

Oponentský posudek disertační práce Ing. Hany Rodinové „Vliv zkrmování různých forem selenu na úroveň plazmatických bílkovin a aktivitu glutathionperoxidázy u ovcí a jehňat“

Práce Ing. Hany Rodinové se zabývá zkoumáním anorganické a organické formy selenu z hlediska vlivu na plazmatické bílkoviny a glutathionperoxidázu u ovcí. Anorganickou formou selenu byl seleničitan sodný a organickou byla selenizovaná řasa *Chlorella*.

Téma vlivu selenu na fyziologické parametry přežvýkavců je významné vzhledem k tomu, že v rozsáhlých oblastech České republiky je selenu nedostatek a selen je nepostradatelným stopovým prvkem.

V teoretické části práce jsou popsány biologické funkce selenu, selenoproteiny, a podrobným způsobem jsou uvedeny jeho antioxidační funkce.

Pokusnými zvířaty bylo 15 březích ovcí a narozená jehňata, u kterých byly zjišťovány nejen koncentrace selenu v krvi, ale i aktivita glutathionperoxidázy, bílkovinné frakce plazmy, koncentrace Ig u bahnic i jehňat, rovněž i hmotnost a plodnost. Metodická část práce popisuje příslušné laboratorní postupy.

Biologický účinek prokázaly obě formy selenu, přičemž organická forma v podobě selenizované řasy *Chlorella* byla v některých ohledech účinnější. Z výsledků vyplývá, že použití anorganické formy selenu nelze zcela zamítnout, protože např. koncentrace selenu v krvi bahnic nebyla výrazně nižší než u organické formy. V úvahu je možno brát nižší cenu seleničitanu a také možnost zvýšit jeho koncentraci v krmivu. Koncentrace Se v popsáném pokusu (180 µg/kg) byla hluboko pod přípustným limitem EU (500 µg/kg).

Pokus lze hodnotit jako dobře provedený, přesto lze uvést několik připomínek a dotazů, zejména tyto:

- dle názoru oponenta počet zvířat ve skupinách měl být vyšší a skupiny měly být vyrovnané tak, aby před pokusem nebyly signifikantní rozdíly v parametrech, které budou sledovány. Např. koncentrace selenu v krevním séru bahnic.
- *Chlorella* je netradičním novým zdrojem Se ve výživě zvířat, není však dosud uznaným komerčně dostupným krmným doplňkem. Z tohoto pohledu by bylo metodicky správné mít ještě jednu skupinu ovcí se selenizovanými kvasinkami (Sel – Plex).
- metodika je popsána příliš stručně a doba odběru krve u narozených jehňat není přesně definována (např. první odběr se uskutečnil ve věku 1±1 den, což koncentraci Ig G velmi ovlivní a srovnání skupin zkreslí (graf 20)
- přínosné by bylo znát obsah selenomethioninu v řase *Chlorella*, neboť v abstraktu citované práce Larsen a kol. není selenomethionin mezi selenovými aminokyselinami řasy uveden (pouze poznámka)
- složení krmné dávky uvést tabulkou, nejen komponenty, ale i živinové složení.
- složení MKP je v tab. 7 vztaženo na 6 g, což orientaci v složení krmné dávky ztěžuje.

- uvést výrobce MKP
- uvést typ fluorimetru a způsob mineralizace vzorků při stanovení Se (str. 37)
- jaká je perspektiva využití selenizované *Chlorelly* (v EU je povolený jako zdroj organického selenu jen Sel - Plex)

Dílejší připomínky jsou následující:

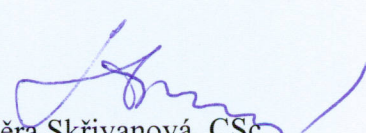
- termín „selenoproteinové izotopové varianty“ na str. 7 je neobvyklý. Zřejmě jsou míněny různé selenoproteiny.
- Tab. 1 jednotka aktivity „U“ by měla být definována
- Tab. 2 chybí jednotky koncentrace bílkovin (g/l).

Se závěry práce uvedenými v souhrnu na str. 74-76 je možné souhlasit. Práce vychází z dostatečného počtu literárních pramenů, které jsou vhodným způsobem diskutovány.

Disertační práce představuje přínos pro praxi a rozšiřuje naše poznání o doplňku selenu v krmných dávkách ovcí.

Práci doporučuji k obhajobě a v případě jejího úspěchu k udělení vědecké hodnosti Ph.D.

V Praze dne 14.10.2008


Doc. Ing. Věra Skřivanová, CSc.

OPONENTSKÝ POSUDEK
na disertační práci Ing. H a n y R o d i n o v é
"Vliv zkrmování různých forem selenu na úroveň plazmatických bílkovin a aktivitu
glutathionperoxidázy u ovcí a jehňat"

Zvolené téma uvedené práce je velmi aktuální a může velmi významně přispět ke zlepšení zdravotního stavu tohoto druhu zvířat.

