

Oponentský posudek

Disertační práce MUDr. Petra Kaly

Úloha renální dysfunkce v patofyziologii progresu chronického srdečního selhání: preklinické studie na zvířecích modelech

Disertační práce MUDr. Petra Kaly je zaměřena na problematiku patofyziologie chronického srdečního selhání a na úlohu a farmakologické ovlivnění eikosanoidů, konkrétně epoxyeikosatrienových kyselin (EETs). V práci je využito několika zvířecích modelů, od standardních Hannover Sprague-Dawley potkanů (HanSD) přes transgenní potkany TGR(Ren2)27 s vloženým myším genem pro renin (použití heterozygotní potkani s mírnější hypertenzí bez srdečního selhání, TGR) po klíčový kombinovaný model chronického srdečního selhání navozeného objemovým přetížením v důsledku aortokavální píštěle (ACF) u hypertenzních TGR potkanů. Na základě průkazu snížené tkáňové dostupnosti EETs v myokardu levé komory a ledvině potkanů s chronickým srdečním selháním je testována centrální hypotéza práce, že zvýšením tkáňové dostupnosti EETs, ať už prostřednictvím podávání analogu EETs (EET-A) nebo inhibicí solubilní epoxid hydrolázy (sEHi), lze ovlivnit rozvoj chronického srdečního selhání včetně doby přežívání. Jedná se o ucelený soubor experimentů, které na sebe logicky navazují a zahrnují řadu pokročilých experimentálních technik: od mikrochirurgického vytvoření aortokavální píštěle přes echokardiografické vyšetření, invazivní tlakově objemovou analýzu levé komory, invazivní měření krevního tlaku, průtoku krve ledvinou, glomerulární filtrace a natriurézy až po stanovení koncentrací radioimunologicky či kombinací vysokoúčinné kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie.

Vlastní disertační práce o 88 stranách je členěna obvyklým způsobem. Po abstraktu, seznamu zkratek a obsahu následuje kapitola Teoretického úvodu, která čtenáře seznamuje s problematikou chronického srdečního selhání, jeho patofyziologických projevů a mechanismů a vhodných zvířecích modelů. Důkladná pozornost je věnována regulačním systémům, po představení úlohy autonomního nervového systému, renin-angiotenzin-aldosteronového systému a natriuretických peptidů je přehledně popsán systém eikosanoidů s důrazem na dráhu cytochromů P450 a její metabolity, EETs a 20-HETE (20 hydroxyeikosatetraenová kyselina). Po stanovení centrální hypotézy (zvýšení tkáňové dostupnosti EETs zmírní rozvoj chronického srdečního selhání) a souvisejících cílů disertační práce následuje podrobná metodická kapitola, která čtenáře seznamuje s použitými zvířecími modely (potkani HanSD, TGR, ACF TGR) a metodickými postupy. Výsledková část je členěna do dvou hlavních oddílů. První z nich se věnuje účinkům (dvoutýdenního a dlouhodobého) podávání EET-A v monoterapii či v kombinované terapii s ACEi (inhibitorem angiotenzin-konvertujícího enzymu) včetně průkazu snížené tkáňové dostupnosti EETs v myokardu levé komory a ledvině potkanů s chronickým srdečním selháním (ACF TGR). Monoterapie EET-A oddálila manifestaci srdečního selhání a zlepšila přežívání ACF TGR. Druhý oddíl je zaměřen na účinky sEHi. Přidání sEHi k ACEi nevedlo ke zmírnění progresu chronického srdečního selhání či zlepšení přežívání. Zajímavým nálezem jsou pohlavní rozdíly v účinnosti terapie: oproti podobným účinkům monoterapie ACEi u obou pohlaví vedla kombinovaná terapie ACEi a sEHi ke snížení mortality u samic, ale zvýšení mortality u samců.

