

Prof. MUDr. RNDr. Svatopluk Čech, DrSc.

Ústav histologie a embryologie LF MU, Kamenice 3, 625 00 Brno.

Oponentský posudek na habilitační práci

Autor práce: **MUDr. Dana Čížková, Ph.D.**

Název disertace: **Účast intermediárních filament a buněk kostní dřeně při experimentální regeneraci kosterního svalu**

Pracoviště autora: Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

Morfofyziologický výzkum nervové a svalové soustavy má v ČR tradici a je spojen s Fyziologickým ústavem ČSAV, ustaveným v roce 1954 a s Arnoštem Gutmannem (1910 - 1977). Pod jeho vedením se na ústavu zformoval výzkumný tým s ambiciózním programem, zaměřeným na studium trofických funkcí nervového systému, pro který byl jako experimentální model vybrán kosterní sval. Prof. Gutmann prosadil na tehdejší dobu progresivní multidisciplinární přístup, kde kromě fyziologů počítal při řešení programu také s účastí pracovníků z hraničních oborů fyziologie. Jelikož v podstatě nebyli, začal s jejich přípravou a výchovu v rámci vlastního výzkumného týmu. Z jeho podnětu v týmu dochází postupně k profilizaci pracovních skupin a současně s tím i k ustavení několika specializovaných laboratoří, po neurofyziologické a chemické vzniká ještě laboratoř krevního oběhu a laboratoř morfologická, jejímž úkolem kromě jiného bylo podepřít kontextuální interpretaci prováděných denervačních, reinervačních, deafferentačních a dalších experimentů paralelním studiem mikroskopických, později také histochemických parametrů kosterní svalové tkáně, resp. kosterního svalu, v normě a během regenerace. Není od věci zmínit, že pracovníci morfologické laboratoře, jako doc. Jiřina Zelená, dr. Isa Jirmanová, anebo

o generaci mladší dr. Tomáš. Soukup, patřili k aktivním účastníkům sjezdů anatomické společnosti, a že jejich přednášky i publikace měly mezi morfology značný ohlas.

Habilitační spis, který předkládá odborná asistentka MUDr. Dana Čížková, Ph.D. je příkladný tím, že názorně ukazuje, jak lze pojmout resp. uchopit studium a výzkum regenerace kosterního svalu na histologickém pracovišti, které se léta na špičkové úrovni věnuje výzkumu vlastností kmenových buněk a jejich úlohy během regenerace tkání. Práce na jedné straně s respektem k historii navazuje na některé z výsledků fyziologů s výrazným morfologickým přesahem a znalostmi, především posledního z výše zmíněné trojice a na straně druhé díky promyšlené aplikaci zkušeností a metodických postupů zavedených na ústavu, na kterém autorka působí od roku 2005, vnáší do studia regenerace kosterního svalu savců výrazně vyšší kvalitu a nové stimuly. Za prozíravé rozhodnutí proto považuji, že problematika regenerace kosterního svalu byla na Ústavu histologie a embryologie LF HK adoptována a je koncepčně rozvíjena.

Habilitační práce dr. Čížkové má celkem 106 stran včetně obrázků a grafů a sestává z 9 kapitol. Názvy a sled prvních osmi odpovídá obvyklému úzusu, poslední pak obsahuje soupis autorkou publikovaných prací, kterých je 21; 17 bylo uveřejněno v impaktovaných časopisech a u 6 je dr. Čížková prvním autorem.

Po úvodu a dostatečně obsáhlém shrnutí současného stavu sledované problematiky autorka předkládá cíle práce, které kromě nácviku a osvojení si speciálních dovedností nezbytných k zahájení práce, např. indukce experimentální regenerace kosterního svalu i. m. injekcí kardiotoxinu a techniky odběru buněk kostní dřeně a jejich intravenózní transplantaci celotělově letálně ozářeným příjemcům u myši byly 4 a zčásti anticipovaly i použité metodické přístupy. Co se týká realizace vytýčených cílů, mohu na základě zhodnocení výsledků, přiložené dokumentace a zevrubného prostudování habilitačního spisu dr. Čížkové odpovědně konstatovat, že byly úspěšně splněny.

