

Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Jána Krišky:**„Úloha Wnt signalizační dráhy v regeneraci ischemicky poškozené nervové tkáně“**

Předkládaná dizertační práce se zabývá studiem neurálních buněk (neurálních kmenových buněk a NG2 glií), které mohou v postnatálním mozku jak proliferovat, tak diferencovat v jiné buněčné typy. Protože osud těchto buněk je do značné míry ovlivněn Wnt a Shh signálními dráhami, použil autor transgenní myši, které umožňují tyto dráhy inhibovat či hyper-aktivovat. Dále pak autor použil transgenní myši, jež umožňují sledovat osud NG2 buněk. Práce charakterizuje vliv Wnt signalizace na neurální kmenové buňky za fyziologických podmínek u neonatálních myší, totéž pak u dospělých myší, kde autor popisuje výraznější efekt Wnt signalizace až po navození mozkové ischemie. V dalších dvou kapitolách autor potvrzuje, že NG2 buňky slouží za fyziologických podmínek především jako prekursor oligodendrocytů, zatímco po navození ischemie tyto buňky diferencují převážně v astrocyty, za což je odpovědná Shh signalizace.

Dizertační práce zahrnuje výsledky tří impaktovaných publikací, u publikace v časopise Brain Research je Mgr. Ján Kriška prvním autorem, u dalších dvou publikací v časopise Glia je spoluautorem. Během svého postgraduálního studia na Oddělení buněčné neurofyziologie, Ústavu experimentální medicíny se Mgr. Ján Kriška stal navíc spoluautorem dalších šesti publikací.

Dizertace obsahuje 154 stran textu, ke kterým jsou přiloženy tři publikace v plném rozsahu. Práce je napsána v anglickém jazyce, velmi srozumitelně. Literární úvod je přehledný a je založen na starších i novějších poznatcích v oboru. Cíle práce jsou stanoveny konkrétně a přehledně. V metodické části popisuje autor řadu metod, které k řešení daného tématu použil. Z výčtu použitých metod je zřejmé, že autor během svého postgraduálního studia zvládl celou řadu poměrně náročných technik. Získané výsledky jsou popsány na 50 stranách textu, tato část je rozdělena do čtyř podkapitol, jež jsem zmínila výše. Na výsledkovou část navazuje diskuze, která je poměrně rozsáhlá a má 16 stran. V diskuzi autor rozebírá jednotlivé dílčí kapitoly, koreluje své výsledky s literaturou a rozebírá některé inkonzistence v dosažených výsledcích, zvláště pak v části dopadů Wnt signalizace u dospělých myší. V závěrech autor stručně shrnuje získané poznatky. Výsledky dizertační práce významně přispívají k porozumění mechanismů diferenciace neurálních kmenových a NG2 buněk jak za fyziologických podmínek, tak v patofyziologii mozkové ischemie, a to unikátním současným použitím pokročilých myších modelů, moderních metod molekulární biologie a neurofyziologických technik. Rovněž použité mikroskopické techniky vedly k velmi pěkným obrázkům, které dobře dokumentují dosažené výsledky.

K dizertační práci mám několik výtek, jež jsou především formálního charakteru:

- v literárním úvodu není vždy úplně zřejmé, cituje-li autor výsledky dosažené na myších/potkanech nebo lidech. Pohled do seznamu literatury to sice vyjasní, nicméně toto by mělo být jasné už z textu.
- autor poměrně volně užívá různé názvy pro NG2 buňky (NG2 cells, polydendrocytes). Doporučila bych na úvod uvést různé názvy daných buněk a v následném textu pak používat pouze jeden název.
- poměrně rušivé ve výsledkové části je to, že autor používá různorodé grafické vyjádření jak výsledků, tak i hodnot v grafech (např. pro RT-qPCR výsledky autor používá na straně 63 hodnotu C_t , v dalších výsledcích pak relativní mRNA expresi).
- také volné kombinování různých názvů pro jeden gen je poměrně matoucí (str. 126 *Tcf12* a *Tcf4*).

Výše uvedené výtky však nesnižují kvalitu dizertační práce, na níž mě zaujala řada výsledků, na jejichž základě mám následujících několik otázek či námětů k diskuzi:

- v literárním úvodu autor korektně zmiňuje, že neurogeneze u lidí v dospělém věku je stále diskutabilní. Ráda bych se zeptala, co se ví o lidských NG2 buňkách, o jejich morfologii a funkčních vlastnostech? Dále pak, co se ví o tumorogenním potenciálu těchto buněk?
- V práci autor používá myší transgenní kmen dnTCF4 s inhibovanou Wnt signální dráhou. Mohl by podrobněji vysvětlit výhodu užití tohoto kmene oproti užití například kmene s knockoutem genu *Tcf4*?
- v diskuzi autor zmiňuje důležitost Wnt signální dráhy u Alzheimerovy choroby. Mohl by stručně shrnout jaké změny této dráhy jsou charakteristické pro tuto nemoc?

Celkově shrnuto, dizertační práce Mgr. Jána Krišky je velmi aktuální a odpovídá současným směrům rozvoje oboru. Má vysokou odbornou úroveň a obsahuje řadu zajímavých výsledků, které byly publikovány v časopisech s velmi dobrým impakt faktorem. Mgr. Ján Kriška prokázal, že je připraven k samostatné vědecké práci a toto podložil dobře vypracovanou dizertační prací. Tuto dizertační práci tak doporučuji k obhajobě s cílem získání titulu Ph.D.

V Praze, 18.6.2020

Mgr. Martina Zíková, CSc.

Ústav molekulární genetiky, AV ČR