Disertační práce je zpracována na 97 stranách textu, 32 tabulkách v textu a 22 výstižných grafech. Doktorandka použila v práci 180 literárních pramenů. Práce je napsána srozumitelně na dobré stylistické úrovni. Obsahuje výstižný úvod do problematiky a rozsáhlý literární přehled, který zahrnuje světové citace. Oceňuji, že byly použity nejnovější údaje ze světových časopisů.

Literární přehled je rozčleněný na 2 kapitoly a 4 podkapitoly, které vhodným způsobem připravují čtenáře na experimentální část a dokladují, že se autorka dokonale orientuje v současné literatuře.

Část Cíle je velmi stroze napsaná a měly tady být napsané jasné hypotézy, ze kterých by vyplynulo statistické hodnocení. Žádám doktorandku, aby je zformulovala a ústně na obhajobě přednesla.

Část "Materiál a metody" je podrobně a pečlivě napsaná, v rozsahu, jaký se požaduje pro doktorandskou práci. Postrádám jen podrobnější popis ustájení. Jaká plocha v kotci a ve výběhu připadala na jednu ovci? Jakým způsobem byly ovce rozdělovány do skupin? Nebyl mezi živou hmotností ovcí na začátku experimentu a dva měsíce po porodu statisticky průkazný rozdíl? Měla data normální (parametrické) rozložení? Je napsáno, že se použila ANOVA. Na co se použil Tukeyův HSD test? Jaká metoda se použila pro výpočet korelací (Spearmanova anebo Pearsonova)? Není to uvedeno. Byly rozdíly v živé hmotnosti mezi skupinami na začátku experimentu a po dvou měsících průkazné (tab. 6)?

Výsledky jsou přehledně napsané a dobře dokumentované tabulkami a grafy. Oceňuji, že autorka komentovala výsledky jednotlivých sledování stručně a výstižně, že se zaměřila jen na podstatné a průkazné zjištění. Je dobře, že autorka uvádí ve statistickém hodnocení i mediány, mohla by vysvětlit, proč určovala i kvantily? Čím se dá vysvětlit záporný vztah mezi obsahem albuminů a γ globuliny u jehňat (tab. 32)?

Diskuse, která je spojena s částí Výsledky je dostatečně rozsáhlá a autorka dobře rozebírá, vysvětluje a porovnává svoje výsledky se světovou literaturou. Rozsah je adekvátní k získaným poznatkům.

V Závěru jsou vhodně vyjádřené získané poznatky a zároveň je poukázáno na další experimentální ověřování. Mohla by autorka ještě ústně vyjádřit vlastní teoretický přínos práce a význam zjištěných výsledků pro praxi?

ZÁVĚR

Disertační práce řeší nejen velmi aktuální problémy chovu ovcí, ale rozšiřuje i všeobecné fyziologické vědomosti. Je komplexně zpracovaná.

Autorka splnila stanovené cíle, vhodnými postupy získala cenné poznatky. Prokázala znalosti v použití mnoha metod.

I když to celkem nesouvisí s hodnocením dizertační práce, musím vyjádřit uznání doktorandce, že už publikovala tři impaktované články, z toho jeden jako první autorka.

K práci nemám závažné připomínky. Ty, které uvádím, slouží jen k doplnění, případně upřesnění textu a zvláště pro publikování výsledků.

Práci doporučuji k obhajobě a po jejím obhájení navrhuji udělit Ing. Haně Rodinové vědecko-akademickou hodnost „philosophiae doctor“ (PhD.) ve vědním oboru Obecná zootechnika.

V Nitře, 22.9. 2008

Doc. Ing. Jan Brouček, DrSc.
Výzkumný ústav živočišné výroby
Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu
Nitra



OPONENTSKÝ POSUDEK

Na dizertační práci Ing. Hany Rodinové „ Vliv zkrmování různých forem selenu na úroveň plazmatických bílkovin a aktivitu glutathionperoxidázy u ovcí a jehňat“

**Oponent: Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc.
VFU Brno**

Předložená dizertační práce je vědecký spis zaměřený na studium vlivu suplementace selenu na bílkoviny krevní plazmy a aktivitu glutathionperoxidázy u ovcí a jehňat. Je sepsána v rozsahu 98 stran, obsahuje 32 tabulek, 22 přehledných grafů a 180 citací literatury.

Zvolené téma je velmi aktuální, protože řeší problémy související s relativně často se vyskytující karencí selenu u přežvýkavců a zdravotními problémy, které deficit selenu navozuje a poukazuje na možnost uplatnění sladkovodní řasy rodu *Chlorella*, jako zdroje organické formy selenu v prevenci jeho karence.

Práce má jasně vymezený cíl a směřuje k vědeckému zhodnocení vlivu organické a anorganické formy selenu na parametry plazmatických bílkovin a aktivitu glutathionperoxidázy v krvi ovcí a jehňat.

