Oponentský posudek doktorské disertační práce
Mgr. Jany Vítků
„Vliv vybraných endokrinních disruptorů na lidskou spermatogenezi“

Endokrinologické mechanismy, jimiž exogenní látky jak přírodního tak syntetického původu mohou ovlivňovat zdraví celých populací řady živočišných druhů (včetně *Homo sapiens*), začaly být rozkrývány před poměrně dlouhou dobou (např. goitrogeny 1928, fytoestrogeny 1949). V souvislosti s technickým rozvojem byly ve druhé polovině dvacátého století opakovaně zaznamenány původně netušené efekty látek, které uspokojivě prošly toxikologickými testy a díky svým výhodným technologickým vlastnostem byly produkovány a uvedeny do prostředí ve značných objemech. Pojem „endokrinní disruptor“ byl definován již téměř před čtvrt stoletím. Mechanismus mnoha jevů byl řádně prozkoumán, řada látek byla stažena z výroby. Přesto zde zůstává mnoho neprobádaných souvislostí. Disertační práce Mgr. Jany Vítků rozšiřuje poznatky a metodologii využitelnou na tomto poli.

Samotný text disertace má bez seznamu literatury 38 stran, je psán kultivovanou češtinou, byť s drobnými neobratnostmi v překladu některých termínů z angličtiny a občasnou nekonzistentností v psaní termínů tam, kde pravidla českého jazyka umožňují dvojí pravopis (viz níže). Text je přehledným a vcelku čtivým komentářem k souboru deseti publikací, z nichž šest bylo uveřejněno v časopisech evidovaných databází Web of Science a další tři evidované databází Scopus.

Literární přehled členěný do šesti podkapitol seznamuje čtenáře na 20 stranách se základními pojmy z oblasti endokrinních disruptorů, jakožto látek exogenního původu schopných nepříznivě ovlivňovat endokrinní systém a jeho prostřednictvím fyziologické funkce organismu, tak jak byly definovány Environmetal Protection Agency, s mechanismy účinku vybraných endokrinních disruptorů (bisfenol A, polychlorované bifenyly) a jejich vlivem na steroidogenezi a spermatogenezi. Nechybí ani stručný náhled do legislativy spojené s endokrinními disruptory.

Metodická část práce využívá skutečnosti, že vlastní postupy jsou detailně publikovány v přiložených časopiseckých publikacích, je proto jen stručným třístránkovým souhrnem, v němž autorka souhrnně charakterizuje 1) Skupiny probandů – účastníků publikovaných studií; 2) metodiku sběru vzorků; 3) používané standardy a další chemikálie; 4) použité analytické metody; 5) metody statistického vyhodnocení získaných dat.

Na dalších 12 stranách v oddílu VÝSLEDKY disertantka podává přehledný komentář vlastních výsledků, jenž články, které jsou přílohou publikace, propojuje do jednoho logického celku. Tři publikace jsou zaměřeny na vývoj validovaných metodik paralelního stanovení řady steroidů v tělních tekutinách (plasma, seminální plasma) metodami UHPLC-MS/MS. Vzhledem k nárokům na citlivost metod při dostupné instrumentaci bylo nutné použít derivatizaci vzorků. Jako derivatizační činidla se osvědčily 2-hydrazinopyridin pro ketosteroidy a dansylchlorid pro estrogeny a bisfenol A. Autorka věnovala důkladnou pozornost riziku zkreslení výsledků prostřednictvím kontaminace bisfenolem A z běžně používaných laboratorních plastů. Pro část analýz proto byly všechny preanalytické kroky prováděny s použitím výhradně skleněných pomůcek.

Další publikace se pak věnují měření řady parametrů v plasmě a seminální plasmě u probandů ze skupiny 191 mužů – klientů Centra asistované reprodukce. Část souboru zahrnovala muže-normospermiky (problém plodnosti páru byl na straně partnerky), tito muži tvořili kontrolní skupinu pro srovnání parametrů naměřených u mužů s poruchou spermatogeneze, rozdělených podle výsledku spermiogramu do čtyř skupin. Vzhledem k množství získaných dat byla nutná důkladná statistická analýza, jež hodnotila korelace jednotlivých analytů v daném kompartmentu navzájem, korelace plazmatických a seminálních koncentrací a dále jejich možný vztah k jednotlivým úrovním steroidogeneze a spermatogeneze.

Autorka na základě důkladného vyhodnocení statisticky významného počtu probandů dospěla k závěru, že u studované populace mužů z České republiky nemají environmentální koncentrace PCB pozorovatelný vliv na kvalitu spermií, PCB v plazmě však negativně korelují s hodnotami testosteronu a dihydrotestosteronu v krevní plazmě. Naproti tomu koncentrace bisfenolu A v seminální plazmě negativně korelovala s počtem a kvalitou spermií. Získaná data nepotvrdila výchozí hypotézu o ovlivnění aktivity 11b hydroxysteroidové dehydrogenázy prostřednictvím BPA a PCB.

Komentář k formulačním a jazykovým neobratnostem:

str. 6: PPARγ správnější slovosled českého překladu by řecké písmeno γ přiřadil ke slovu receptor (proliferátory peroxisomů aktivovaný receptor γ)

str. 10: endokrinní disruptory byly definovány v roce 1992, formulace „*nyní se ukázalo, že mnoho z nich má schopnost zasahovat do endokrinního systému...*“ (řádek 4.) je zjevným anachronismem

str. 11, str 20: *f*enyl i *f*enol se v českém jazyce i ve složených slovech píší s *f*, nikoli s *ph*

str. 18: biosyntézu steroidů (nikoli steroidní biosyntézu, druhý řádek zdola)

str. 20: me*th*yl, e*th*yl – ačkoli současná pravidla připouštějí dvojí úzus psaní slov, v jejichž pravzoru se vyskytuje řecká hláska θ (theta), tj. konzervativní *th* i progresivní *t*, v chemických textech je vhodnější používat ten první. Rozhodně však v celém textu ve všech výskytech jenom jeden.

str. 24: mravenčan amonný: *formiát*, nikoli *formát*

str. 34: shoda podmětu s přísudkem: hladiny.. byl*y* nižší (nikoli byli);

str 35: dtto, studie nepotvrdil*y*

Otázky pro doktorandku:

1. Sama jste ověřila, že použitý plast při manipulaci se vzorky neovlivňuje hodnoty analýz bisfenolu A – tedy že eluce BPA z použitých plastů do vodného média je zanedbatelná. Mohla byste ve světle tohoto zjištění diskutovat možné zdroje expozice populace bisfenolu A?

2. Soubor probandů charakterizovala mírná nadváha (průměr BMI 27,2), někteří byli obézní. Je známa nějaká souvislost mezi BMI a sníženou plodností či mezi BMI a akumulací PCB nebo BPA?

3. Jsou vám známy z literatury nebo z vlastních měření nějaké konkrétní potravinové zdroje zvyšující riziko expozice BPA nebo PCB?

Závěr:

Disertační práce Mgr. Jany Vítků je podle mého názoru na vysoké odborné úrovni a její autorka plně prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce. Doporučuji proto, aby její práce byla komisí pro obhajoby přijata k obhajobě a po jejím úspěšném absolvování autorce udělena vědecká hodnost doktor.

V Praze 25. ledna 2015

Prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík
Ústav chemie přírodních látek
VŠCHT, Technická 5
166 28 Praha 6