

## OPONENTSKÝ POSUDEK

Student doktorského studijního programu Farmakologie a farmakognosie, **Mgr. Martin Kopecký**, předložil svou disertační práci nazvanou „**Morfologické a funkční změny v samčím reprodukčním systému – ovlivnění hematotestikulární bariéry**“.

Tuto práci tvoří jeden svazek, který obsahuje 113 stránek vlastního textu standardně členěného, 3 stránky závěru a 17 stránek seznamu citované literatury se 245 položkami. Text doprovází 39 vesměs složených obrazových tabulí obsahujících barevné mikrofotografie, 2 sloupcové grafy, několik nečíslovaných tabulek v textu, a přehled použitých zkratk. Mikrofotografie jsou technicky velmi kvalitní, vzorně popsány, názorně a instruktivně zobrazují popisované jevy a děje. Grafy jsou pečlivě sestaveny. Tabulky jsou přehledné. Přehled zkratk obsahuje všechny zkratky použité v textu s výjimkou zkratky/názvu TUNEL a všechny jsou navíc vysvětleny i v textu při svém prvním použití.

**Teoretickou část** práce uvádí víceméně přesný popis anatomie varlat a nadvarlat, velmi pečlivý popis struktury Sertoliho buněk, jejich funkce a významu pro diferenciaci varlat a dozrávání spermií i jejich zapojení do systému endokrinních funkcí samčího pohlavního systému.

V dalším oddílu autor popisuje hematotestikulární bariéru, její strukturu, a význam pro rozčlenění, diferenciaci a funkci buněčných populací ve stěně semenotvorných kanálků varlete.

Následuje výstižný popis spermatogeneze a endokrinních aktivit varlete.

V dalších pasážích autor věnoval svou pozornost struktuře a funkci mezibuněčných spojení, jejich vztahů k cytoskeletu a mezibuněčnému prostoru i jejich funkčnímu významu a zevrubnému popisu cytoskeletu (morfologické charakteristice jeho tří složek, chemické povaze jeho složek, jejich vztahům k ostatním buněčným i mimobuněčným strukturám, jejich funkčnímu významu) a detailnímu výčtu a charakteristice dalších molekul, které s cytoskeletem souvisí.

Následuje funkční analýza proliferačních i zánikových procesů probíhajících ve varleti a možností jejich průkazu a stanovení jejich aktivity.

V závěru teoretické části autor kriticky analyzoval vliv kryptorchismu a busulfanu aplikovaných v různých režimech na funkci a strukturu jednotlivých fází diferenciacie zárodečného epitelu varlat.

Oddíl věnovaný **materiálu a metodě** obsahuje výstižnou charakteristiku pokusných zvířat použitých ve studii, sestavení experimentálních skupin včetně popisu experimentálních podmínek (experimentálně navozeného kryptorchismu a aplikace busulfanu), doby trvání experimentu, přesný a dostatečný popis použité metodiky odběru, a histologického zpracování materiálu, aplikovaných histologických a imunohistochemických postupů, zásady statistického hodnocení zjištěných skutečností.

**Výsledky** studie jsou uváděny přehledně a dostatečně srozumitelně. Jsou buď shrnuty v tabulce (rozdíl hmotností varlat a nadvarlat), popis je někdy jen slovní (krátké intervaly po aplikaci jak chirurgické transposice, tak aplikace busulfanu), ale převážně dokumentován kvalitními a velmi instruktivními mikrofotografiemi s pečlivě vypracovanými popisy a označením popisovaných skutečností.

V oddíle věnovaném **diskusi** autor kriticky zhodnotil zjištěné skutečnosti jak v konfrontaci obou experimentálních modelů, tak s literárními údaji. V diskusi je zřejmá věcná argumentace a snaha o vysvětlení patofysiologických mechanismů podmiňujících pozorované skutečnosti i příčin neočekávaně negativních výsledků některých histochemických průkazů.

Hlavní přínos práce vidím jednak v detailním a přesném popisu vlivu experimentálních podmínek na jednotlivé složky cytoskeletu a další detekované funkční molekuly, jednak v popisu změn prostorové organizace zárodečného epitelu varlete a vztahů mezi zárodečným epitelem a Sertoliho buňkami.

V **závěru** své disertace autor uvádí jasně a lapidárně cíl své práce (je to poněkud neobvyklé), sumarizuje výsledky svých experimentů a naznačuje možnosti dalšího výzkumu.

