

doc. MUDr. Tomáš Kučera, Ph.D.

Ústav histologie a embryologie

I. lékařská fakulta – Univerzita Karlova

Albertov 4, Praha 2, tel.:+420224968130, email:tkucer@lfl.cuni.cz

Oponentský posudek habilitační práce MUDr. Dany Čížkové, Ph.D. s názvem: “Účast intermediárních filament a buněk kostní dřene při experimentální regeneraci kosterního svalu“ v rámci řízení na Univerzitě Karlově – Lékařské fakultě v Hradci Králové.

Habilitační spis MUDr. Dany Čížkové, Ph.D. s názvem: “Účast intermediárních filament a buněk kostní dřene při experimentální regeneraci kosterního svalu“ je uceleným dílem, které se opírá o stěžejní publikované výsledky dosažené autorkou a s ní spolupracujícím kolektivem během posledních 11 let. Předložená práce má celkový rozsah 106 stran a sestává z následujících hlavních částí: Úvodu majícího charakter předmluvy na 3 stranách, poté samotné uvedení do tématu s názvem Přehled současného stavu sledované problematiky na 20 stranách, Materiál a Metody na 10 stranách, dále 27 stran Výsledků, 21 stran Diskuze a 3 strany jsou věnovány kapitole Závěr. Seznam použité literatury na 19 stranách zahrnuje cca 200 citací. Připojen je také seznam publikovaných prací autorky s 6 prvoautorskými publikacemi s IF, ostatními 11 pracemi s IF a 4 pracemi v časopisech bez IF.

V Úvodu habilitační práce se autorka věnuje souvislostem vedoucím k výběru tématu práce. Problematika kmenových buněk a regenerace tkání totiž patří k dlouhodobému vědecko-výzkumnému zaměření Ústavu histologie a embryologie Lékařské fakulty v Hradci Králové Univerzity Karlovy, které je domovským pracovištěm doktorky Čížkové. Ačkoliv se tedy pracovníci ústavu tomuto tématu věnují již řadu let, jedná se o stále vysoce aktuální výzkumné zaměření, které rychle proniká do klinických lékařských oborů. Navíc je stále více zřejmé, že jakékoliv léčebné využití regenerativního potenciálu buněk a tkání se nutně musí opírat o solidní a ověřené výsledky základního výzkumu. Z široké palety vědeckých otázek, které se k této problematice vážou, si autorka vybrala pro svou habilitační práci dvě hlavní témata: 1) sledování exprese intermediárních filament nestinu, desminu a vimentinu v intaktním a regenerujícím kosterním svalu zadní končetiny potkana a také v intaktních a regenerujících nervosvalových vřeténkách téhož svalu, 2) úlohu transplantovaných buněk kostní dřene dárce při reakci kosterního svalu příjemců na poranění a identifikaci buněčných typů pocházejících z buněk kostní dřene v regenerujícím svalu potkana.

V kapitole Přehled současného stavu sledované problematiky autorka uvádí čtenáře habilitačního spisu nejprve do obecných principů regenerace kosterního svalu. Velmi vhodně zařazuje pojednání o kmenových buňkách kosterního svalu, kterými jsou u dospělého svalu satelitové buňky. Obširně a přitom srozumitelně se autorka také zabývá buněčnými a molekulárními aspekty jednotlivých fází regenerace kosterního svalu, což je předpoklad pro správnou interpretaci dynamiky změn buněčných populací ve sledované tkáni v rámci experimentů popsaných ve výsledcích. Oceňuji představení použitých experimentálních modelů ve světle jiných alternativních postupů, které mají za cíl poškodit svalovou tkáň a navodit její regeneraci. Specifickým aspektem regenerace svalu je regenerace nervosvalových vřetének, přičemž autorka přináší přehled nových současných poznatků, které poukazují na podobnosti i odlišnosti v mechanismech regenerace svalu a nervosvalových vřetének. Další kapitoly jsou věnovány expresi a funkci jednotlivých intermediárních filament. Zde se autorka může opřít o četné prioritní nálezy učiněné na jejím pracovišti ohledně exprese intermediárního filamentu např. v novotvořených cévách. Důležité pro pochopení cílů habilitační práce jsou velmi dobře zpracované pasáže věnované vztahu buněk kostní dřene k regeneraci kosterního svalu, jakož i pojednání o niche satelitových buněk v kosterním sval. Cíle práce jsou výstižně a jasně definovány, přičemž mezi spíše obecné cíle autorka řadí zavedení několika nových metod, které by se měly stát nástroji i pro budoucí experimentální práci.

