



Oponentský posudek

Na disertační práci „*Zárodek kuřete jako model pro studium vývoje pankreatu za normálních a experimentálních podmínek*“

Autor : MUDr. Eva Maňáková, CSc

Oponent : MUDr. Zdenka Zemanová, CSc

Předložená disertační práce zahrnuje především výsledky formulované v původních článkách z odborných časopisů (7 příloh). Na 20 stránkách Úvodu je čtenář podrobně seznámen se základními daty o vývoji pankreatu s doprovodem obrázků (schemat), jeho struktuře a molekulárním vybavení. Cílem práce je popsat vývoj endokrinního pankreatu na modelu kuřecího zárodku, diferenciaci a růst jednotlivých buněčných typů, a najít vývojová stadia vhodná pro detekci účinků experimentálního zásahu. Z úvodní kapitoly totiž vyplývá, že je vývoj ptačího pankreatu v literatuře popsán nedostatečně a je v něm řada nejasností počínaje anatomickou stavbou – např. členěním na laloky - až po posloupnost exprese genů nezbytných pro diferenciaci pankreatu, jeho endokrinních i exokrinních buněk. Rovněž chybí popis vývojových změn v procentuálním zastoupení jednotlivých typů buněk, resp. objemu jednotlivých buněčných ostrůvků u normálních zárodků, který může být významným ukazatelem vývojových poruch vzniklých po experimentálních zásazích. Vhodnost kuřecího modelu byla ověřena porovnáním s výsledky paralelně prováděného zkoumání vývoje savčího (králičího) pankreatu. Výsledky jsou diskutovány v rámci přiložených publikací a na pěti stranách Diskuse jsou celkově zhodnoceny a konfrontovány s dosavadními znalostmi ve světové literatuře. Z předložené práce je vidět, že autorka prokázala dokonalou znalost studované problematiky a že využila všech dostupných informací k zasazení svých výsledků do kontextu znalostí v příslušném oboru.

Aktuálnost zvoleného tématu

Autorka si zvolila velmi aktuální téma: při popisu embryonálního vývoje pankreatu se zaměřila jednak na vyhledání senzitivních period, kdy je tento orgán nejzranitelnější a kdy toxické vlivy v něm mohou vyvolat vrozené vady (např. nekompenzovatelný deficit buněčné

masy vedoucí postnatálně k poruchám metabolické rovnováhy). A v návaznosti na tento cíl se věnovala podrobně studiu proliferace buněčných typů v endokrinním pankreatu, jejich identifikaci a diferenciaci. Přitom se nutně dotkla problematiky kmenových buněk a možnosti jejich využití pro transplantace.

Zvolené vědecké metody zpracování tématu.

Autorka aplikovala na řešení zvoleného tématu své bohaté zkušenosti z histologie a imunohistochemie – jak při výběru a zpracování vzorků, tak při identifikaci buněčných typů v endokrinním pankreatu. Pro detailní popis diferencujících se buněk použila hodnocení v elektronovém mikroskopu. Pro vlastní měření velikosti ostrůvků endokrinních buněk pankreatu a jejich podílu (objemové hustoty) v tkáni pankreatu použila osvědčené metody morfometrické analýzy a stereologie. Proliferační aktivitu v jednotlivých buněčných typech popsala stathmokinetickým indexem změřeným na kolchicinovaných zárodcích. Všechny tyto metody ji umožnily adekvátně popsat prenatální vývoj pankreatu u obou zkoumaných živočišných druhů.

Vědecký přínos.

Přínos výsledků získaných MUDr. Maňákovou lze spatřovat především v tom, že podrobně popsala embryonální vývoj endokrinního pankreatu kuřete a králíka a získala tak významné informace o vzniku, růstu a diferenciaci všech tří typů buněk endokrinního pankreatu kuřete - A, B a D. Ustavení konstantního poměru mezi nimi v prenatálním období ovlivňuje řízení metabolismu glukózy i postnatálně. U ptáků je dominantní při řízení metabolismu glukózy glukagon (na rozdíl od inzulínu v savčím pankreatu). Autorka také popsala nízkou frekvenci buněčného dělení v diferencujících se endokrinních buňkách na rozdíl od buněk vývodů a exokrinních buněk. Při imunohistochemické analýze zjistila silnou pozitivitu buněk v lokalitě vznikajících endokrinních buněk (kmenových buněk) na beta-1-integrin (? marker kmenových buněk pankreatu ?). U obou vyšetřovaných živočišných druhů roste množství endokrinních buněk exponenciálně, a předchází vývoj exokrinní tkáně.

Komentář k výsledkům je psán srozumitelně, čtení jen občas znesnadňuje používání zkratk, které nejsou v textu vysvětleny. V textu se vyskytují jen drobné chyby (vynechání části textu nebo překlepy a absence interpunkce).

K disertační práci mám jen dva dotazy:

1. Který z vyšetřovaných ukazatelů nejlépe charakterizuje vývojové stadium vyšetřovaného objektu (embrya) – ptačího a savčího a hodí se tudíž pro detekci vývojových poruch ?
2. Jaké dávky kolchicinu a jak dlouhé expozice jsou vhodné pro 10-, 12- a 14-denní zárodky kuřete a s jakým procentem mortality po aplikaci je třeba počítat.

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem se domnívám, že práce MUDr. Evy Maňákové přináší řadu nových a významných výsledků týkajících se specifických vlastností a růstu endokrinních buněk ptačího a savčího pankreatu. Domnívám se, že plně splňuje podmínky pro udělení titulu Ph.D. a doporučuji, aby byla přijata k obhajobě a postoupena k dalšímu řízení.

V Praze 11.10.2007

Zdeňka Zemanová

MUDr. Zdeňka Zemanová, CSc.
Fyziologický ústav AV ČR, Praha