

OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorské disertační práce MUDr. Jiřího Uhlíka “ Vliv různých experimentálních, diagnostických a terapeutických zásahů na buňky epitelu dýchacích cest

Doktorská disertační práce MUDr. Jiřího Uhlíka: „ Vliv různých experimentálních, diagnostických a terapeutických zásahů na buňky epitelu dýchacích cest“ byla vypracována v rámci doktorandského studia na Ústavu histologie a embryologie 2 lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze pod vedením školitelky Prof.MUDr. Václavy Konrádové,DrSc. Disertace vznikla s podporou Grantové agentury Univerzity Karlovy v Praze a celý výzkum byl součástí Výzkumných záměrů MŠMT ČR.

Disertace byla předložena v českém jazyce v jednom vázaném svazku o 171 strojopisné straně, v nichž je vloženo 95 velkých elektronogramů a 16 tabulek. Práce je rozdělena do 5 rozsáhlých a logických kapitol. Poslední kapitola zaujímá výčet použité literatury, obsahující 245 citací většinou moderní zahraniční literatury, ale také 28 autorových publikací, z nichž je u 8 Uhlík prvním autorem. a 20 dalších je většinou druhým spoluautorem. Tyto práce byly publikovány většinou v impaktovaných časopisech. Disertace důstojně navazuje na rozsáhlé experimentální studie epitelu dýchacích cest při vlivu škodlivin, řešených na Ústavu histologie a embryologie 2 LF UK v předchozích letech, v níž si toto pracoviště získalo svými dosavadními výsledky mezinárodní respekt.

Není nejmenších pochyb, že předložená disertace řeší vysoce aktuální problematiku morfologických změn v důsledku působení zevních podmínek na výstelku nejexponovanějších míst ve strategicky nejdůležitější oblasti všech suchozemských organismů. Lze důvodně předpokládat, že antigenní složení zevního prostředí působí nejen na jedince v jeho ontogenetickém vývoji, ale že právě změny tohoto složení jsou zodpovědné za evoluční vývoj živých organismů, v našem případě člověka. Vedle výstelky trubice trávicí si nelze představit významnější oblast přímého styku organismu se stále se měnícím zevním prostředím.

Autor vychází ze svých předešlých prací a prací svého pracoviště a přejímá z nich metodiku svého dnešního výzkumu, zvláště způsob kvantitativního hodnocení ultrastrukturálních nálezů.. Pokusným zvířetem je mu králík, jehož stavba výstelky dýchacích cest je podle jeho názoru nejbližší z pokusných objektů k člověku. Autor rozšiřuje původní svůj výzkum stavby tracheálního epitelu na dosud málo studovanou výstelku terminálních bronchiolů, v níž jsou sekreční pohárkové buňky nahrazovány tzv. Clara buňkami.

V první úvodní kapitole probírá stručně literární historii výzkumu výstelky dýchacích cest a věnuje se zvláště otázce Clara buněk a jejich sekrečních produktů (zvl. proteinu CC10) s imunosupresivními, protizánětlivými a antioxidačními účinky a upozorňuje také na skupinu proteinů, které jsou (jako u pneumocytů II) součástí surfaktantů. Autor vymezuje cíle práce, jimiž jsou kvantitativní a kvalitativní hodnocení ultrastruktury výstelky terminálních bronchiolů, se zvláštním zřetelem na Clara buňky po působení různých druhů noxy, zvl. látek klinické důležitosti.

Druhou kapitolu věnuje autor „Materiálu a metodice“. Ke svému výzkumu použil celkem 42 králíků, které podrobil experimentálnímu zásahu různými noxami. Operace prováděl v celkové anestézii a tkáňové vzorky ze stejných oblastí zpracovával běžnými metodami elektronové mikroskopie. Na preparátech se zaměřil na poměrné zastoupení jednotlivých druhů buněk v epitelu terminálních bronchiolů a na morfofunkční stav Clara buněk. Statistické údaje hodnotil ve spolupráci s matematickými odborníky.

Třetí kapitola je nejzávažnější a je věnována „Výsledkům a diskusi“. Autor ji rozdělil do sedmi subkapitol, v nichž studuje ultrastrukturu výstelky terminálních bronchiolů nejprve v normě u kontrolních jedinců, u nichž popisuje podrobně ultrastrukturu řasinkových a Clara buněk. V epitelu terminálních bronchů králíka však neuvádí jak nediferencované buňky basální, tak ani neuroendokrinní buňky (Kultschitzkého), známé z bronchiolů člověka. Podrobně pak popisuje změny po účinku experimentálních zásahů, tj. vlivu aplikací acetylcholinu, adrebalinu, spasmolytik, mukolytik nebo hypoxie na výstelku bronchiolů.