K práci mám několik připomínek a k autorovi několik dotazů :

1. Ductuli efferentes nejsou součástí varlete, proto je použití pojmu „ductuli efferentes testis“ zavádějící. Stejně tak je zavádějící popis, že se rete testis spojuje v tubuli efferentes – z vývojového hlediska je přesnější formulace, na rete testis nasedají či navazují tubuli efferentes.
2. Prostory mezi kanálky varlete vyplňuje intersticiální řídké kolagenní vazivo s Leydigovými buňkami, které se vyskytují jednotlivě i ve skupinách – není mi proto jasné, proč autor popisuje „shluky vazivové tkáně v intersticiu“.
3. Medulární provazce (autor je popisuje jako testikulární) jsou výsledkem proliferace povrchového epitelu indiferentní gonády. Z těchto buněk se následně diferencují Sertoliho buňky částečně vlivem komunikace s gonocyty. Nejsou-li Sertoliho buňky ve fázi proliferace medulárních pruhů diferencovány, nemohou proliferaci řídit.
4. Není mi zcela jasné, co myslí autor pod pojmem zárodečný kanál.
5. Spermiohistogenesa proběhne v úplnosti v semenotvorných kanálcích. Za fyziologických podmínek se tedy nemohou uvolňovat spermatidy, ale spermie.
6. V poměrně detailních popisech použitých histologických technik postrádám přesnější označení eosinu, domnívám se také, že by bylo vhodné hovořit spíše o dobarvování jader zejména u imunohistochemických postupů (doporučoval bych spíše některý z kamencových hematoxylinů, které dávají sytější zbarvení) a nevím, proč autor používá pojem „polosilný řez“ místo běžnějšího označení „polotenký“.
7. Není obvyklé, aby cíl práce byl umístěn do diskuse – spíše jsem očekával na závěr úvodního rozboru literárních dat jednoduše formulovaný cíl práce a pracovní hypotézu – a na konci diskuse stručné vyjádření byl-li cíl naplněn a hypotéza potvrzena.

Práce je napsána dobrou čtivou češtinou, autor většinou dobře formuluje, nesklouzává příliš hluboko do odborné hantýrky, i když se jí zcela nevyvaroval (pojem „hladkosvalová buňka“, „myoidní element“, abundantní nadužívání češtině cizí slovtvorné přípony „-ární“ i tam, kde není zapotřebí, apod.), stejně jako některých slovakismů („na vině“), popřípadě vyšinutí z vazby na str. 7 dole. Rušivě působí i některé novotvary pocházející patrně ze snahy o převedení anglických termínů („antimülleriánský“ místo zavedeného „antimüllerický“, „hematotestikulární“ místo běžnějšího „hemotestikulární“ stejně jako „hemorespirační“ či „hemoplacentový“), nejistota ve skloňování („nexus“ je masculinum a ne femininum a „filamentum“ neutrum, ne masculinum; pokud se skloňuje „lumen“, mělo by se skloňovat s původním latinským kmenem – tedy „lumin-“, apod.) i některé formulační nejistoty (často používaný pojem „myoidní element“ není na místě – buď jsou popisované elementy svalové buňky, nebo myoepitelové buňky, nebo pericyty, proč používat nejasnost vyvolávající

příponu „-oidní“ i tam, kde není na místě; stejně tak není jasné, proč autor používá označení „desmosomální spojení“ při popisu desmosomů). O zodpovědném přístupu autora ke korektuře paradoxně svědčí i důsledně dodržovaný překlep ve jméně často citovaného autora („Junqueira“ místo „Junqueira“).

V předložené práci autor dokázal, že velmi kvalitně zvládl metodiku chirurgického experimentu, široké spektrum histologických technik a jejich dokumentaci, že je schopen shromáždit literární prameny o sledované problematice, kriticky je zhodnotit, najít nosný cíl práce, vybrat přiměřené metody zkoumání, zpracovat a prezentovat nová pozorování, konfrontovat je se známými skutečnostmi a zformulovat jasné a jednoznačné závěry. Práce obsahuje původní výsledky a vytváří podklad pro další výzkumnou práci.

Jsem proto přesvědčen, že předložená disertační práce splňuje všechny podmínky stanovené čl. 47 zákona 111/98 Sb. v platném znění i řádem doktorského studia University Karlovy v Praze a doporučuji její přijetí k obhajobě.

V Praze, 4. května 2006

doc. MUDr. Petr Hach, CSc., Dr. Med. h. c.

