

Oponentský posudek doktorské dizertační práce

Autor: MUDr. Štěpán Rusňák

Téma dizertační práce: Stanovení promotorů angiogeneze v nitrooční tekutině pomocí multiplexové analýzy

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, doktorský studijní program: Oční lékařství, Hradec Králové 2014

Zvolené téma

Zvolené téma doktorské dizertační práce je velmi aktuální. Angiogeneze je za určitých okolností fyziologický proces (vývoj embrya, hojení ran). Patologická neovaskularizace doprovází mnoho chorobných stavů v oftalmologii jako jsou diabetická retinopatie, věkem podmíněná makulární degenerace, oční ischemický syndrom, sítnicová venózní okluze. Pokud nejsou uvedena onemocnění včas léčena, vedou k závažné poruše zrakových funkcí. Multiplexová analýza promotorů angiogeneze dokáže vytipovat rizikové pacienty, u kterých je nutná včasná a účinná terapie doprovázená častějšími kontrolami.

Zvolené metody zpracování

Doktor Rusňák zvolil adekvátní metody zpracování výsledků jeho dizertační práce. Multiplexová analýza je kombinací 2 metod: imunoanalýzy a průtokové cytometrie. Umožňuje stanovení koncentrace až desítek analytů ve velmi malých objemech vzorků s pomocí vazby antigenu na protilátku kovalentně vázanou na povrchu barevně značených částic. Teoreticky umožňuje stanovení až 100 analytů ve vzorku o objemu 10 – 50 mikrolitrů. To je v oftalmologii velkou výhodou, protože objem získaného vzorku komorové tekutiny, nebo sklivce bývá velmi malý.

K analýze byly získány vzorky nitrooční tekutiny z přední komory. Za aseptických podmínek na operačním sále bylo odebráno 30 – 50 mikrolitrů nitrooční tekutiny.

Cíle a výsledky disertační práce

Základním cílem disertační práce bylo zjistit zda existují korelace mezi hladinou VEGF a dalších cytokinů a tíží klinického nálezu. Dále zjištění v jaké fázi onemocnění má vyšetření pomocí multiplexové analýzy význam.

Výsledky, kterých doktor Rusňák dosáhl jsou velmi pozoruhodné. Statisticky signifikantně zvýšené byly hodnoty promotorů angiogeneze u pacientů s PDR proti pacientům v kontrolní skupině.

Nejvyšší hodnoty promotorů angiogeneze byly nalezeny u pacientů s nejkomplicovanějším průběhem se sekundárním glaukomem s nutností opakované chirurgické intervence.

Můžeme říci, že doktor Rusňák na výsledcích prezentovaných v disertační práci prokázal, že vyšetření hladiny promotorů angiogeneze bude důležitou součástí péče o pacienty s vysokým rizikem angiogeneze. Pacienty s rizikovou proliferativní diabetickou retinopatií lze na základě výsledků disertační práce stratifikovat na vysoce rizikové, které je nutné aktuálně léčit, a méně rizikové, které je možné pouze sledovat. Hodnoty koncentrací zkoumaných promotorů angiogeneze dobře korelují s klinickou závažností nálezu.

Splnila disertační práce stanovený cíl?

Doktorská disertační práce doktora Rusňáka představuje velmi hodnotné a pozoruhodné vědecké dílo. Jeho výsledky byly několikrát publikovány v impaktovaných vědeckých časopisech, což svědčí o jejich kvalitě. Tyto výsledky byly a nepochybně do budoucna ještě budou pro jejich jedinečný význam citovány.

Význam pro praxi a rozvoj vědního oboru

Výsledky doktorské disertační práce doktora Rusňáka mají pro další rozvoj oftalmologie velký význam. Na jejich základě bude možné, jak již bylo řečeno, stratifikovat pacienty s velkým rizikem vzniku a progresu neovaskularizace, zejména u proliferativní diabetické retinopatie. Tyto pacienti bude poté možné včas léčit a zachovat jim na co nejdelší dobu použitelnou zrakovou ostrost.

Publikační aktivita dizertanta

Výsledky výzkumu byly publikovány v prestižním impaktovaném časopisu Biomarkers in Medicine: **Rusnak S**, Vrzalova J, Hecová L, Kozova M, Topolcan O,

Ricarova R. Defining the seriousness of proliferative vitreoretinopathy by aspiration of cytokines from the anterior chamber. *Biomark Med.* 2013 Oct;7(5):759-67 **IF 3,217.**

Abstrakt byl publikován v časopisu *Current Medicinal Chemistry: Assessment of Angiogenesis Promoters and Cytokines in Intraocular Fluid of Patients with Proliferative Diabetic Retinopathy* Rusnak S., Kozova M., Vrzalova J., Holubec L., Ricarova R. *Current Medicinal Chemistry*, Special Issue Abstracts, 2011;2:201, ISSN: 0929-8673, **IF 4.708.**

Formální úprava dizertační práce a její jazykový úroveň

Doktorská dizertační práce doktora Rusňáka je správně strukturována. Vyhovuje platným normám. Její jazyková úroveň je na velmi dobré úrovni. V tomto smyslu nemám připomínek.

Připomínky a otázky k dizertační práci

K dizertační práci nemám faktické připomínky. Na několika místech textu se vyskytly překlepy. Tyto ale zásadně nemění charakter sdělovaných informací. Nepovažuji je proto za nedostatek. Při takto rozsáhlém textu se takováto skutečnost dá tolerovat.

Mám jen několik dotazů:

1. Rád bych se autora zeptal, jak je vyšetření pomocí multiplexové analýzy drahé. Pokud nebude jeho cena vysoká, bylo by jej možné zařadit do běžného rutinního vyšetření rizikových pacientů.
2. Dále se chci autora zeptat, zdali předpokládá, že i do budoucna bude u svých rizikových pacientů tuto vyšetřovací metodiku používat.
3. Rád bych ještě věděl, který z promotorů angiogeneze považuje za nejzásadnější těchto rizikových pacientů.

Vyjádření, zdali oponent doporučuje práci k obhajobě.

Doktorskou dizertační práci doktora Rusňáka doporučuji k obhajobě. V případě jejího úspěšného obhájení doporučuji udělení vědecké hodnosti Ph.D.