Čtvrtou kapitolu věnoval autor závěrům, v nichž shrnuje výsledky působení jednotlivých experimentů z předchozí kapitoly, jakož i srovnání výsledků současného studia výstelky terminálních bronchiolů s předchozími studiemi výstelky tracheální.

Pátá kapitola je věnována na 17 stranách výčtu použitého písemnictví.

Z disertace vyplývá, že účinek všech experimentálních zásahů na výstelku terminálních bronchiolů králíka nijak výrazně nezměnila poměr v distribuci sledovaných řasinkových a Clara buněk proti kontrole. Sekreční aktivita Clara buněk byla však výrazně zvýšena ve skupině zvířat jimž bylo podáno spasmolytikum, ale také u králíků v hypoxii a vzápětí po podání acetylcholinu. Překvapivě nenápadná byla reakce výstelky bronchiolů oproti trachey na podání mukolytik. Velmi zajímavé je zjištění, že neurohumorální regulace sekrečních buněk je značně odlišná v různých úsecích dýchacích cest, jak prokazuje autor na nevýrazné změny po aplikaci adrenalinu proti silné reakci pohárkových buněk ve výstelce trachey. Autor při srovnání distální a proximální části dýchacích cest zdůrazňuje rozdílnou reakci obou druhů sekrečních buněk na stejné experimentální podněty. Zatímco u pohárkových buněk trachey došlo k rychlé stimulaci sekrece s následnou degenerací, Clara buňky reagovaly méně nápadně a jen vzácně degenerovaly.

Tolik tedy k výsledkům předložené disertace. Je jistě možno pochválit autora za perfektní fotodokumentaci a precízní morfo-funkční rozbor Clara buněk a buněk řasinkových. Je také nespornou zásluhou autora, že se věnoval vedle jistě velmi důležitých nox také dosud méně známým vlivům hypoxie na buňky výstelky distálních dýchacích cest. Je ovšem jen přirozené, že čtenáře celého díla napadá řada doplňujících poznámek a otázek k výsledkům autorova výzkumu. Po stránce obsahové nelze disertaci vytýkat nějaké chyby v interpretaci jeho studií – konečně řada dílčích výsledků byla přednesena na odborných sjezdech a publikována v seriosních časopisech, kde a prošla recensním řízením odborníků. Přesto si oponent dovoluje z důvodů diskusních předložit některé dotazy.

1. Především jde o normální buněčnou skladbu epitelu terminálních bronchiolů králíka. Chybí tu skutečně vymezené basální buňky a jsou Clara buňky tak pluripotentní, že jsou schopny jak mero-, tak i apokrinní sekrece a mohou se diferencovat dokonce v buňky řasinkové?

2. Lze považovat paralelně uspořádané cisterny granuárního endoplasmatického retikula Clara buněk za multilamelární tělíška, produkující stejně jako u pneumocytů II surfaktant ?

3. Jsou buňky difusního neuroendokrinního systému ve studovaném epitelu králíka tak vzácné, že je autor neuvádí v normě a diagnostikuje jen u hypoxických pokusů, čímž zřejmě dokládá, že tyto buňky hrají chemoreceptivní kontrolu dýchacích plynů.

4. Je možno srovnávat situaci bronchiolů u hypoxického králíka se situací u kuřáka?

Z našeho krátkého výčtu výsledků a poznámek však nevyplývá, kolik mravenčí práce autor musel vynaložit, aby v záplavě stovek preparátů dospěl k předloženým závěrům. Práce je psána s precizní pečlivostí a dobrou češtinou. Zaslouhovala by si proto překlad celého textu do cizího jazyka. V tom případě bych doporučoval ještě doplnit text o odpovědi na výše uvedené dotazy..

Závěr

Předložená doktorská disertace MUDr Jiřího Uhlíka: „Vliv různých experimentálních, diagnostických a terapeutických zásahů na buňky epitelu dýchacích cest“ je dílo, které značně rozšiřuje naše dosavadní znalosti o zkoumané oblasti a je tedy významné zvláště z hlediska obecně morfologického, ale i klinického. Autor prokázal schopnost k samostatné vědecké práci, která mu umožnila dosáhnout některých prioritních výsledků a obohatit tak naši i světovou odbornou literaturu. Z těchto důvodů oponent doporučuje přijmout předloženou disertaci po její obhajobě jako podklad pro další doktorské řízení

V Plzni dne 1.8..2007.

Prof.MUDr.RNDr.Jaroslav Slípka,DrSc