Práce se vyznačuje, což je třeba vyzvednout, velkou šíří metodického záběru a uplatněných přístupů: počínajíc chirurgickými a transplantačními zákroky na kosterním svalu pokusných zvířat, kterými byli potkani a laboratorní myši, přes transplantace buněk kostní dřeně u myši až po odběry vzorků svalů z několik týdnů trvajících experimentů a jejich diferencovanou přípravu pro vlastní mikroskopická vyšetření. K němu jsou v práci použity moderní metody a postupy s vysokým informačním potenciálem, kterými disponují histochemie, imunohistochemie a transmisní elektronová mikroskopie. Laboratorní zdatnost a metodickou vyzrálou spolu se schopností invenčně koncipovat pokusy dr. Čížková

osvědčila zejména v té části práce, která je věnována osvětlení vztahu buněk kostní dřeně k regeneraci kosterního svalu u myší, k čemu důmyslně využila strategii transplantací buněk kostní dřeně. Z jiných dokladů odborné kompetence jmenované lze jmenovat navržený a v práci úspěšně aplikovaný originální elektronově mikroskopický postup pro imunohistochemickou detekci GFP⁺ buněk odvozených od buněk kostní dřeně dárců v intaktním a poraněném svalu příjemců a dále velmi kvalitní a zdařilou dokumentaci výsledků. Ta kromě 2 sloupcových grafů zahrnuje jedinečný soubor 70 mikrofotografií a elektronově mikroskopických snímků, sestavených tématicky po dvou až šesti do 18 obrázků, přesněji řečeno obrazových tabulí. Informační hodnotu vybraných mikrofotografií a elektronogramů znásobuje pečlivé označení pozorovaných strukturních detailů a výstižná legenda.

Pochvalu dr. Čížková zaslouží také za vzorně vyhotovený a citačnímu standardu odpovídající Soupis použité literatury, který čítá 233 položek.

Zmínil jsem výše, že habilitační práce MUDr. Čížkové je příkladná a nyní doplňuji, že i přínosná. Ocení ji všichni, kteří se o problematiku regenerace kosterního svalu u savců zajímají a navíc pracovníkům, kteří zvažují aplikaci modelových experimentů při studiu svalové regenerace a může posloužit jako užitečný inspirační pramen.

Z informací a údajů, dílem prioritních, které autorka v práci předložila, si zaslouží vyzvednout: u potkanů zjištění, že imunohistochemická detekce nestinových filament v rhabdomyocytech může být využita ke sledování dynamiky a průběhu regenerace kosterního svalu, u laboratorních myší pak transplantační experimenty s podáním GFP⁺ buněk kostní dřeně letálně ozářeným imunokompetentním příjemcům 4 týdny před experimentálním poraněním *m. tibialis ant.* navozeným aplikací kardiotoxinu, které naznačily, že buňky kostní dřeně mají schopnost se v poraněném svalu transformovat v makrofágy, příp. i další elementy niche satelitových buněk.

K tématickému zaměření habilitačního spisu, výborně dokumentovaným nálezům a jejich interpretaci nemám jako oponent žádné zásadní připomínky ani dodatky. Velmi dobrou úroveň má práce také po stránce formální, neboť rukopis se vyznačuje vzornou úpravou, přehledným členěním a zanedbatelným počtem překlepů, gramatických chyb nebo stylistických prohřešků.

Závěr:

Na základě kritického rozboru habilitační práce v roli oponenta osvědčuji, že dr. Čížková je plně erudovanou pracovnící, která v dostatečné šíři obsáhla histologii a embryologii a prokázala způsobilost řešit nosné vědecké téma pomocí biologického experimentu a použít k tomu efektivní a moderní postupy z vlastního, ale i jiných oborů, které korespondují s formulovanými cíly. Proto doporučuji Vědecké radě Lékařské fakulty Karlovy univerzity v Hradci Králové předložený habilitační spis přijmout a po jeho obhájení navrhnout jmenování odborné asistentky MUDr. Dany Čížkové, Ph.D.

docentkou histologie a embryologie

V Brně 24. března 2020

Prof. MUDr. RNDr. **Svatopluk Čech**, DrSc.
profesor histologie a embryologie Lékařské
fakulty MU