



UNIVERZITA KARLOVA - LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI
FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ
KLINIKA NEMOCÍ UŠNÍCH, NOSNÍCH A KRČNÍCH
přednosta: Doc. MUDr. Jaroslav Slípka, CSc.

E.Beneše 13, Plzeň 305 99, tel.: 377402248, fax: 377402615
e-mail: slipka@fnplzen.cz

OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorské disertační práce MUDr. Radima Kani: „Histomorfologické změny v normálních, patologicky změněných a transplantovaných lidských chrupavkových tkáních“.

Disertační práce MUDr. Radima Kani byla předložena ve svázaném výtisku o 150 strojopisných stranách rozdělených do 9 kapitol. 92 stránek práce obsahuje vlastní text včetně 9 tabulek a 11 obrázků. Na zbývajících 29 stranách je seřazeno 357 citací použité literatury. Obrazová příloha je součástí vlastní práce a obsahuje 83 barevných obrázků vyšetřených vzorků chrupavkové tkáně.

Téma disertační práce je vysoce aktuální. Problematice rekonstrukce deformovaných nebo chybějících tkání v oblasti hlavy a krku je jak v klinické, tak v experimentální medicíně věnována velká pozornost. Ke standardním postupům patří jednak transplantace různých materiálů biologického původu nebo implantace materiálů uměle připravených (tzv. alloplastických). MUDr. Kaňa se již řadu let intenzivně věnuje funkčním a estetickým rinoseptoplastikám, zejména pak rekonstrukci nosního skeletu autologní chrupavkovou tkání ušního boltce a experimentální práce s jeho klinickou praxí úzce souvisí. Hlavním tématem disertační práce bylo studium buněčných změn v transplantované lidské ušní chrupavce na zvířecím modelu za různých experimentálních podmínek a jejich bližší specifikace pomocí moderních imunohistochemických metod. Získané poznatky pak byly porovnávány s nálezy v normální, artriticky změněné a transplantované lidské kloubní chrupavce.

Základním cílem práce bylo zjištění reakce chrupavkové tkáně na traumatizaci a přenesení na ektopické místo těla při její transplantaci. Experimentálně navozené stavy při transplantaci ušní chrupavky pokusným zvířatům byly obdobou poškození chrupavek v rámci jejich využití při rekonstrukčních operacích nosu u lidí. Cílem bylo vyšetření histologických změn a exprese imunohistochemických markerů chondrocytů, především alfa-hladkosvalového aktinu (α -SMA) a S-100 proteinu v intaktní, arteficiálně traumatizované nebo v živném médiu kultivované lidské ušní chrupavce transplantované imunodeficitním myším, stejně jako v chrupavce vytvořené po implantaci různých typů trojrozměrných nosičů (scaffoldů) osídlených kultivovanými lidskými ušními chondrocyty myším. Byla vyšetřena také ušní chrupavka transplantovaná do nosního skeletu u dvou pacientů. Na králičím modelu byly sledovány histologické změny ušní chrupavky jednak po její traumatizaci in situ, jednak po její autologní transplantaci subkutánně do oblasti dorza. Cílem bylo dále použití zavedených výzkumných postupů k vyšetření normální, artritické a posttraumaticky změněné kloubní chrupavky a kultury kloubních chondrocytů na nosiči z esteru kyseliny hyaluronové používaných k autologní transplantaci do kloubních defektů u lidí.

Všechny experimenty byly schváleny Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a byly odsouhlaseny Odbornou komisí pro práci s pokusnými zvířaty I.LF UK Praha. Použitá metodika odpovídá zavedeným standardům pro práci s experimentálními zvířecími modely. K chirurgickým experimentům s lidskou ušní chrupavkou (nevyužitá tkáň při ušních

a nosních operacích) byly použity jednak imunodeficitní myši kmene NOD.129S7 (B6) Rag1(xenogenní transplantace), ke studiu změn ušní chrupavkové tkáně po autologní transplantaci pak samice outbredních králíků. Podrobné histologické vyšetření bylo doplněno ve většině případů o moderní imunohistochemické vyšetření, které bylo především zaměřeno na průkaz exprese α -SMA a S-100 proteinu. Patomorfologická vyšetření byla v některých případech doplněna o stanovení specifických mRNA pomocí metody RT-PCR. Celkem bylo vyšetřeno 162 vzorků chrupavkové tkáně.