V kapitole Materiál a metody jsou stručně a přehledně popsány základní histologické, histochemické a imunohistochemické přístupy použité v práci, dále chirurgické techniky a popis experimentů na zvířatech. Stejně tak je v této kapitole precizně zpracován popis mikroskopických a molekulárně-biologických technik.

Kapitola Výsledky je zdařilou prezentací dat, která byla publikována v impaktovaných časopisech. Tudiž mohu jen konstatovat, že výsledky jsou představeny přehlednou a logickou formou, jsou adekvátně okomentovány a zejména podloženy obrazovou dokumentací výborné kvality, s velkým rozlišením a velkou informační hodnotou. Všechny obrázky mají udané měřítko a jsou vybaveny detailní legendou.

V Diskuzi autorka přináší vždy shrnutí zásadních výstupů své experimentální práce a dává je do logické souvislosti s dříve či zcela nedávno publikovanými pracemi podobného zaměření. Rovněž poukazuje na některé otevřené otázky a navrhuje budoucí cesty, které by mohly vést k jejich zodpovězení.

Závěr přináší shrnutí hlavních výsledků, kdy je zejména potřeba vyzdvihnout popis dynamiky exprese nestinu v regenerující svalové tkáni, kdy je toto intermediární filamentum ve zvýšené

míře exprimováno v časných fázích regenerace a později mizí. Autorka tudíž navrhuje nestin jako marker regenerace kosterního svalu. Ačkoliv intrafusální a extrafusální svalová vlákna se do značné míry liší, dynamika exprese jednotlivých proteinů intermediárních filament je u obou typů svalové tkáně podobná. Experimenty s transplantovanými buňkami kostní dřene ukázaly jejich zapojení do procesu regenerace svalu příjemce zejména v podobě buněk imunitního systému a zjevně heterogenní populace intersticiálních buněk, jejichž přesná charakteristika bude předmětem dalšího výzkumu.

Závěrem konstatuji, že forma, způsob zpracování, význam a aktuálnost prezentovaných dat, jakož i jejich kritické zhodnocení plně splňuje nároky na kvalitní habilitační práci. Nemám zásadních připomínek, protože i jazyková stránka byla na vysoké úrovni a pouze menší množství překlepů jsem zaznamenal v kapitole Diskuze.

Práce tedy ukazuje nejen na vysokou vědeckou vyspělost kandidátky, ale i na předpoklady pro kvalitní pedagogickou práci, proto **doporučuji** vědecké radě Lékařské fakulty Hradec Králové Univerzity Karlovy habilitaci MUDr. Dany Čížkové, Ph.D. **přijmout k obhájení**.

Pro vlastní obhajobu mám ke kandidátce dvě menší doplňující otázky:

- 1) V práci popisujete expresi nestinu v novotvořených kapilárách během regenerace kosterního svalu. Z obrázku 2C se jeví, že tento protein je exprimována nejen v endotelu, ale i v perivaskulárních buňkách charakteru pericytů. Sledovali jste dynamiku exprese nestinu také zvlášť v endotelu a v perivaskulárních buňkách. Byly zde nějaké rozdíly?
- 2) Pozorovali jste nebo cíleně vyšetřovali případné celkové účinky lokální aplikace kardiotoxinu v rámci vašeho experimentálního uspořádání?

V Praze dne 5.3.2020.

doc. MUDr. Tomáš Kučera, Ph.D.