M U N I

Příloha č. 10 směrnice MU Habilitační řízení a řízení ke jmenování profesorem

POSUDEK OPONENTA HABILITAČNÍ PRÁCE

Masarykova univerzita	
Uchazeč	MUDr. Marek Joukal, Ph.D.
Habilitační práce	Nerve injury induced neuropathic pain and spread of inflammatory response to remote structures of the nervous system
Oponent	prof. MUDr. et Mgr. Zbyněk Tonar, Ph.D.
Pracoviště oponenta, instituce	Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

Uchazeč předložil anglicky psanou práci o 181 stranách, kdy na prvních 78 je autorův text s přehledem současného poznání tématu a rozborem řešení a nálezů habilitační práce, k nimž je svázáno osm plných textů již publikovaných článků vyšlých v časopisech s IF.

Aktuálnost tématu: Uchazeč se dlouhodobě věnuje neuroanatomii, buněčné i molekulární biologii poranění periferních nervů a odpovědi organismu na tato poranění. Vzhledem k tomu, že změny prostupnosti bariér nervového systému, šíření zánětlivých mediátorů a imunitní reakce není u poranění nervů dostatečně objasněna a současně tyto jevy mají velmi silný potenciál pro vysvětlení a případné ovlivnění lézí nervového systému a komplikací, jako např. vznik a šíření neuropatické bolesti, považuji téma za velmi ambiciózní, aktuální a významné jak z hlediska poznání těchto biologických jevů, tak z hlediska lékařství.

Přístup k řešení: V úvodu své práce uchazeč shrnuje dosavadní stav poznání v oblasti nocicepce. Porovnává animální modely využívané ve studiu neuropatie u periferních nervů a míšních kořenů, Wallerovy degenerace a reakce míšních ganglií a míchy. Popisuje reakci mozkového kmene a mezimozku na poranění nervů, i zpracování a modulaci bolesti v koncovém mozku. Přehled poznání je zakončen popisem mikroanatomie bariér nervového systému. Následuje shrnutí prioritních nálezů z vlastních prací autora a jeho spolupracovníků, plán budoucích studií. Série osmi uchazečových publikací je pak podrobně komentována s jasně uvedeným shrnutím hlavních zjištění. Připojen je i celkový soupis Celá habilitační práce tvoří velmi sourodý a přesvědčivý celek s vysokou vypovídací schopností.

Použitá metodologie: Z předložených prací je jeden článek přehledový a sedm experimentálních původních výsledkových článků. Celá šíře metod je detailně popsána ve vlastních článcích na všech úrovních experimentu – od původu a chovu zvířat, členění do experimentálních skupin, přes chirurgické vyvolání lézí nervů, odběr tkání pro histologické zpracování, kryořezy, imunohistochemii, primární protilátky (včetně využití dvojité imunodetekce) a fluorescenční vizualizaci, přes mikroskopii, fotodokumentaci a její vyhodnocení včetně kvantifikace. Mikroskopické metody jsou vhodně doplněny analýzou proteinů v tkáních technikou Western blotu, dále se v pracích vyskytuje analýza mozkomíšních moku pomocí ELISA, intratékální aplikace cytokinů. Některé práce využívají RT-PCR ke stanovení exprese mRNA sledovaných molekul. Reakce nervu na poškození, axonální růst i regenerace jsou hodnoceny in vitro i in vivo esejemi. Výsledky jsou statisticky hodnoceny, oceňuji srozumitelnou formulaci testovaných hypotéz, díky níž se pak autorům daří výsledky experimentů přesvědčivě interpretovat. Jako celek jde o velmi dobře na sebe navazující a vzájemně se doplňující metody, které jsou vhodně zvoleny vzhledem k výzkumným otázkám,

jsou transparentně popsány způsobem umožňujícím opakovatelnost experimentální práce a jsou naprosto přesvědčivě dokumentovány.