Disertační práce je požadovaným způsobem členěna. V úvodní části a v přehledu literatury je poukázáno na význam selenu, jeho biologické funkce a stručně je charakterizován jeho metabolismus a vztah k imunitě. Na základě studia zahraniční i domácí literatury je charakterizována role selenu a selenoproteinů v metabolismu savců, jeho vztah k imunitním reakcím a je poukázáno na poruchy související s deficitem selenu. Stručně je popsána toxicita selenu. Pozornost je věnována i základním proteinům krevní plazmy, jejich významu v organizmu a jejich vztahu k imunitě.

Cíl disertační práce je formulován jednoznačně.

V části materiál a metodika je podána charakteristika pokusných zvířat, jejich výživa, skladba krmné dávky, metoda odběru krve a časový harmonogram odběrů. Jsou uvedeny metody stanovení selenu, aktivity glutathionperoxidázy, celkové bílkoviny krevní plazmy, bílkovinných frakcí a IgG v krevním séru. Rovněž je uvedena metoda statistického zpracování získaných dat.

Výsledky a diskuze tvoří jednu část spisu. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách a jednotlivých grafech, jsou přehledné, dobře komentované a správně interpretované. Jsou diskutovány s údaji domácích i zahraničních autorů.

Vlastní výsledky jsou srovnávány s pohledu použití různých forem selenu, je hodnocen a srovnáván efekt suplementace organické a anorganické formy selenu a to ve srovnání s kontrolní skupinou a ve vztahu k průběhu gravidity, porodu a poporodního období. Značná pozornost je věnována vlivu dotace selenu v uvedených formách na koncentraci selenu

v krevním séru jehňat bezprostředně po narození, třetí, desátý a třicátý den věku. Stejně je hodnocen vývoj aktivity glutathionperoxidázy a parametry sledovaných bílkovin a jejich frakcí. Z výsledků vyplývá, že suplementace selenu ovlivnila koncentraci selenu v krvi bahnic, přičemž byl zaznamenán vliv stádia gravidity a porodu na koncentraci selenu v krvi. Fundovaná diskuse poukazuje na rozdílné výsledky různých autorů v některých experimentálních sledováních, ale upozorňuje na řadu shodných výsledků a tím podporuje vlastní dosažené výsledky.

Disertační práce prokázala, že suplementace selenu bahnicím zvyšuje jeho koncentraci v krvi, dlouhodobě ovlivňuje aktivitu glutathionperoxidázy. Ve srovnání s kontrolními bahnicemi byla aktivita GHS-Px 1,6, respektive 1,5 krát vyšší u bahnic pokusných skupin. Dotace selenu pozitivně ovlivnila i aktivitu GHS-Px i v krvi jehňat. Ve srovnání s kontrolní skupinou byl zjištěn významný rozdíl. Rozdíl byl zaznamenán i s ohledem na formu selenu. Dotace organické formy se projevila vyšší aktivitou GHS-Px. Dotace selenu však neovlivnila koncentraci bílkovin a jejich frakcí v krevním séru bahnic, měla však pozitivní vliv na koncentraci celkové bílkoviny a IgG v krevním séru jehňat. Výrazněji se uplatnila dotace organické formy selenu.

Dotazy

- byla stanovena koncentrace kadmia ve zkrmovaných řasách a jak mohla ovlivnit metabolismus selenu ?
- jaká byla variabilita koncentrace hemoglobinu v krvi sledovaných zvířat?
- jaký je rozdíl v koncentraci selenu v plné krvi a krevní plazmě?
- Co lépe ukazuje na úroveň zásobení organismu selenem. Koncentrace selenu v plné krvi nebo krevní plazmě?
- čím si vysvětlujete značnou variabilitu v koncentraci plazmatických bílkovin – tab. 14
- pozoruhodné je zjištění pozitivního vlivu dotace selenu v organické formě na plodnost bahnic. Jak si tento efekt vysvětlujete?
- jaké další možnosti suplementace selenu u ovcí a skotu má chovatel v současné době?
- Jakou autorka doporučuje optimální dávku selenu pro bahnice a jehňata.

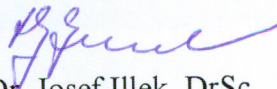
Celkové hodnocení.

Předložená disertační práce je po věcné i formální stránce velmi kvalitně zpracována, vychází ze sledování, které je provedeno na dostatečném počtu zvířat. Při sledování byly použity odpovídající metody a moderní analytická technika. Závěry práce odpovídají dosaženým výsledkům.

Disertační práci hodnotím velmi kladně. Autorka prokázala výborné teoretické i praktické znalosti, plně zvládla metody vědecké práce, má výbornou orientaci ve vědecké literatuře. Vysoce hodnotím publikační aktivitu autorky a její prezentace na konferencích.

Práci doporučuji přijat k obhajobě a po úspěšné obhajobě doporučuji dle platných předpisů udělit Ing. Haně Rodinové titul Ph.D.

V Brně dne 20.10.2008


Doc.MVDr. Josef Illek, DrSc.