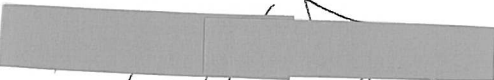
Studie přinesla některé, v odborné literatuře dosud nepublikované poznatky, které mají teoretický i praktický význam. Bylo popsáno vrstevnaté uspořádání ušní chrupavky v histologickém obraze, kdy centrální a obě povrchové vrstvy ušní chrupavky v místě záhybů ušní chrupavky vykazující odlišné uspořádání. Zároveň potvrdila expresi alfa-hladkosvalového aktinu v chondrocytech obou typů zkoumaných chrupavkových tkání, přičemž v ušní chrupavce se jejich počet se, na rozdíl od kloubní chrupavky, při poškození nezvyšuje. Popsané vrstevnaté uspořádání chondrocytů exprimujících α -SMA v elastické chrupavce ušního boltce se může spolu s elastickými vlákny podílet na neobvyklé elasticitě boltce a jeho schopnosti měnit tvar vlivem mechanických podnětů bez poškození tkáně. Novým nálezem v normální ušní chrupavce je také průkaz nečetných chondrocytů exprimujících CD-34, které by mohly být blízké buňkám kmenovým. Ve studii byla ověřena vitalita transplantované ušní elastické chrupavky jak u lidí, tak u experimentálních zvířat. V experimentálních podmínkách byly úspěšně kultivovány chondrocyty pocházející z lidské ušní chrupavky na různých typech scaffoldů a následně transplantovány imunodeficitním myším. Současně byla doložena možnost novotvorby kloubní chrupavkové tkáně po transplantaci autologních chondrocytů na nosičích u lidí. Studie potvrdila, že je ušní chrupavka vhodným materiálem k rekonstrukci defektů nosního skeletu.

Získané údaje zpracoval Dr.Kaňa do původních odborných sdělení, který byla publikována. Všechny vytýčené cíle práce byly splněny.

Při oponování předložené práce vyvstala řada provokativních asociací a otázek. Dovolte mi položit autorovi práce jen jednu z nich:
Při analýze histologických preparátů chrupavek ušního boltce jste unikátně popsal rozdílné histologické uspořádání konvexní a konkávní plochy chrupavky. Tyto plochy se liší tvarem chondrocytů, jejich koncentrací a větší či menší přítomností elastických vláken. Domníváte se, že tato rozdílná histologická stavba může mít zásadní vliv na mechanické vlastnosti chrupavčitých štěpů? Jinak řečeno, je vhodné při implantaci chrupavčité štěp stranově orientovat?

Předložená disertační práce je velice pečlivě zpracována jak po stránce grafické tak po stránce jazykové. Je psána kultivovanou češtinou bez stylistických či gramatických chyb. Veškerá přiložená dokumentace je přehledná a srozumitelná. Práce MUDr. Radima Kani představuje nadprůměrné dílo velkého významu, značně rozšiřuje naše dosavadní znalosti zkoumané problematiky a je významné nejen z hlediska klinicky praktického ale i z hlediska základního biomedicínského výzkumu. Autor brilantně prokázal schopnost samostatné vědecké práce, dosáhl několika prioritních výsledků, čímž obohatil jak naši tak i světovou odbornou literaturu. Z těchto důvodů oponent doporučuje podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb. přijmout předloženou disertaci po její obhajobě jako podklad pro další doktorské řízení a k udělení titulu PhD.

V Plzni, 18. 4. 2011


Doc. MUDr. Jaroslav Slípka, CSc.