



**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**2. lékařská fakulta**

**Oční klinika dětí a dospělých**

**V Úvalu 84, 150 06 Praha 5**

**přednostka: Prof. MUDr. Dagmar Dotřelová, CSc.**



**tel.: 22443 2700, fax: 22443 2720**

**e-mail: dagmar.dotrelova@lfmotol.cuni.cz**

## **OPONENTSKÝ POSUDEK DIZERTAČNÍ PRÁCE**

**Autor práce: MUDr. Gabriela Mahelková**

**Téma práce: Oxidační poškození rohovky a čočky.**

**Pracoviště: Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta, Ústav fyziologie**

Předložená dizertační práce se zabývá působením volných radikálů na tkáň oční rohovky a čočky a některými dalšími vlivy na proliferaci buněk čočkového epitelu, která hraje významnou roli při vzniku sekundární katarakty jako nejčastější komplikace chirurgie šedého zákalu v humánní medicíně. Obecně je zvolené téma již dlouho intenzivně zkoumáno v globálním měřítku jako trvale aktuální problém a dílčí aplikace na problematiku sekundární katarakty může být dalším přínosem praktickému řešení této časté komplikace.

Po úvodních kapitolách pojednávajících o roli reaktivních sloučenin kyslíku a dusíku v organismu včetně změn rohovky v podmínkách hypoxie a vlastnostech oční čočky a patogenezi sekundární katarakty stanovuje autorka 3 cíle své experimentální práce:

- 1) stanovení vlivu hypoxie na změny extracelulární matrix rohovky
- 2) stanovení vlivu kultivačního podkladu na proliferaci buněk čočkového epitelu a expresi alfa-aktinu hladkých svalových buněk
- 3) stanovení vlivu oxidantů a antioxidantů na proliferaci buněk čočkového epitelu

Následuje hlavní a nejrozsáhlejší stať prezentující vlastní experimentální práci, kde jsou postupně výše uvedená cílová témata zpracována v klasické konfiguraci: materiál a metody, výsledky a diskuse.

Ad cíl 1) Expozice hypoxii v atmosféře s 10 % kyslíku neprokázala radikálové poškození rohovky na rozdíl od jiných studií provedených zejména na vaskularizovaných tkáních. V diskusi autorka odpovídajícím způsobem vysvětluje vlastní odlišné výsledky.

Ad cíl 2) Jednoznačně byl prokázán vliv kultivačního podkladu (sklo, plast, kolagen) na schopnost adheze, proliferace a exprese alfa-aktinů epitelu prasečí čočky in vitro. Prokázalo se, že tyto vlastnosti dále významně ovlivňovala denzita buněk v kultuře a také režim výměny kultivačního média. Proto by se tyto faktory měly brát v úvahu při dalších obdobných studiích.

Ad cíl 3) Na tkáňových kulturách epiteliálních králičích čočkových buněk bylo potvrzeno, že nízké koncentrace  $H_2O_2$  mohou stimulovat buněčnou proliferaci, zatímco vyšší koncentrace proliferaci inhibují. Tato experimentální studie však prokázala nově i některé další skutečnosti: aktivace proliferace pomocí  $H_2O_2$  je nejvíce patrná na začátku exponenciální fáze růstu, stimulace proliferace je pouze přechodná i v případě zajištění systému kontinuálně udržujícího danou koncentraci  $H_2O_2$ , inhibice proliferace pomocí vyšších dávek  $H_2O_2$  je trvalá a inhibující koncentrace nezabíjí sledované buňky.

Při zkoumání vlivu antioxidantů byl prokázán inhibiční efekt alfa-tokoferolu v závislosti na buněčné denzitě, zatímco u retinolu se vliv buněčné denzity na inhibiční potenciál neprokázal.

Souhrnné závěry celé experimentální studie shrnuje autorka stručně a výstižně na stranách 56 a 57. Následuje rozsáhlý seznam použité literatury, seznam v textu užívaných zkratk a 27 „obrázků“ dobré kvality zahrnujících přehledná schémata, grafy, křivky i barevné reprodukce vlastních histologických nálezů.

V příloze pak najdeme kopii tří původních článků in extenso, které průběžně prezentovaly výsledky studie v renomovaných impaktovaných časopisech s dlouhou tradicí. Obsah těchto časopiseckých sdělení je pak podrobněji rozveden a doplněn v předloženém dizertačním spisu.

Kromě řady zajímavých výsledků studie, které mohou mít svůj význam v problematice sekundární katarakty i z klinického hlediska, byla v našich podmínkách autorkou poprvé zavedena metodika primární a sekundární kultivace buněk čočkového epitelu k dalším analýzám. Tento náročný, avšak ověřený laboratorní postup může podle mého názoru pomoci při realizaci dalších obdobných studií jako metodický standard.

Z formálního hlediska bych měl k předložené práci jen pár drobných připomínek: bylo by vhodné uvádět hodnotu statistické významnosti „p“ nejen v textu, ale i u grafů, na něž se odkazuje, pokud jsou uváděny odděleně, ve statí zabývající se vlivem hypoxie na krysí rohovku, jsem nenašel prohlášení o dodržování standardů pro zacházení s pokusnými zvířaty, v diskusích k příslušným kapitolám na str. 32 a 48 se vazby „...neboť se věří...“ a „Ačkoliv se obecně věří ...“ podle mého soudu do českého odborného textu příliš nehodí a sloveso „věřit“ by bylo lépe napříště nahradit např. slovesem „předpokládat“. Konečně na obrázcích 20 a 21 by méně zasvěcený čtenář asi uvítal srozumitelnější vyznačení exprese alfa-aktinu na fotografiích histologických nálezů.

#### **Závěr:**

Celkově hodnotím kvalitu předložené dizertační práce velmi vysoko. Dle mého názoru je výsledkem několikaletého cílevědomého úsilí a prokazuje jednoznačně schopnost autorky k samostatné a tvořivé vědecké práci. Proto doporučuji udělení titulu „**Ph.D.**“

Oponentský posudek vypracoval: Doc. MUDr. Aleš Filouš, CSc.

Oční klinika dětí a dospělých UK 2. LF

V Praze dne 29.12.2009