

Prof.MUDr.,RNDr.Jaroslav Slípka, DrSc
Ústav histologie a embryologie LF UK v Plzni

OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorské disertační práce Mgr. Martina Kopeckého "Morfologické a funkční změny v samčím reprodukčním systému"

Doktorská disertační práce Mgr. Martina Kopeckého : " Patrové struktury v průběhu ontogenetického vývoje" s podtitulem: „Ovlivnění hematotestikulární bariéry“ byla vypracována na Katedře biologických a lékařských věd Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové pod vedením školitele Doc.RNDr. Vladimíra Semeckého, CSc. Disertace byla předložena ve vázaném svazku o 139 tiskových stranách. Text je rozdělen do 7 kapitol. Osmá kapitola obsahuje seznam použitého písemnictví na 17 stranách, obsahující na 200 citací. Součástí celého svazku je i barevná histologická dokumentace uložená ve 39 tabulích , obsahujících 131 velmi zdařilých mikrofotografií a přiloženy jsou i 2 grafy.

Cílem práce bylo posoudit vliv modelového xenobiotika – busulfanu a vliv operativně navozeného jednostranného kryptorchismu na morfologický obraz tkáně varlete u potkana. Materiál byl zpracován histologicky pro světelnou mikroskopii, ale zvláště byly použity náročné metody imunohistochemické.

Tématika je bezesporu vysoce aktuální nejen z hlediska teoretického, ale zvláště klinického, protože poruchy mužské sterility mají v poslední době stoupající tendenci a stávají se dokonce problémem celospolečenským.

Po krátkém úvodu předkládá autor v „Teoretické části“ nejprve poněkud učebnicový přehled o histologické stavbě varlat a nadvarlat, včetně spermatogeneze, ale také zasvěcený výčet moderních poznatků v oblasti hematotestikulární bariery a zvláště mezibuněčných spojení a cytoskeletu, jakož i proliferační aktivity testikulární tkáně. Tuto teoretickou kapitolu uzavírá sice trochu neorganicky přehled poznatků o kryptorchismu a busulfanu, vhodně ovšem zdůvodňující cíl celé disertace.

Další kapitola je věnována „Materiálu a metodice“, v níž autor popisuje postup chirurgické techniky při operačním vzniku kryptorchismu s různým trváním (1 hodina až 3 měsíce) u dospělých samců potkana. Popisuje dále různé dávkování mitotického inhibitoru. Busulfanu a techniku při histologickém hodnocení provedených experimentů. Nutno vyzvednout zvláště náročné imunohistochemické analýzy vybraných markerů a tzv. TUNEL barvení ke stanovení stupně poškození buněk

Následuje kapitola "Výsledky". V níž autor popisuje výsledky své práce u obou experimentálních metodik. Nejprve hodnotí změny u pokusného kryptorchismu, kdy v kaskádě stupňů poškození spermatogeneze se brzy odlučují spermatidy z epitelu, poté spermatocyty a spermatogonie. Odloučené buňky se spojují do vícejaderných clusterů. Kryptorchické varle je také lehčí. Změny po aplikaci busulfanu se týkají destrukce zárodečného epitelu a vakuolisace Sertoliho buněk. Při zániku spermatogeneze dochází však ke zmnožení Leydigových buněk. Pozorované změny se po odeznění účinku noxy vrací k normě.

Autor se pak věnuje změnám v oblasti cytoskeletu. Už v době odlučování spermatid dochází ke změnám v expresi aktinu a vimentinu. Rozpad těchto vláken způsobuje rozvolňování spojovacích komplexů. Oba experimenty však neovlivňují expresi tubulinu v Sertoliho buňkách. Při studiu exprese proteinů mezibuněčných spojení zjišťuje autor ztrátu exprese P-catherinu dříve než po aplikaci busulfanu a vyslovuje pochyby, které membránové struktury hrají větší roli při odlučování spermatid.. V intersticiální tkáni se exprese E-catherinu neměnila. Exprese P-catherinu a connexinu 43 se vrátila s obnovou spermatogeneze. Při zjišťování fragmentace DNA metodou TUNEL bylo její pozitivitou dokumentováno časné a těžké poškození u kryptorchismu na rozdíl u busulfanového modelu. Zatímco aktivita proliferačního markeru PCNA u kryptorchických odloučených buňkách je zachována, po aplikaci busulfanu rychle klesá. Výsledky aplikace posledního markeru – prohibitinu, který vykazoval silnou pozitivitu v jádrech některých spermatocytů a to v obou modelech nebyly průkazné pro jednotlivé buněčné kompartmenty.

V diskusní kapitole srovnává autor své nálezy s výsledky svých literárních předchůdců a kapitola " Závěr" je vlastně souhrnem získaných výsledků., z nichž vyplývá, že oba experimentální přístupy, které si autor pro svá bádání zvolil, jsou vhodné modely pro studium mechanismů poškození spermatogeneze..

Z našeho stručného přehledu však nevyplývá, co systematické a mravenčí práce se skrývá za dosaženými výsledky. Jde o velmi poctivé dílo s důrazem na details, ale často se slabším zobecněním. Ovšem popisný charakter práce je velmi cenný a disertace rozhodně přispívá k rozšíření dosavadních znalostí celé biomedicínsky významné problematiky.

Práce je psána úsporným slohem zkušeného vědeckého pracovníka a pro svůj význam by měla být přeložena do angličtiny a publikována v některém impaktovaném časopise.

Při studiu disertace napadá čtenáře řada otázek a poznámek, nikoli kritických, protože autor sám už na tematiku své disertace publikoval práce v renomovaných časopisech, recenzovaných specialisty v oboru, přesto z důvodů diskusních si dovoluji předložit alespoň dvě otázky:

1. Lze výsledky u experimentálního kryptorchismu adultního testis srovnávat s „vrozeným“ nesestouplým varletem?

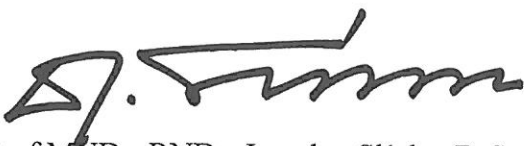
2. Jak si autor vysvětluje, že při zániku spermatogenese po aplikaci busulfanu dojde ke zmnožení Leydigových buněk?

Předložené otázky ovšem nikterak nesnižují vysokou kvalitu celé disertace a mají jen doplňující charakter.

Z Á V Ě R \

Předložená disertační práce Mgr. Martina Kopeckého " Morfologické a funkční změny v samčím reprodukčním systému – ovlivnění hematotestikulární bariéry“ je dílem, řešícím závažnou a aktuální biomedicínskou problematiku. Autor přináší některé prioritní nálezy a i v použité náročné metodice dokazuje svoje schopnosti k samostatné vědecké práci. Dílo je cenným přínosem do české odborné literatury a přeložené by obohatilo i literaturu světovou. Práce splňuje požadavky, kladené na doktorskou disertaci a proto doporučuji, aby se stala podkladem pro obhajobu a další doktorské řízení.

V Plzni dne 15.5.2006



Prof. MUDr., RNDr. Jaroslav Slípka, DrSc