

Oponentský posudek

dizertační práce Mgr. Šárky Jíchové

Úloha metabolitů kyseliny arachidonové v regulaci krevního tlaku u experimentálních modelů ANG II-dependentní formy hypertenze

Disertační práce Mgr. Šárky Jíchové je zaměřena na problematiku hypertenze z pohledu kardiovaskulární a renální (patofyziologie). Konkrétně se věnuje mechanismům a potenciálnímu terapeutickému ovlivnění angiotenzin II-dependentní hypertenze studované s pomocí (transgenních) potkaních modelů. Práce je založena na uceleném souboru souvisejících experimentů testujících centrální hypotézu úlohy metabolitů vznikajících dráhou cytochromů P450 v patofyziologii angiotenzin II-dependentní hypertenze. Experimenty mají komplexní charakter a zahrnují širokou škálu experimentálních technik: od in vivo experimentů včetně radiotelemetrického snímání krevního tlaku či měření ledvinných funkcí na zvířeti v narkóze přes biochemickou analýzu po molekulárně-biologické postupy (genová a proteinová exprese). Vzhledem ke skutečnosti, že hypertenze a její komplikace patří k nejčastějším kardiovaskulárním onemocněním, mohou získané výsledky mít i značný klinický význam.

Vlastní dizertační práce o 111 stranách je členěna obvyklým způsobem. Po abstraktu, obsahu a seznamu zkratk následuje kapitola Teoretického úvodu, která čtenáře seznamuje s problematikou hypertenze a jejích základních typů, problematiky regulace krevního tlaku a dvou zásadních mechanismů, tlakově-natriuretického mechanismu ledvin a renin-angiotenzin-aldosteronového systému. Následuje seznámení s metabolismem kyseliny arachidonové se zaměřením na dráhu cytochromů P450 a její metabolity, epoxyeikosatrienové kyseliny (EET) a 20-hydroxyeikosatetraenovou kyselinu (20-HETE). Po definici centrální hypotézy (EET a 20-HETE přispívají k patofyziologii angiotenzin II-dependentní formy hypertenze) a cílů dizertační práce jsou důkladně popsány použité experimentální metody včetně použitých transgenních potkaních modelů TGR(Ren2)27 a TGR(CYP1a1-Ren2). Vlastní výsledky jsou rozčleněny do tří kapitol, každá z nich obsahuje vedle prezentaci výsledků i jejich diskusi. První výsledková kapitola je zaměřena na studium antihypertenzního účinku inhibice solubilní epoxidové hydrolázy u TGR(Ren2)27, jsou prostudovány renální autoregulační mechanismy, hladiny (plazmatické i renální) angiotenzinu II, EET DHETE a 20-HETE a exprese korového CYP2C23 a sEH. Léčba inhibitory sEH snižovala krevní tlak u hypertenzních potkanů a zvyšovala biologickou dostupnost EET. Tyto účinky však nebyly spojeny se zlepšením renální autoregulace či tlakově natriuretického mechanismu. V druhé výsledkové kapitole byl použit další přístup ke snížení angiotenzin II-dependentní hypertenze, podání analogu EET (EET-A). Byly prozkoumány účinky preventivní i pozdní léčby EET-A a ACEi na různé parametry (krevní tlak, ledvinné funkce, plazmatické a renální koncentrace). EET-A v rané fázi zmírňoval vývoj maligní hypertenze i zlepšoval funkční stav ledvin potlačením aktivity prohypertenzní osy a zvýšením aktivity vazodilatační osy RAAS. U plně rozvinuté hypertenze žádný příznivý účinek EET-A nebyl zaznamenán. V poslední výsledkové kapitole byly u potkanů s angiotenzin II-dependentní hypertenzí studovány účinky zvýšené produkce 20-HETE. Léčba fenofibrátem, který indukuje expresi genu pro CYP4A, zmírnila průběh maligní hypertenze. Hlavním mechanismem bylo potlačení systémové a intrarenální formace angiotenzinu II. Prezentované výsledky již byly úspěšně publikovány v renomovaných impaktovaných časopisech, což dokládá jejich kvalitu a novost. Dizertační práce je zakončena souhrnnou diskusí a závěrem. Diskuze výsledků (jak dílčí v jednotlivých kapitolách, tak souhrnná) je dostatečně podrobná a je přesvědčivým dokladem hlubokého porozumění studované problematice, schopnosti vlastní interpretace výsledků i kritické sebereflexe autorky. Literární rozhled autorky dokládá více než 192 citací uvedených v přehledu literatury.

