

## OPONENTSKÝ POSUDEK DIZERTAČNÍ PRÁCE

Autor práce: MUDr. Radim KAŇA

Školící pracoviště: Ústav patofyziologie 1. LF UK, U nemocnice 5, 128 08 Praha 2

Název práce: **Histomorfologické změny v normálních, patologicky změněných a transplantovaných lidských chrupavkových tkáních**

Předložená dizertační práce byla vypracována pod vedením školitele prof. MUDr. Emanuela Nečase, DrSc. a konzultanta prof. MUDr. Ctibora Povýšila, DrSc. Téma dizertační práce vychází zejména z klinických potřeb pracoviště autora, což je Oddělení otorinolaryngologie Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, kde jsou již řadu let prováděny rinoseptoplastiky. Tyto výkony někdy vyžadují provedení autologní transplantace lidské ušní chrupavky, výhledově se předpokládá i použití implantátů vytvořených v podmínkách in vitro. Dosud však je málo známo o patobiologických změnách v normální i transplantované lidské ušní chrupavce či v kulturách lidských ušních chondrocytů, které by mohly ovlivnit úspěšnost transplantace. Studium těchto změn založené na klinických a především na experimentálních přístupech je předmětem předkládané dizertační práce. Vzhledem k úzké návaznosti na klinickou problematiku je třeba velmi pozitivně hodnotit volbu tématu dizertační práce.

### Charakteristika rozsahu práce a dokumentace

Předložený spis má celkem 150 stran, z toho 29 stran je výčet použité literatury (čítající celkem 357 odkazů) a 27 stran je věnováno obrazové příloze, která zahrnuje 83 kvalitních mikrofotografií. Součástí práce je též 9 přehledných tabulek a 11 instruktivních obrázků zařazených přímo do příslušného textu.

Práce je rozčleněna celkem do 9 logicky navazujících kapitol, z nichž část je rozdělených na další podkapitoly. Dizertační práce je napsána spisovnou češtinou, grafické uspořádání práce je zdařilé.

### Charakteristika zpracování tématu a dosažených výsledků

Textová část práce je vyváženě rozdělena na teoretický úvod a vlastní studii. Přehledně jsou uvedeny cíle práce formulované do několika okruhů. Práce je zacílena především na:

- stanovení imunofenotypu normální, patologicky změněné a transplantované elastické i kloubní hyalinní chrupavky se zaměřením na expresi jednotlivých izoforem aktinu, S-100 proteinu, CD34 a proliferačního markeru Ki-67 v chondrocytech.
- analýzu histologických a imunohistochemických změn v ušní chrupavce transplantované pacientům do nosního skeletu, imunodeficientním myším a králíkům.
- studium histologických a imunohistochemických změn chondrocytů kloubní i ušní chrupavky kultivovaných na příslušných nosičích před a po transplantaci (implantaci) do kloubních defektů u lidí či experimentálním myším.

V kapitole „Úvod do problematiky“ autor široce pojednává o problematice rinoseptoplastik, o možnostech rekonstrukce nosního skeletu různými typy chrupavkové tkáně (které jsou velmi podrobně diskutovány) a o přípravě chrupavkových implantátů metodami tkáňového inženýrství. Tento oddíl je poměrně rozsáhlý, avšak všechny uváděné skutečnosti jsou plně opodstatněné, souvisí s problematikou řešenou ve vlastní práci a svědčí o dobré orientaci autora v daném tématu.

Kapitola „Metodika“ je přehledně zpracována; pojednává o všech použitých experimentálních zvířatech a chirurgických postupech při práci s těmito zvířaty, o všech studovaných lidských i zvířecích tkáních a tkáňových kulturách a histologických, imunohistochemických a molekulárně genetických vyšetřovacích metodách.

Kapitola „Výsledky“ je logicky rozdělena na řadu podkapitol dle jednotlivých prováděných experimentů. Všechna pozorování jsou detailně popsána, fotograficky dokumentována a dosažené výsledky jsou přehledně uvedeny v tabulkách.

Kapitola „Diskuze“ podrobně rozebírá dosažené vlastní výsledky, analyzuje je a porovnává s publikovanými údaji jiných autorů.

Kapitola „Závěry“ přehledně shrnuje dosažené výsledky, z nichž je zřejmý autorův přínos k patobiologickým i klinickým aspektům transplantace lidské ušní chrupavky. Autor na základě vlastního pozorování poprvé prokázal

- přítomnost  $\alpha$ -aktinu hladké svaloviny v chondrocytech ušní chrupavky
- přítomnost CD34 pozitivních mezenchymových kmenových buněk chondrocytárního charakteru.

Dále byla prokázána vitalita transplantované chrupavky jak u štěpů z netraumatizované, tak u štěpů z traumatizované ušní chrupavky. Nebyly zaznamenány známky resorpce či rejekce štěpu ani zánětlivé reakce nebo fibroprodukce v okolí štěpů. Všechny uvedené závěry potvrzují plnou oprávněnost použití autologních transplantací lidské ušní chrupavky v rinoseptoplastice a umožňují další rozšíření tohoto terapeutického přístupu. Rovněž nálezy v oblasti implantátů trojrozměrných nosičů s kulturou lidských ušních chondrocytů jsou velmi slibné pro jejich budoucí rutinní využití v plastikách oblastí nosního skeletu u lidí.

### **Připomínky a dotazy**

K obsahové ani formální stránce dizertační práce nemám zásadní připomínky či výhrady. Zcela ojedinělé překlepy ve spisu jsou marginální záležitostí, která nijak nesnižuje vědecký přínos předložené dizertační práce.

Autorovi bych ráda položila následující dotazy:

1. Jsou nějaké další možnosti využití transplantace ušní chrupavky v ORL oblasti (kromě nosního skeletu)?
2. Jaký byl výsledek vyšetření markerů mezenchymových kmenových buněk v kulturách lidských ušních a kloubních chondrocytů? Byl ve studii použit rovněž jiný marker kmenových buněk kromě CD34?

## Závěr

MUDr. Radim Kaňa předložil kvalitní dizertační práci, která významně propojuje experimentální medicinu s potřebami klinické praxe. Jsem přesvědčena, že autorem vytýčené cíle byly splněny. Dosažené výsledky podstatně rozšiřují spektrum poznatků týkajících se autologních transplantátů a implantátů v otorinolaryngologii a mnohé z nich mohou být přímo využity v rutinní praxi. MUDr. Radim Kaňa zároveň nastiňuje další směry vlastního výzkumu v této oblasti.

Autor předkládané dizertační práce prokázal své schopnosti samostatně tvořivě vědecky pracovat a prezentovat výsledky formou přednášek i publikací.

**MUDr. Radim KAŇA splnil všechny požadavky kladené na doktorskou dizertační práci stanovené podle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. Doporučuji, aby mu byl po úspěšné obhajobě dizertační práce udělen titul doktor - „Ph.D.“ za jménem.**

  
Doc. MUDr. Marie LUDVÍKOVÁ, Ph.D.

Ústav biologie LF UK  
Karlovarská 48  
301 66 Plzeň

V Plzni, 22. dubna 2011.