



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Název práce: Histologické hodnocení experimentálních modelů onemocnění jater –
Využití metod kvantitativní histologie v hodnocení mikroskopické stavby
jater

Student DSP: MUDr. Anna Malečková

Studijní program: Anatomie, histologie a embryologie

Školící pracoviště: Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni
Ústav histologie a embryologie

Školitel: prof. MUDr. et Mgr. Zbyněk Tonar, Ph.D.

Oponent: doc. MUDr. Dana Čížková, Ph.D.
Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Ústav histologie a embryologie

Univerzita Karlova	6479
Vytvořeno: 18.07.2022 v 09:17:14	Odbor
Čj.: UKLFP/298611/2022-5	vv
Č.dop.: RR944146088CZ	Zprac.
Listů: 3 Příloh: 1	
Druh: písemné	



Disertační práce je zaměřena na vývoj a využití metod kvantitativního histologického hodnocení mikroskopické stavby jater prasete domácího, které jsou uplatněny při studiu morfologických charakteristik u zdravých jedinců a u modelového onemocnění a úrazu. Přestože je použití prasete jakožto experimentálního zvířecího modelu finančně náročnější než použití malých laboratorních hlodavců, myši a potkanů, je tento model jednoznačně kvalitnější a v současnosti stále častěji využíván vzhledem k větší anatomické a fyziologické podobnosti s člověkem. Rozvoj kvantitativních histologických metod považují za velmi přínosný a aktuální, neboť spolu s kvalitativním hodnocením poskytují komplexní pohled na mikroskopickou stavbu tkání a orgánů, která je posuzována nejen při biomedicinském výzkumu ale i při histopatologické diagnostice v humánní a veterinární medicíně.

Studentka si stanovila několik cílů: vyvinout software pro kvantifikaci mikro-CT korozivních preparátů mikrocév jater a softwarový nástroj pro kalibraci automatických analýz mikro-CT skenů, pomocí kvantitativních histologických metod zmapovat rozložení vaziva a určit délkovou hustotu jaterních sinusoid a žlučových kapilár v játrech prasete, zavést model sinusoidálního obstrukčního syndromu na praseti a sledovat vliv transplantovaných





UNIVERZITA KARLOVA Lékařská fakulta v Hradci Králové

mezenchymových kmenových buněk na jeho průběh, histologickou stavbu jater a přežití zvířat a analyzovat šíření trhlín játry prasete po nárazu při experimentu, který simuloval tupé poranění břicha. Přestože byly zvolené cíle odborně velmi náročné, studentka je všechny ve své práci jednoznačně splnila.

Kapitoly „Materiál a metody“ a „Výsledky a diskuse“ byly velmi pečlivě a přehledně vypracovány. O vysoké úrovni nově vyvinutých i rutinně používaných metodik, získaných výsledků, mezi nimiž je řada prvotních nálezů, a diskuse svědčí jejich publikace v kvalitních mezinárodních odborných časopisech s impakt faktorem.

Nově vyvinutý software QuantAn a TelGen je volně dostupný pro odbornou veřejnost, což je velmi přínosné pro rozvoj a využívání těchto moderních kvantitativních metod. Kvantitativní histologické hodnocení rozložení vaziva a délkové hustoty jaterních sinusoid a žlučových kapilár v játrech prasete odhalilo rozdíly mezi pohlavími, ale také mezi jednotlivými oblastmi jater. Tato variabilita by měla být zohledněna při plánování a hodnocení experimentů. Závěry těchto studií mohou být využity k určení minimálního počtu vzorků, který je nezbytný pro získání validních výsledků, jež jsou srovnatelné a reprodukovatelné. Zavedení nového modelu sinusoidálního obstrukčního syndromu a metodiky modelu tupého poranění břicha na praseti včetně detailního histologického hodnocení stavby jater umožní pokrok ve studiu těchto patologických stavů a ve vývoji nových terapeutických přístupů.

Drobnou výhradu, která nijak nesnižuje kvalitu práce, mám jen k názvu použitých kmenových buněk. Jako mezenchymové kmenové buňky bývají v literatuře označovány populace buněk, které jsou svými vlastnostmi heterogenní, liší se způsobem izolace, expresí povrchových markerů i diferenciacním potenciálem. Z těchto důvodů Mezinárodní společnost pro buněčnou terapii vydala stanovisko, podle kterého by se buňky podobné fibroblastům, adherentní *in vitro*, bez ohledu na tkáň, ze které byly izolovány, měly označovat jako multipotentní mezenchymové stromální buňky (Horwitz et al., Cytotherapy 2005). Také byla stanovena minimální kritéria, která by tyto buňky měly splňovat, aby bylo dosaženo reprodukovatelnosti a srovnatelnosti výsledků studií: adherence *in vitro*, exprese CD105, CD73 a CD90 (nepřítomnost markerů CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 α a CD19 a HLA-DR) a schopnost diferencovat se *in vitro* v osteoblasty, adipocyty a chondroblasty (Dominici et al., Cytotherapy 2006). Buňky použité v této práci ve studii zabývající se jejich vlivem na průběh sinusoidálního obstrukčního syndromu v podstatě odpovídají těmto kritériím, proto bych doporučila označovat je jako multipotentní mezenchymové stromální buňky.





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

Existuje obdobná studie zaměřená na kvantitativní histologické hodnocení rozložení vaziva a délkové hustoty jaterních sinusoid a žlučových kapilár nebo podobných morfologických charakteristik dokumentující intersexuální a intrahepatickou variabilitu provedená na lidských játrech?

Experiment simulující poranění jater prasete při nárazu byl proveden na zdravých jedincích. Jak by studované parametry mohly být ovlivněny jaterním onemocněním nebo patologickým procesem?

Disertační práce obsahuje potřebné množství dat, obrázků, grafů a dostatečný seznam použité literatury. Formální úprava a jazyková úroveň jsou příkladné, text je bez překlepů a gramatických chyb.

Předložená práce tedy po obsahové a formální stránce splňuje požadavky kladené na disertační práci, má široký odborný rozsah a považuji ji za zdařilou a velmi kvalitní. Studentka prokázala tvůrčí schopnosti v dané oblasti výzkumu. Doporučuji proto disertační práci k obhajobě a po jejím úspěšném ukončení **navrhuji udělit MUDr. Anně Malečkové titul doktora filosofie (Ph.D.).**

V Hradci Králové, dne 12. července 2022

doc. MUDr. Dana Čížková, Ph.D.

