak si vysvětľujete, že rozdíly v hladině MDA byly bez statistické významnosti ve skupině kuřáků i nekuřáků?

Dizertační práce splnila svůj cíl. Mgr. Xenie Štramová při řešení obsahově a technicky náročné problematiky prokázala schopnost systematicky vědecky pracovat a výzkum koordinovat. Výsledky byly průběžně publikovány a přednášeny. Z výše uvedených skutečností vyplývá, že doktorandka je schopna samostatně vědecky pracovat.

Dizertační práci hodnotím kladně a **doporučuji práci k obhajobě**. Na základě úspěšné obhajoby **doporučuji Mgr. Xénii Štramové** udělení akademického titulu **doktor ve zkratce Ph.D dle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.**

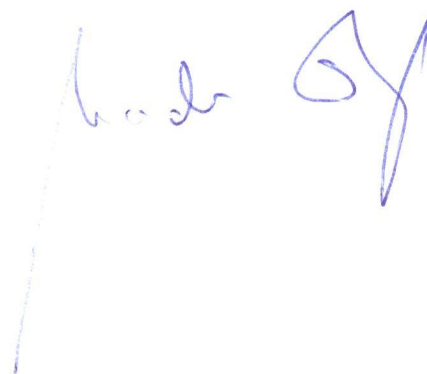
V Olomouci dne 1.12.2014

MUDr. Štěpán Machač, Ph.D.

Reprofit International s.r.o.

Hlinky 122/48 Brno

603 00



POSUDEK NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

Název práce: STANOVENÍ PROFILU MASTNÝCH KYSELIN VE FOSFOLIPIDECH MEMBRÁNY SPERMIÍ A STAVU OXIDAČNÍHO STRESU U PACIENTŮ REPRODUKČNÍHO CENTRA

Autor: Mgr. Xenie Štramová

Oponent: Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.

Předložená disertační práce má celkem 157 stran bez příloh a publikovaných prací. Z celkového rozsahu je 74 stran věnováno rozsáhlé teoretické části zabývající se mužskou neplodností, oxidačním stresem, peroxidací lipidů, malondialdehydem, a dalšími produkty lipoperoxidace související s mužskou neplodností. Na tyto kapitoly úzce navazuje rešerše metod a možností stanovení mastných kyselin, malondialdehydu, kyseliny močové a askorbové, které patří k hlavním cílům řešeného projektu. Druhá část práce popisuje experimentální metody, dosažené výsledky a závislosti naměřených hladin jednotlivých látek ve vztahu k různým skupinám pacientů dle spermioqramu a koreluje výsledky těchto stanovených látek u kuřáků a nekuřáků. Poslední část práce je tvořena velice rozsáhlou diskusí a závěrem, která je komentována na úctyhodných 15 stranách textu. Tato část široce komentuje zjištěné korelace stanovovaných komponent v seminální plazmě, ve fosfolipidech membrány spermií a jiné další parametry, které mohou souviset s mužskou neplodností a vyvozuje z ní relevantní závěry. Získané výsledky experimentů jsou prezentovány přehlednou formou tabulek a grafů s podrobnými komentáři. Text práce je zpracován návazně a velice přehledně s téměř úplnou absencí gramatických chyb a překlepů. Obsahuje veškeré podstatné náležitosti týkající se studované problematiky a umně zabíhá i do ostatních vedlejších, avšak s tématem souvisejících oblastí.

Z hlediska experimentální části je rozsah experimentů poměrně značný a pokrývá poměrně širokou problematiku. Na druhou stranu však považuji předloženou práci za velmi ucelenou a konzistentní. Dosažené výsledky jsou podloženy publikačními výstupy a prokazují systematický přístup uchazečky k řešení zadané problematiky. Z tohoto úhlu pohledu byly stanovené cíle disertační práce tj. vývoj analytických metodik a korelace získaných výsledků beze sporu naplněny.

Autorka k disertační práci přikládá celkem 9 publikací v odborných českých i zahraničních časopisech, kde na 5 z nich vystupuje jako první autor. Bohužel většina z těchto časopisů není dle mého názoru hodnocena impakt faktorem. I přesto dle mého názoru autorka standardně splňuje požadavky kladené na doktorské studium na Univerzitě Pardubice.

