



UNIVERZITA KARLOVA  
I. lékařská fakulta

**Oponentský posudek na diplomovou práci autorky Bc. Kristýny Markové**  
**Název práce: „Evoluční a embryonální vývoj prechordální části hlavy“**

Vypracovala:

**RNDr. Mária Hovořáková, PhD.**

Ústav histologie a embryologie 1. LF UK v Praze

Předložená práce Bc. Markové se zabývá hodnocením vývoje prechordální ploténky u paprskoploutvých ryb, jmenovitě u jesetera, kostlína a bichira. Autorka na základě využití metod klasické histologie, imunohistochemie a in situ hybridizace dospěla k velmi zajímavému výsledku, že prechordální ploténka má duální původ, neboli pochází ze dvou různých zdrojů. Její anteriorní část vzniká podle autorky z předústního střeva endodermálního původu, zatímco její posteriorní část je tvořena uvolňováním buněk anteriorního konce struny hřbetní – chorda dorsalis.

Celkově je práce psaná velmi systematicky a čtivě, jak již bývá dobrým standardem u studentů z pracoviště školitele. Je členěna klasicky do kapitol, nechybí česká i anglická sumarizace formou abstraktu. Obsahuje velmi rozsáhlou a kvalitní obrazovou dokumentaci. Kapitola Úvod shrnuje problematiku formou rešerše s využitím škály starších i recentních literárních zdrojů domácích i zahraničních autorů. V rámci jednotlivých podkapitol autorka vymezuje současný stav poznání a poukazuje na mezery, které plánuje vyřešit v rámci své diplomové práce. Cíl práce je v textu závěrem zmíněn, i když by dle mého názoru bylo v diplomové práci vhodnější v samostatné části cíl studie jasně formulovat, jelikož se již nejedná pouze o souhrn informací z rešerše, ale o vědecký záměr. V kapitole Materiál a metody autorka shrnuje použitý embryonální materiál a popisuje metody, které prováděla. Dále následuje kapitola Výsledky, která obsahuje souhrny vlastních pozorování, doplněná kapitolou Tabule, která obsahuje veškerou obrazovou dokumentaci k výsledkům prezentovaným v předchozí části práce. Mezi kapitolou Výsledky a Tabule jsou shrnuty na samostatné stránce zkratky, které pravděpodobně sumarizují zkratky použité v obrazové dokumentaci. Zde bych autorce zcela určitě doporučila pro příště využít možnosti zařadit zkratky jako samostatnou kapitolu hned v úvodní části práce a do této kapitoly zařadit všechny zkratky v práci použité, protože ne vždy je absolutně jasné, co zkratkami v textu autorka myslí, i když se samozřejmě čtenáři většinu zkratků nakonec rozklíčovat podaří (například frekventovaně používaná zkratka srv. – zřejmě srovnej, která je občas zavádějící, jelikož není jasné, co s čím má čtenář srovnat). Dále následuje kapitola Diskuse, kde autorka dává dosažené výsledky do kontextu s dostupnou literaturou a na dobré úrovni kriticky hodnotí a sumarizuje zjištěná fakta. Svá zjištění poté shrnuje v kapitole Závěr. Na konci práce autorka cituje publikace použité v textu v kapitole Citace, která čítá 64 citovaných prací a je trochu

nestandardně členěna do dvou sloupců, což orientaci mezi citacemi místy dělá složitější. Mezi citacemi se mi nepodařilo najít práce Tam a Behringer, 1997 a Gilbert, 2017 citované na straně 2.

K práci nemám zásadnějších připomínek, obsahuje minimální množství překlepů a nepřesností. V některých momentech bych zřejmě volila alternativní vyjádření (například pojem tabule bych nahradila klasickým obrázkem, v případě soustavy bych nepoužila pojem neurální ale nervová, embrya se neusmrtila, ale byla usmrcena, pomocí protilátek nelze označovat stádia ale pouze tkáně či struktury, a dle nich determinovat stádia). Zcela jistě bych pro příště u obrázků vždy vysvětlila všechny použité zkratky, jelikož dohledávání významu popisků u popsáných struktur komplikuje čtení a pochopení významu relevantních částí textu. Toto platí nejen pro obrázky autorky v části Tabule, ale i pro obrázky převzaté či upravené z literatury. U metodické části bych upozornila, že pokud u metanolu předchází použití paraformaldehydu, i když se jedná o krátkodobé působení, jde již o fixaci tkáně. Nelze potom tedy říct, že byla embrya fixována pouze metanolem. V kapitole Materiál a metody se také přímo nabízí vysvětlení použití fibronektinu pro označení bazální laminy, což je sice vysvětleno v textu ve výsledcích, ale důvod pro výběr protilátek zcela jistě spadá do metodiky. Zároveň bych možná v příští práci v metodice neuváděla takové detaily, že si předem vyndáte z mrazáku substance, aby stihly rozmraznout. Při standardním popisu metod se nepředpokládá, že by se substance používala zmražená. Poněkud úsměvně zní výrok na straně 13, že mezenchymové buňky migrující z neurální lišty v tento moment ještě nemigrují. Pokud jsou buňky migrující, rozhodně již migrují, pokud nemigrují, jsou to pouze buňky neurální lišty. V kapitole Výsledky bych doporučila neuvádět citace. Pokud se jedná o výsledky pouze konfirmativní a již publikované, lze toto adekvátně rozdiskutovat v kapitole Diskuse. Pojem „řez imunohistochemický sagitální“ je rovněž ne zcela standardní výraz. I pro imunohistochemii se používají řezy histologické, frontální či sagitální, či v jiné rovině. Imunohistochemická je ale pouze použitá metoda vizualizace struktur pomocí navázaných protilátek.

Celkově lze říct, že předložená diplomová práce je navzdory mým výše uvedeným připomínkám na dobré úrovni a dosažené výsledky jsou podloženy dostatečným množstvím relevantních dat. Práce splňuje kritéria na diplomové práce kladená a tímto ji doporučuji k obhajobě.

Autorku prosím o zodpovězení následujících dotazů:

1. V části Materiál a metody absentuje sumarizace počtu jedinců pro jednotlivá stádia a druhy modelů, kterou bych pro příště doporučovala zařadit například formou přehledné tabulky. Byla byste schopná zmínit, kolik embryí jste měla k dispozici v jednotlivých vývojových stádiích použitých druhů ryb?
2. Na stránce 14 sama uvádíte, že techniky použité v této diplomové práci neumožňují přesně odlišit, odkud daný mezenchym v sledované oblasti pochází. Přesto na několika místech v práci se k původu mezenchymálních populací vyjadřujete. Ve většině případů poukazujete v těchto případech na absenci bazální laminy a rozvolnění epitelových struktur vizualizovaných s využitím imunohistochemie. Dokázala byste ale navrhnout experiment, který by byl v tomto případě realizovatelný jako skutečný průkaz? Dokázala byste se

rovněž čistě teoreticky zamyslet nad možností realizace experimentu se stejným záměrem – identifikovat populace buněk s různým původem, u savčího modelu, například u myší?

3. V celé práci používáte pojem „mediální řezy“, vysvětlení či nákres rovin na schématu či jiný obrázek chybí, můžete prosím vysvětlit, co v těchto případech považujete za řez mediální? Můžete vysvětlit, jak byla v tomto případě poloha onoho mediálního řezu determinována?

Navrhované hodnocení: výborně

V Praze 29.1.2020