



Praha 30. 5. 2020

Posudek na disertační PhD. práci Mgr. Jána Krišky.

Předložená disertační práce Mgr. Jána Krišky byla vypracována na 2. Lékařské fakultě University Karlovy pod vedením Dr. Miroslavy Anděrové a je nazvána „Úloha Wnt signalizační dráhy v regeneraci ischemicky poškozené nervové tkáně“. Tento posudek jsem zpracoval pro potřeby obhajoby v OR Neurovědy. Z hlediska volby tématu je práce vysoce aktuální, jedná se o horké téma současných neurověd a práce přináší nové pohledy na studovanou problematiku.

Nejprve se vyjádřím k odborné úrovni disertace. Práce se zaměřila na důležité výzkumné téma, a studovala diferenciaci neurálních kmenových/progenitorových buněk a NG2 gliových buněk. Tyto buněčné typy byly studovány jak *in vitro* po izolaci z mozku novorozenečských myší, dospělých myší, ale i *in vivo* na mozkových řezech. Uchazeč se zaměřil na dvě významné signalizační dráhy, popsané v souvislosti s embryogenezí, a to Wnt a Sonic hedgehog a navíc studovala i tři unikátní transgenní kmeny myší podmíněně exprimující fluorescenční barviva umožňující manipulaci těchto drah. Práce je velmi významná i translačním přínosem, protože se věnovala jak kontrolním, zdravým zvířatům, tak jedincům s indukovanou fokální mozkovou ischemií pomocí okluze střední mozkové artérie. Rovněž využila techniky molekulární biologie, jako RT-qPCR a single-cell profilování genové exprese. Práce ukazuje klíčový vliv studovaných signálních kaskád na osud prekursorových buněk v postnatálním mozku a jeho ovlivnění prostřednictvím ischemického poškození nervové tkáně.

Tyto nálezy základního výzkumu mohou posloužit jako východiska pro budoucí využití v neuroregenerativní medicíně u pacientů s ischemickým poškozením mozku, ale vzhledem k zapojení těchto signálních kaskád možná i např. neurodegenerativních onemocnění. Práce upoutává pozornost tím, že využívá významně multidisciplinární přístupy a je jasné, že autor musel teoreticky a snad i prakticky zvládnout řadu náročných metodik. V této souvislosti lze ocenit úvodní přehledné vydefinování podílů autora na jednotlivých publikacích. Proto je jasné vidět, ve kterých oblastech všech prací byl zapojen. Zde se jednalo ze strany uchazeče zejména o izolaci a přípravu tkání a buněčných kultur, elektrofyziologická snímání (celobuněčný terčíkový zámek), analýzu a zhodnocení dat a přípravu rukopisů. Celkově je disertační práce postavena na třech recenzovaných pracích v solidních až excelentních časopisech, z toho dvou v časopise *Glia* a jedné, prvoautorské v časopise *Brain Research*. Souhrnný IF těchto prací je 14, 775. Autor je dále spoluautorem šesti dalších studií, přehledových článků i původních sdělení, které nejsou součástí disertace.

I po formální stránce hodnotím práci jako velmi solidní. Je psána anglicky, s minimem překlepů či jiných formálních nedostatků, a je doplněná vhodně zvolenými obrázky, částečně převzatými z příložených publikací. Literární úvod disertace čítá 20 stran a přehledně uvádí čtenáře do studované problematiky. Hypotézy práce jsou tři a zahrnují čtyři výzkumné cíle. Experimentální části, tedy metody a výsledky, obsahují detailní popis

učiněných nálezů a jsou opatřeny řadou grafů, tabulek, fotografií i schémat. Diskuse čítá 18 stránek, je velmi detailní a drží se ustálené formy diskuse v odborné práci, tedy uvedení vlastních nálezů do souvislosti s výsledky jiných laboratoří a jejich kritické zhodnocení. Následně je formulován závěr práce, shrnující přehled původních poznatků v ní získaných. Seznam literatury obsahuje velké množství citací převážně původních prací, často velmi recentních, které jsou zvoleny adekvátně k tématu práce. Práce obsahuje řadu velmi odborných zkratk, které jsou při jejich prvním použití vysvětleny, a je uveden jejich přehledný seznam.

K disertaci mám následující otázky:

Co autor subjektivně vnímá jako nejvýznamnější objev, který se mu v práci podařilo učinit?

Kromě zvládnutí vědecké práce, co se autor během vypracovávání této disertace naučil, jakou lekci si odnáší?

Práce se intenzivně zabývá prekurzorovými buňkami v SVZ a vlivu ischemie na ně, jak ovlivňuje toto poškození mozku neurogenezi a gliogenezi v gyrus dentatus hipokampu, pakliže není tato struktura přímo ischemií postižena?

Jsou známy nějaké manipulace, které vedou k podstatnému zvýšení diferenciace NG2 glie v neuronální buňky?

Kam se bude ubírat podle uchazeče tento obor v budoucnu, a v jakém časovém horizontu budou dle jeho názoru k dispozici regenerativní postupy pro onemocnění CNS?

Závěrem lze vzhledem ke zmíněnému hodnocení uvést, že práce splňuje kritéria pro disertační práce předložené v postgraduálním doktorském studiu biomedicíny v OR Neurověd. Přináší nové a původní poznatky, které posouvají poznání v oblasti neurobiologie prekurzorových a gliových buněk a jejich diferenciace vlivem působení ischemického poškození a působení intracelulárních signálních drah. Práce posouvá poznání v dané oblasti a celkově byly přes svoji nedávnost publikace z disertace citovány více než 10x. Proto doporučuji OR Neurověd obhajobu této práce a po jejím úspěšném absolvování uchazečem udělení titulu PhD.

Prof. RNDr. Aleš Stuchlík, PhD, DSc.

Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4.