

## **Oponentský posudek doktorské disertační práce MUDr. Vojtěcha Šedivého:**

### **Význam KCNQ kanálů v reakci plicního cévního řečiště na hypoxii.**

Předložená disertační práce MUDr. Vojtěcha Šedivého byla vypracována v Ústavu fyziologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Byla vytvořena na základě dvou článků publikovaných v kvalitních impaktovaných mezinárodních časopisech (IF: 3.97; 4.08), z nichž v jednom případě je Dr. Šedivý prvním autorem. Kopie těchto publikací jsou součástí vlastního díla a tvoří samostatné přílohy.

Disertační práce se zabývá úlohou KCNQ kanálů v reakci plicního cévního řečiště na hypoxii u laboratorního potkana. Za hlavní nálezy práce Dr. Šedivého považují:

1. Jak ukázaly experimenty se selektivním blokátorem KCNQ kanálů linopirdinem, blokáda KCNQ kanálů potence akutní hypoxickou plicní vazokonstrikci.
2. Několikadenní expozice hypoxií snížila genovou expresi KCNQ 4 a vedla ke ztrátě odpovědi na linopirdin. Chronické podávání flupirtinu, aktivátoru KCNQ kanálů, dilatovalo hypoxické plicní cévy a zabránilo rozvoji hypoxické plicní hypertenze.
3. Linopirdin potencoval reaktivitu plicních cév na KCl u dospělých samic, nezávisle na hypoxické expozici v perinatálním období. U dospělých samců byla zvýšená reaktivita plicních cév pozorována pouze u jedinců, kteří byli perinatálně vystaveni hypoxii.

Práce je klasicky členěna. Úvodní část tvoří stručný, nicméně konzistentní literární přehled (9 stran včetně cílů práce). Autor zde definuje základní pojmy studované problematiky (plicní cévní oběh, hypoxická plicní vazokonstrikce a hypertenze, úloha draslíkových kanálů při rozvoji hypoxické plicní vazokonstrikce, vliv perinatální hypoxie na rozvoj hypoxické plicní hypertenze u dospělých jedinců). Především poslední kapitola 1.4. „Dlouhodobé následky perinatální hypoxie“, by si asi zasloužila rozčlenit na podkapitoly, které by odděleně shrnuly dosud publikované poznatky o vlivu perinatální hypoxie na rozvoj plicní hypertenze v dospělosti a vlivu pohlaví.

Následujících 9 stran seznamuje čtenáře s použitými metodickými postupy. Text této kapitoly je systematicky rozčleněn do tří okruhů a i přes svoji stručnost v některých pasážích je dostačující. Přesto bych ale autorovi vytknul, že zde postrádám informace např. o stáří potkanů a jejich hmotnosti nebo použité dávce heparinu. Pravděpodobně chybně je uvedeno, že plíce byly perfundovány fyziologickým roztokem s albuminem (str. 14). V souvislosti s metodami bych se rád zeptal autora, jaký objem rozpouštědla DMSO byl použit pro podání flupirtinu a z jakých poznatků vycházela zvolená dávka selektivního aktivátoru KCNQ kanálů? Jaký byl důvod pro rozdílnou délku hypoxie (3 resp. 5 dní) ve studii s linopirdinem a flupirdinem?

Výsledky tvoří 11 stran a jsou dokumentovány jednou tabulkou a 13 přehlednými grafy. Na jasně prezentované výsledky navazuje 6 stran diskuze včetně závěrečného shrnutí. V diskuzi je adekvátní část věnována všem třem tematickým okruhům. I v tomto případě by čtenář ocenil, pokud by diskuze byla rozčleněna do podkapitol podle cílů práce. Vlastní spis je pak zakončen přehledem citací (98).

Po formální stránce nejsou v disertační práci zásadní pochybení. Z mého pohledu v některých pasážích práce ruší jinak celkem plynulý tok textu střídání přítomného a minulého času. Tyto mé připomínky však nemají zásadní vliv na jinak celkově dobré hodnocení práce.

Kromě některých otázek uvedených v komentáři k jednotlivým kapitolám práce, bych se ještě rád zeptal:

- 1) Jak uvádíte na straně 9, rozvoj hypoxické plicní hypertenze bývá z klinického hlediska intermitentní, období respirační insuficience se střídají s fázemi zotavení. Jaký experimentální model adaptace na chronickou hypoxii byste tedy doporučoval pro studium hypoxické plicní hypertenze na zvířecích modelech (kontinuální vs. intermitentní hypoxie)? Jakou úlohu může hrát odlišná délka normoxické zotavovací fáze?
- 2) V rámci vašich experimentů jste podávali do perfuzátu meklofenamát (Studie 1), inhibitor cyklooxygenázy. Jak uvádíte, meklofenamát dilataje izolované cévy, pravděpodobně aktivací Kv7 kanálů. Nemohou v mechanismu vazodilatace meklofenamátem hrát významnou úlohu i další signální dráhy eicosanoidů, především lipooxygenázová a cytochrom P450 epoxygenázová resp. hydroxylázová dráha? Jak se produkty těchto signálních drah uplatňují v rozvoji hypoxické plicní hypertenze?

- 3) Jaké  $\text{Ca}^{2+}$  dependentní enzymy mohou ovlivnit senzitivitu Kv kanálů resp. aktivační práh pro  $\text{Ca}^{2+}$  kanály?
- 4) Jako jedno z vysvětlení odlišné reaktivity plicních cév u dospělých potkanů perinatálně vystavených hypoxii uvádíte nedostatečnou přestavbu plicního řečiště z fetálního na adultní. Lze u těchto zvířat identifikovat zřetelné morfologické rozdíly plic v porovnání s kontrolami?

Z pohledu oponenta je zřejmé, že výzkumná práce MUDr. Vojtěcha Šedivého vedla k získání důležitých výsledků, které byly publikovány v kvalitních odborných periodikách. Po formální i odborné stránce nemá práce zásadní nedostatky. Domnívám se proto, že disertace splňuje kritéria stanovená zákonem, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě a MUDr. Vojtěchu Šedivému udělit příslušný titul.

V Praze dne 11. 9. 2016

RNDr. Jan Neckář, Ph.D.  
Fyziologický ústav AV ČR