Zvláštní zmínku zasluží publikační činnost autorky, vedle tří publikací, na kterých je založena dizertační práce a u kterých je první autorkou, je spoluautorkou dalších 11 prací, z nichž sedm souvisí s tématem dizertační práce. Autorka je rovněž řešitelkou grantu GAUK (2013-2017). Všechny tři prvoautorské publikace považuji za velmi kvalitní, byly publikovány v časopisech nad mediánem oboru (1x Q1, 2x Q2) a přinášejí významné prioritní výsledky.

Zvolené téma dizertační práce je dle mého názoru vysoce aktuální. Kardiovaskulární onemocnění jsou celosvětově nejčastější příčinou úmrtí, v rozvinutých zemích se na celkovém počtu úmrtí podílejí více než 50 %. Hypertenze a s ní spojené komplikace významně přispívají ke kardiovaskulární morbiditě a mortalitě. K získání nových terapeutických možností a cílů je bezpodmínečně nutné co nejúplnější poznání molekulárních mechanismů narušených funkcí a jejich regulace. Aktuálnost tématu nejlépe dokládá vysoká četnost nových publikací věnujících se problematice hypertenze, kardiovaskulárních a renálních onemocnění a jejich interakcí. Zvolené experimentální metody byly adekvátní řešeným problémům, jedná se vesměs o velmi pokročilé moderní postupy a jejich šíře je úctyhodná, umožňují analyzovat složité regulační procesy na úrovni celého organismu v duchu integrativní fyziologie. Přínos výsledků pro další rozvoj oblasti je zřejmý, autoři významně přispěli k detailnímu poznání mechanismů hypertenze a naznačují zajímavý terapeutický potenciál signální cesty kyseliny arachidonové a cytochromů P450. Získané poznatky jsou proto důležité nejen z pohledu (pato)fyziologie, ale i klinické medicíny. K formálnímu zpracování nemám výtek, práce je napsána kultivovanou češtinou (pokud dokážu posoudit) a je téměř bez chyb a překlepů. Je zřejmé, že jejímu pečlivému zpracování byla věnována značná pozornost.

Na závěr bych si dovilil položit několik doplňujících dotazů a komentářů k diskusi:

Str. 42: „Mechanismus vazodilatačního účinku EETs na cévní stěnu byl opakovaně spojován se stimulací vodivých vápníkových kanálů...“ Nemá zde jít spíše o (na vápníku závislé) draslíkové kanály?

Graf 18C: Zobrazena exprese ACE2 (opakuje se v grafu 19A), podle textu by měla být zobrazena exprese AT1.

Str. 80: Léčba fenofibrátem...vykazovala trend zvýšené genové exprese a proteinové koncentrace CYP4A...rozdíl však nebyl dostatečně statisticky významný (viz graf 28B, C). Podle grafů 28B, C se jedná o statisticky významné rozdíly.

Graf 31A, C: Aplikace fenofibrátu byla spojena se zvýšenou plazmatickou hladinou ANG II a zvýšenou plazmatickou aktivitou reninu u normotenzních potkanů. Jak si tyto změny vysvětlujete?

Experimenty na (transgenních) zvířecích modelech umožňují získat cenné informace o různých fyziologických mechanismech. Nicméně přenositelnost těchto poznatků na klinickou úroveň (úroveň lidského organismu) může být problematická. Jak se z této perspektivy díváte na použité modely? Je známo, zda např. nastavení vazokonstrikční a vazodilatační osy RAAS je kvantitativně obdobné u potkanů a u lidí? Odpovídají si hladiny EET/DHETE/20-HETE?

Závěr:

Předložená dizertační práce splňuje všechny požadavky kladené na dizertační práci a prokazuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci. Doporučuji proto po úspěšné obhajobě udělit Mgr. Šárce Jíchové akademický titul Ph.D.

V Plzni, 27. srpna 2020

Prof. MUDr. Milan Stengl, Ph.D.