K disertační práci mám několik připomínek a dotazů a to zejména k analytické části:

1. Str. 68 – je možné takto obecně tvrdit, že surfaktantem používaným v technice MEKC je dodecylsulfát sodný? Jsou pro techniku MEKC vhodné i jiné typy surfaktantů?
2. Str. 85, proč byla směs pufru a ethanolu odvodušňována 2x15 min? Byl v HPLC instrumentaci používán degasser?
3. Str. 86 – u kolony LichroCART 125-4 chybí jednotky rozměru. Co znamená tvrzení že „Pro zlepšení separace byla použita druhá silnější mobilní fáze, díky níž eluovaly také méně polární interferující látky, které způsobovaly chvostování píku“? Byla hodnocena čistota píku (peak purity index), či jak bylo zjištěno, že nedochází ke koeluci zmíněných interferencí?

Posudek oponenta k disertační práci

Student: Mgr. Xenie Štramová
Školitel: doc. Mgr. Roman Kand'ár, Ph.D.
Název práce: Stanovení profilu mastných kyselin ve fosfolipidech membrány spermíí a stavu oxidačního stresu u pacientů reprodukčního centra
Pracoviště disertanta: Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

Disertační práce Mgr. Xenie Štramové je zaměřena na problematiku mužské neplodnosti a rozpoznání vlivu oxidačního stresu na tento fenomén. Svou práci vypracovala Mgr. Xenie Štramová pod vedením doc. Mgr. Romana Kand'ára, Ph.D. na Katedře biologických a biochemických věd Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice.

Považuji za nutné v počátku svého posudku zmínit fakt, že předložená práce je interdisciplinární povahy a studentka si při jejím řešení a zpracování osvojila nejen standardní znalosti z biochemie, ale i dalších disciplín včetně analytické chemie a zdravotnědných oborů. Tím je pochopitelně náročnost práce vyšší ve srovnání s úzce vymezenými pracemi.

Předložená disertační práce je sepsána na dobré odborné i stylistické úrovni. Její zaměření odpovídá problematice řešené na pracovišti, oboru i zadání. Mohu konstatovat, že studentka musela zvládnout řadu dovedností a laboratorních postupů včetně chromatografických technik a úpravy citlivého biologického materiálu, aby byla schopná své studium završit. Při pročítání disertační práce jsem nenarazil na žádné zásadní chyby či nedostatky. Naopak, celkově mohu označit disertační práci jako kvalitní vědecký text popisující původní experimentální data a srovnávající výsledky se současnou literaturou. Na druhou stranu musím zmínit i pár drobných připomínek:

- str. 84: je uvedena věta „metoda, která byla vyvinuta v naší laboratoři“. Doporučuji užívat slovo vývoj v českém odborném textu obezřetně a ve zmíněném kontextu jej nahradit např. slovy ustavena či zavedena atd. Dle definice OECD jako vývoj totiž označujeme „systematickou práci, která využívá existujících znalostí získaných výzkumem a

praktickými zkušenostmi, a která směřuje k výrobě nových materiálů, výrobků nebo zařízení, k zavedení nových postupů, systémů a služeb nebo k podstatnému zlepšení toho, co se již vyrábí nebo je zavedeno“. To však není popisovaný případ.

- Předpokládám, že postupy k tenkovrstvé a plynové chromatografii (str. 93 – 94) byly převzaty respektive založeny na starších pracích. Bylo by vhodné je zmínit formou reference.
- Rovnice popisující kalibrační závislosti (obrázky 14 – 19) by stačilo uvést za užití nižšího počtu platných číslic.

Na studentku mám následující formální dotaz: *ve své práci správně uvádíte, že nedostatek zinku a selenu může stát za neplodností. Proč je v populaci nedostatek zmíněných prvků? Existují studie popisující aktuální příjem zinku a selenu? Jaké jsou doporučené denní dávky pro selen a zinek?*

Jsem rád, že na závěr svého posudku mohu konstatovat, že disertační práce Mgr. Xenie Štramové je zdařilá. Zároveň splňuje všechny náležitosti na disertační práce kladené a tematicky odpovídá zadání. V předchozím textu zmíněné připomínky mají charakter drobných komentářů a nesnižují celkovou hodnotu disertační práce. Na základě výše uvedeného **DOPORUČUJI PŘIJMOUT** disertační práci k obhajobě ve stavu, v jakém byla předložena a po úspěšném obhájení udělit Mgr. Xenii Štramové akademický titul Ph.D.

.....
pplk. doc. RNDr. Miroslav Pohanka, Ph.D., DSc.
Fakulta vojenského zdravotnictví
Univerzita obrany v Brně
Třebešská 1575, 50001 Hradec Králové
e-mail:
miroslav.pohanka@gmail.com
tel: 720427263