

15.9.2016, Praha

Oponentský posudek doktorské disertační práce

MUDr. Vojtěch Šedivý

“Význam KCNQ kanálů v reakci plicního řečiště na hypoxii“

2. LF UK, školitel: prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

Cíle práce byla experimentální studium významu Kv draslíkových kanálů (KCNQ) na hypoxií navozené vasomotorické změny pulmonálního řečiště u potkana. Za pomoci selektivních farmakologických inhibitorů a aktivátorů KCNQ (Kv7.4) byl studována role těchto kanálů při zprostředkování akutní a subakutní plicní vasokonstrikce navozené hypoxémií. Byla též studována role těchto kanálů při zvýšené plicní vazoreaktivitě dospělých potkanů exponovaných perinatální hypoxémií. Cíle práce byly jasně definované a fyziologicky relevantní, o významu těchto kanálů při regulaci motoriky cév (včetně plicních) je k dispozici velmi málo údajů a přitom může jít o ovlivnitelný terapeutický cíl léčby plicní hypertenze.

Metody: Autor práce používal především preparát explantovaných izolovaných perfundovaných plic, na kterém byly testovány jednotlivé farmakologické intervence a také přímou in-vivo hemodynamiku. K ozřejmění celulárních mechanismů byly využity metody kvantifikace exprese kanálů pomocí PCR, kvantifikace proteinu pomocí western blotů, lokalizace proteinu pomocí imunohistochemie, dále byly provedeny elektrofyzilogické studie iontových kanálů na povrchu plicních svalových buněk. Použité metody jsou tedy velmi komplexní, zevrubné a dovolují podrobné závěry.

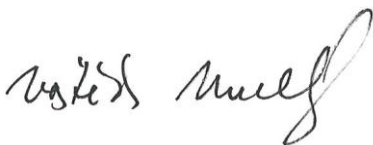
Nálezy práce: Autor práce zjistil, že KCNQ kanály se významně uplatňují při akutní hypoxické plicní vasokonstrikci a že aktivátor těchto kanálů má vasodilatační účinky na hypoxické plicní řečiště. Dále bylo zjištěno, že KCNQ kanály mohou hrát roli ve zvýšené pohotovosti k vasokonstrikci u dospělých samic potkana, exponovaných perinatální hypoxémií. Tyto nálezy jsou zcela originální a významné, do hloubky popsané a vytvářejí podklad pro možný terapeutický cíl plicní arteriální hypertenze.

Publikační výstupy: výsledky práce jsou popsány ve dvou velmi kvalitních publikacích (American Journal of Physiology, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics). Úroveň publikační aktivity je velmi dobrá.

Komentáře oponenta:

1. Jednou z vzácnějších kauzálních mutací zachycených v rodinách s familiární PAH je gen pro draslíkový kanál *KCNK3* (Potassium Channel, Subfamily K, Member 3), nikoliv *KCNQ*. Jaké jsou potenciální mechanistické interakce mezi *KCNQ* a *KCNK3* v plicích ?
2. Nachází se *KCNQ* gen v některém z „hot-spot“ oblastí v některé z genome-wide asociačních studií rizika PAH?
3. V úvodu zmiňujete, že molekulárním senzorem kyslíku v plicích jsou hladké svalové buňky plicních cév, což je poněkud široké tvrzení. Můžete poskytnout více informací o molekulárních mechanismech registrace kyslíku na subcelulární úrovni v PSMC? Jak může hypoxémie ovlivnit Kv kanál na molekulární úrovni? Uplatňuje se při oxygen sensingu v PSMC HIF-1 α /LVH signální cesta ? Jakým způsobem tato (či jiná) cesta pak dál ovlivňuje Kv kanály ?
4. Překvapilo mě, že akutní hypoxie v preparátu izolovaných plic je vyvolaná perfúzí roztokem s 0% O₂; není potom výsledkem ovlivněn rozvojem ischemické nekrózy v důsledku totální anoxie perfundovaných plic?
5. Jaké jsou off-target účinky flupirtinu mimo plicní tkáň? Lze očekávat že tato látka může být testována pro terapii plicní hypertenze ? Ovlivní flutirpin plicní arteriální hypertenzi navozenou monocrotalinem nebo podáním SUGEN ?
6. Pro mě velmi zajímavou informací je persistence vlivu perinatální hypoxémie na celoživotní zvýšenou pohotovost plicního řečiště na vasokonstrikční podněty. Jakým způsobem je podmíněna tak extrémní persistence tohoto dynamického efektu? Je to v důsledku strukturálních změn plicních cév ? Je známo něco o vlivu epigenetické modifikace exprese Kv kanálů, která se nabízí jako možné vysvětlení ?
7. Část (10%) pacientů s plicní hypertenzí II-III typu vyvine disproporciální vzestup plicní vaskulární rezistence a příčina tohoto jevu není jasná. Je k dispozici nějaká systematická analýza zda tito pacienti v minulosti neprodělali perinatální hypoxémii ? Tato otázka by mohla být ověřena experimentálně. U potkanů by mohlo být v dospělosti vyvoláno levostranné srdeční selhání hemodynamickým přetížením a mohl by být studován poměr mezi přenesenou a prekapilární složkou PH u zvířat které měli/neměli expozici perinatální hypoxii.

Závěr: Jedná se o mimořádně kvalitní dizertační práci, která jasně prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké činnosti. Doporučuji udělení titulu PhD.



Doc. MUDr. Vojtěch Melenovský, CSc.
Klinika kardiologie
IKEM, Praha