Diskuze výsledků je rozdělena do tří oddílů, diskuze výsledků dosažených s EET-A, výsledků se sEHi a diskuze pohlavních rozdílů v účincích monoterapie ACEi a kombinované terapie ACEi a sEHi. Diskuze výsledků je dostatečně podrobná a přesvědčivě dokládá hluboké porozumění studované problematice, schopnost vlastní interpretace výsledků a jejich zařazení do širšího kontextu současného vědeckého poznání. Literární rozhled autora dokládá 211 citací uvedených v přehledu literatury.

Prezentované výsledky již byly úspěšně publikovány v impaktovaných časopisech (2x Q4, 1x Q2), což dokládá jejich kvalitu a novost. Vedle těchto tří publikací, na kterých je

založena dizertační práce a u kterých je MUDr. Kala prvním autorem, se autorsky (1x první autor, 1x spoluautor) podílel na dalších 3 impaktovaných publikacích, z toho dvě volně souvisejí s tématem dizertační práce (2x Q1). Autor je rovněž řešitelem dvou grantů GAUK (2018-2021, 2021-2024).

Zvolené téma dizertační práce je dle mého názoru vysoce aktuální. Chronické srdeční selhání je celosvětovým zdravotnickým i socioekonomickým problémem, patří mezi nejčastější příčiny morbidit i mortality, vykazuje dlouhodobě rostoucí prevalenci a vysokou mortalitu. Poznání patofyziologických mechanismů s cílem vývoje nových terapeutických možností je jasným imperativem, který dokládá i vysoký a každoročně rostoucí počet publikací v této oblasti.

Zvolené experimentální metody byly adekvátní řešeným problémům, jedná se vesměs o velmi pokročilé moderní postupy, které jsou zpravidla velmi pracné, náročné na provedení (aortokavální píštěl, echokardiografické vyšetření, invazivní hemodynamika) a dlouhodobé s vysokými počty (operovaných) zvířat ve skupinách vzhledem k vysoké mortalitě onemocnění. Přínos výsledků pro další rozvoj oblasti je zřejmý, autoři významně přispěli k detailnímu poznání mechanismů chronického srdečního selhání a zmapování terapeutického potenciálu EETs (snížení tkáňové dostupnosti EETs v srdci a ledvině potkanů s chronickým srdečním selháním vs. farmakologické zvýšení dostupnosti EETs). Získané poznatky jsou důležité nejen z pohledu (pato)fyziologie, ale i translační a klinické medicíny, kdy mohou potenciálně vést k novým terapeutickým možnostem u chronického srdečního selhání. 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. 19: „...a buňky macula densa vyplavující renin při snížení systémového arteriálního tlaku...“ Opravdu bylo doloženo vyplavování reninu přímo buňkami macula densa?

Str. 37: Koncentrace EETs v levé komoře a ledvině byla snížena u ACF TGR (Graf 4A-D). Tomu v levé komoře odpovídám vyšší exprese sEH u ACF TGR (při nezměněné expresi CYP2C23, Graf 4E-F)). Nicméně v ledvině byla exprese sEH (Graf 4H) zvýšena nejen u ACF TGR, ale i u kontrolního TGR (který nemá nižší koncentraci EETs). Jak si vysvětlujete tento rozpor?

Výsledky svědčí pro řadu pozitivních účinků (navýšení) EETs, nicméně se zdá, že tyto nedosahují úrovně účinků zlatého standardu, ACEi. Měl byste nějakou hypotézu, kdy by terapie s navýšením EETs byla vhodnější/výhodnější nežli ACEi? Nebo vždy pouze v kombinaci s ACEi?

Měřili jste koncentrace EETs v terapeutických režimech s EET-A a sEHi? Jak výrazné bylo zvýšení koncentrace EETs? Kombinovali jste někdy oba zásahy (EET-A a sEHi) dohromady?

Přestože použité potkaní modely poskytují cenné informace o mechanismech onemocnění, translace poznatků z potkana na klinickou úroveň má své limity. Uvažoval jste o klinicky relevantnějším modelu velkého zvířete?

Závěr:

Předložená disertační práce splňuje všechny zákonné požadavky a prokazuje předpoklady autora k samostatné vědecké práci. Doporučuji proto po úspěšné obhajobě udělit MUDr. Petrovi Kalovi akademický titul Ph.D.