Splnění cílů: K prioritním nálezům, které jsou dokladovány přiloženými publikacemi, patří průkaz aktivace signální dráhy STAT3 v neuronech míšních ganglií po poranění periferních nervů; průkaz průniku IL-6 ze subarachnoideálního prostoru do míšních ganglií; vliv intratékální aplikace CD200 proteinu na zmírnění gliózy a zánětlivé reakce míchy a allodynie a tepelné hyperalgezie po poranění periferních nervů; úloha IL-6 při navození regeneračního stavu v míšních gangliích; aktivace mikroglií a astrocytů v periakveduktální šedi a rostrální ventromediální míše po poranění periferních nervů; anatomický průkaz komunikace subarachnoidálního prostoru s prostorem míšních ganglií; průkaz vlivu intratékálně aplikovaných látek na indukci imunitní odpovědi v míšních gangliu; změny v plexus choroideus včetně aktivace makrofágů po poranění nervu, ale i jako reakce na samotný operační přístup bez poranění. Cíle práce jsou splněné naprosto přesvědčivě a dlužno říci, že takový soubor zcela průkazných a vzájemně provázaných závěrů z in vivo experimentů považuji za výjimečný.

Kvalita, správnost a původnost dosažených výsledků: Vzhledem k validně použitým metodám, vysoké úrovni dokumentace, zpracování experimentálních dat a jejich interpretaci a již proběhlým recenzním řízením u jednotlivých publikací nemám o správnosti pochybnost. U všech publikací je podrobně doložen příspěvek uchazeče ve vlastních experimentech, jejich hodnocení, při samotném sepisování manuskriptů a role korespondujícího autora. Práce prošly oponentním řízením v časopisech z oblasti anatomie, mikroskopie, buněčné biologie, neurověd. Šestkrát se jednalo o časopisy z 1. kvartilu dle WoS, ve dvou případech ze 3. kvartilu.

Uplatnitelnost výsledků: Z hlediska morfologie a buněčné biologie poranění nervového systému jde o velmi dobře designované i provedené in vivo experimenty s vysokou vypovídací schopností. Díky tomu jsou výsledky velmi dobře interpretovatelné. Průkaz komunikace mezi anatomickými prostory jednak vysvětluje možné šíření signálů o poranění a reakci na něj mezi různými kompartmenty na delší vzdálenosti, jednak otevírá možnosti pro aplikaci látek tyto pochody ovlivňujících. Poznatky z oblasti aktivace buněčných populací a jejich signálních drah a úlohy některých mediátorů, stejně jako poznatky o změně prostupnosti bariér nervového systému po poranění, považuji za naprosto klíčové k pochopení a možnému budoucímu ovlivnění reakcí na poranění periferních nervů včetně vzniku a šíření neuropatické bolesti.

Formální úprava a jazyková úroveň: Úprava je profesionální, práce je velmi přehledná, psaná důsledně americkou angličtinou, bez překlepů. Práce je psána na vysokém stupni odbornosti, avšak současně srozumitelným jazykem se zachováním názornosti a návaznosti. Úvodní část i závěrečné přehledové práce mají vysokou didaktickou úroveň a ukazují i na pedagogické kvality uchazeče.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce:

1. Které z výše uvedených poznatků zjištěných experimentálně u potkana mohou mít dle Vašeho názoru využití v humánní medicíně? Které mezery v poznání, omezení animálních modelů, popř. bezpečnostní rizika by tomuto využití mohly naopak bránit?
2. O jak rozsáhlé poranění periferních nervů by se muselo jednat u lidských pacientů, aby s ohledem na tělesnou stavbu, velikost orgánů a regenerační schopnosti alespoň přibližně odpovídala těm, která experimentálně využíváte u modelu potkana?
3. Ve Vašich pracích využíváte měření intenzity fluorescenčního signálu. Jak je zajištěna standardizace a opakovatelnost těchto měření (např. ve světle Waters JC, J Cell Biol 2009, 185:1135-1148, doi 10.1083/jcb.200903097)?

Závěr

Habilitační práce MUDr. Marka Joukala, Ph.D., „Nerve injury induced neuropathic pain and spread of inflammatory response to remote structures of the nervous system“ ***splňuje*** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Anatomie, histologie a embryologie.

V Plzni

Dne 16.4.2021

podpis