



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Petry Drábkové:

Využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie v asistované reprodukci

Obsah dizertační práce koresponduje s jejím názvem a dělí se na dvě základní části. První je věnována stanovení vybraných antioxidantů v seminální plazmě mužů vyšetřovaných pro neplodnost, druhá se zabývá stanovením aminokyselin a oxokyselin v médiu při kultivaci embryí před transferem do dělohy v rámci IVF.

Práce má tradiční uspořádání. V teoretickém úvodu autorka podává stručný přehled vývoje mužských a ženských zárodečných buněk a oplození s akcentací na časný vývoj embrya. Věnuje se zde oxidačnímu stresu jako možné příčině neplodnosti mužů a úloze antioxidantů při zrání spermií a prevenci jejich poškození. Poukazuje zde na problematiku kultivace embryí, význam složení kultivačního média pro zdárný vývoj embrya. V úvodu jsou rovněž uvedeny metodické postupy umožňující stanovení vybraných látek v seminální plazmě mužů a v kultivačním médiu embryí.

Cíle práce jsou jasně definovány, experimentální část práce je věnována popisu zpracování a hodnocení vzorků v Centru asistované reprodukce, jehož výsledky jsou rovněž v práci zahrnuty, a vlastním metodickým postupům pro HPLC analýzu. Výsledky jsou srozumitelně popsány a ihned okomentovány v kontextu s aktuálními literárními poznatky studované problematiky.

Je třeba ocenit, že práce reaguje na současné problémy v reprodukční medicíně a hodnocené parametry dává do kontextu s klinickými výsledky. Zpracování vzorků před měřením respektuje nejen všeobecné požadavky zvolených analýz, ale i specifitu provozu klinických laboratoří. Autorka díky zavedeným metodikám měření přináší nové výsledky, které poukazují na závislost hladiny kyseliny askorbové v seminální plazmě na věku pacienta, počtu a koncentraci spermií a nepotvrzují diskutovaný vliv kouření na spermiogram pacienta, ani na hladiny měřených antioxidantů v seminální plazmě. Studium hladin aminokyselin v kultivačním médiu embryí poukazuje na vyšší obrát aminokyselin u vyvíjejících se embryí a dokumentuje rozdíly aminokyselin mezi dělicími se a nedělicími se embryi. Práce tak rozšiřuje dosavadní informace o možných metabolických změnách jako indikátoru stavu embrya. Úroveň práce se ještě zvyšuje díky porovnání výsledků metabolických změn embrya s jeho morfokinetickými změnami, hodnocenými v Centru asistované reprodukce. Vzhledem k tomu, že se jedná o vysoce specifickou problematiku a poměrně nové téma, je velice těžké výsledky interpretovat, ale autorka se s tímto úkolem vypořádala a prokázala schopnost pracovat s literárními zdroji.

K formální, ani jazykové stránce práce nemám výhrady.

K práci mám následující dotazy a připomínky:

Co vás vedlo k výběru sledování změn aminokyselin jako metabolického indikátoru vývoje embrya?

U měření hladiny kyseliny askorbové a močové je celkový počet zařazených pacientů 105, z toho 29 kuřáků a 71 nekuřáků. Do jaké kategorie spadá zbylých 5 pacientů? Při měření retinolu a α -tokoferolu jsou pacienti rozděleni jen do kategorie kuřáků a nekuřáků. Čím vznikla tato disproporce?





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

V tabulce 15 a 20 jsou porovnávány naměřené parametry mezi kuřáky a nekuřáky. Mezi těmito parametry je i BMI, které se zde ve studii mezi kuřáky a nekuřáky neliší. Očekávali jste nějaké rozdíly, jsou v literatuře popisovány? Zajímavé by mohlo být ověření vztahu BMI a spermogramu. Existují údaje v literatuře?

Na str. 110 uvádíte, že u embryí, která se přestala dělit, zůstaly po kultivaci některé aminokyseliny včetně glycinu a taurinu v médiu nezměněné. Následně zmiňujete zvýšení koncentrace některých aminokyselin včetně glycinu a taurinu u dělících se i nedělících se embryí. V tabulce 5 však není zvýšení těchto kyselin u nedělících se embryí potvrzeno.

V grafu A uvedeném pod obrázkem 19 se skutečně jedná o obrat aminokyselin nebo uvádíte spotřebu aminokyselin (negativní hodnoty) a produkci aminokyselin (pozitivní hodnoty)? Mohla byste specifikovat pojem rovnováha uvedený v grafu C?

Na str. 115 uvádíte zvýšené uvolňování glutaminu, glycinu a taurinu do média u embryí s vyšší fragmentací. Byly tyto fragmentace přítomny v obou skupinách - vyvíjejících i nevyvíjejících se embryí nebo převažovaly v jedné z nich?

Jak se díváte na možnost rutinního využití metod HPLC s UV nebo fluorescenční detekcí pro účely měření parametrů v asistované reprodukci vzhledem k časové náročnosti?

Závěrem je třeba konstatovat, že autorka ve své dizertační práci prokázala schopnost samostatně vědecky pracovat, doporučuji proto přijetí dizertační práce k obhajobě.

doc. MUDr. Halka Lotková, Ph.D.
Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Ústav fyziologie
Šimkova 870
500 38 Hradec Králové

V Hradci Králové 1. 4. 2016

