

# OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

**Název práce:** Decelularizace a recelularizace tkání

**Autor:** Mgr. Hana Hrebíková

Disertační práce v oboru Anatomie , histologie a embryologie.

Disertační práce si klade za cíl vytvořit především efektivní decelularizační protokol, provést jeho evaluaci a ověřit získaná data pomocí recelularizace.

Hlavních cílů disertační práce bylo dosaženo.

Použité metodické postupy:

pokusy byly provedeny na myších kmene C57/BL/6, byly použity na pracovišti kultivované kmenové buňky, byla provedena decelularizace vzorku kosterní svaloviny pomocí originálního protokolu, provedena morfologická analýza decelularizované tkáně s využitím světelné a elektronové mikroskopie a pomocí imunohistochemických metod, dále byla vyhodnoceny efektivita decelularizace pomocí setu biochemických metod. Kultivované kmenové buňky byly využity k experimentům s recelularizací decelularizovaného skafoldu. Byly provedeny experimenty s implantací decelularizovaných skafoldů in vivo. Vybrané postupy odpovídají současné úrovni metodických možností a jsou přiměřené k dosažení stanovených cílů disertace.

Po formální stránce je práce členěna do obvyklých kapitol, napsaná většinou srozumitelně a zpracovaná pečlivě. Obrázky a tabulky jsou dobré kvality jejich výběr byl proveden adekvátně k doložení výsledků experimentů.

Výsledky práce (zejména z oblasti decelularizace) byly publikovány v časopisech s impakt faktorem (u dvou z nich je H.Hrebíková první autorkou) byly prezentované formou přednášek a posterů na odborných setkáních doma i v zahraničí.

Připomínky a dotazy na disertantku.

1. V kapitole materiál a metodika nejsou uvedeny žádné údaje o tom kolik experimentů bylo provedeno, jak velké byly experimentální skupiny
2. Kvalita některých mikrofotografií (např. 14,15 a 16) je velmi nízká. Je to technická chyba vzniklá při zpracování obrazové přílohy nebo při decelularizaci dochází ke změně tinkčních vlastností tkáně a nelze dosáhnout obvyklého výsledku barvení?
3. Výsledky práce (na rozdíl od jiných kapitol) jsou napsány kostrbatou češtinou což někdy vede k posunům ve významu. Autorka opakovaně uvádí, že ve skafoldu je po

decelularizaci zachováno cévní zásobení. Jistě nemá na mysli zachování krevního oběhu?

4. Proč na obr.9b . není na elektronogramu vidět v blízkosti bazální membrány po šikmo říznutém zbytku svalového vlákna bazální membrány jiných svalových vláken, jak se dá očekávat při zachování endomysia příčně pruhovaného svalu ve skafoldu?
5. Při popisu experimentů in vivo jsou opakovaně popisovány regenerační změny probíhající ve svalu myši na hranici mezi skafoldem a svalovinou myši. Nejde o změny probíhající po excisi ve svalu i bez implantace skafoldu? Srovnávali jste tyto změny s kontrolní skupinou s excisí svalu bez implantace?
6. Při popisu morfologických nálezů není věnována pozornost makrofágům. Tyto nepochybně hrají při modelaci nově tvořené svaloviny zásadní roli. Proč jste se jimi nezabývali?

## Závěr

Doporučuji práci: Decelularizace a recelularizace tkání, autorky Mgr. Hany Hřebíkové, k obhajobě podle paragrafu 47 VŠ zákona 111/98 Sb. Předložená práce splnila požadavky standardně kladené na disertační práci v oboru Anatomie, histologie a embryologie. Mgr. Hana Hřebíková jejím zpracováním a publikováním výsledků v odborné literatuře prokázala své schopnosti k samostatné vědeckovýzkumné práci, doporučuji proto na základě úspěšné obhajoby udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č .111/98 Sb.

V Olomouci dne 22.května 2018

Doc. MUDr. Vojtěch Kamarád, DrSc.