

**Oponentský posudok na doktorandskú dizertačnú prácu MUDr. Martiny Novákovej
„Vlastnosti a regulace muskarinových receptorů a adrenergních receptorů“.**

Posudok vypracoval a predkladá Doc. MUDr. Boris Mravec, PhD., Ústav patologickej fyziológie LFUK v Bratislave, Sasinkova 4, Slovenská republika

Doktorandská dizertačná práca MUDr. Martiny Novákovej popisuje zastúpenie jednotlivých podtypov adrenergných a muskarínových receptorov v pľúcach a srdci ako aj vplyv stresu na množstvo adrenergných a muskarínových receptorov u experimentálnych zvierat. Práca, ktorej celkový rozsah je 113 strán, je členená klasickým spôsobom. V úvodnej časti autorka uvádza prehľad súčasných poznatkov o zastúpení jednotlivých podtypov adrenergných a muskarínových receptorov v pľúcach a v srdci, venuje sa regulácii expresie týchto receptorov za kludových podmienok a počas pôsobenia stresorov. Ciele práce sú podrobne definované, pričom autorka uvádza hypotézy, ktorých testovanie predstavovalo náplň doktorandskej práce. Nasledujú priložené publikácie, ktoré predstavujú metodickú a výsledkovú časť dizertačnej práce. Metodologické zručnosti autorky dokumentuje široké spektrum sledovaných parametrov, konkrétne stanovenie génovej expresie a väzbovej kapacity adrenergných a muskarínových receptorov, ako aj zmien v systémoch druhých poslov. V časti „Všeobecná diskusia“ autorka rozoberá získané výsledky v kontexte dostupných publikovaných prác. V závere je popísaný súhrn získaných poznatkov. Práca je napísaná na veľmi dobrej technickej úrovni (v texte sa nachádzajú iba ojedinelé preklepy) s adekvátnym počtom schém a s prehľadným znázorneným získaných údajov vo forme grafov a tabuliek (v rámci priložených publikovaných prác).

Náplňou dizertačnej práce bolo riešenie aktuálnej a významnej problematiky, k akej autonómna regulácia činnosti pľúc a srdca za pokojových a stresových situácií určite patrí. Experimentálny prístup, ktorý autorka použila, umožnil posúdiť skúmané deje v ich komplexnosti, k čomu prispela kombinácia viacerých metodík. Autorka skúmala zastúpenie jednotlivých podtypov adrenergných a muskarínových receptorov vo zvolených tkanivách na základe určenie génovej expresie, určila množstvo väzbových miest skúmaných receptorov ako aj aktivitu systémov druhých poslov. Zásadnú časť práce tvorí výskum vplyvu stresu na sledované parametre, pričom sa sledoval aj vplyv alterovanej neuroendokrinnou stresovej reakcie u myši s vyradením génom pre kortikoliberín na adrenergné a muskarínové receptory. Získané výsledky vytvárajú podklad pre potenciálne využitie poznatkov aj v klinickej praxi,

nakol'ko neprimeraná stresová reakcia predstavuje faktor, ktorý sa môže podieľať na etiopatogenéze viacerých závažných chorôb, ktoré postihujú orgánové systémy, kardiovaskulárny a respiračný nevynímajúc. Pozorované medzipohlavné rozdiely v množstve adrenergných a muskarínových receptorov v pľúcach vytvárajú podklad pre možné patofyziologické vysvetlenie medzipohlavných rozdielov v prevalencii respiračných chorôb.

K predloženej dizertačnej práci mám nasledujúce pripomienky:

- Rušivo pôsobí spôsob citovania v texte práce, ktorý je nejednotný, miestami až neštandardný, podobne ako formát citácií v časti „Literatura k uvodu a diskusi“.
- V súhrne, v poslednej vete síce autorka poznamenáva, že boli detegované zmeny v expresii a množstve receptorov v srdci u stresovaných zvierat, nepopisuje však konkrétne nálezy. Na záver súhrnu by bolo bývalo vhodné uviesť zhrnutie a popísať význam získaných výsledkov.
- Okrem klasických neurotransmiterov sympatikové a parasympatikové nervy uvoľňujú aj kotransmitery, ktoré môžu ovplyvňovať adrenergnú a cholinergnú neurotransmisiu, čo ale autorka v úvodnej časti nespomenula.
- Okrem neurotransmiterov uvoľňovaných z autonómnych nervov je ďalším významným agonistom adrenergných receptorov adrenalín uvoľňovaný z drene nadobličiek. Tento pôsobí aj na tie tkanivá, resp. ich kompartmenty, ktoré nie sú sympatikovými nervami inervované, čo mohlo byť uvedené v úvodných častiach práce (čiastočne je to spomenuté až v časti venovanej „stresu“). Podobne, agonistom muskarínových receptorov je aj acetylcholín syntetizovaný ne-neuronálnymi bunkami.
- Tak, ako autorka uvádza, z pohľadu etiopatogenézy astmy sa významným javia zmeny v zastúpení jednotlivých podtypov adrenergných receptorov. Ďalším mechanizmom ale môžu byť aj zmeny v denzite sympatikových nervových zakončení. Bolo totiž popísané, že v tkanivách, v ktorých prebieha chronický zápal dochádza k zníženiu denzity sympatikovej inervácie a naopak, k zvýšeniu denzity senzitivných nervových zakončení, ktoré uvoľňujú napr. substanciu P, ktorá pôsobí na zápal stimulačne.
- Tak ako je uvedená definícia stresu (str. 19), ktorú autorka pravdepodobne prevzala od Selyeho, nie je správna. Selye definoval stres ako nešpecifickú reakciu organizmu na pôsobenie akejkoľvek záťaže. V súčasnosti je stále diskutovanou otázkou, či sú samotné stresory za bežných situácií schopné „vyvolať“ vznik chorôb. Skôr sa zdá, že

neprimeraná stresová reakcia pôsobí ako jeden z permisívnych faktorov negatívne pôsobiacich na vývoj patologického procesu/choroby.

- Namiesto „výstupných veličín organizmu“ (str. 19) by bolo vhodnejšie použiť slovné spojenie „biologických premenných“.
- Oxidačný stres (str. 23) nie je vo všeobecnosti zaradovaný ku klasickým stresorom, aj keď je možné naň nahliadať ako na určitú formu stresora pôsobiaceho na bunkovej úrovni. Z hľadiska stresovej reakcie môže skôr ísť o jeden z negatívnych dôsledkov pôsobenia klasických stresorov.

Vyššie uvedené pripomienky neznižujú odbornú kvalitu práce, ich cieľom je predovšetkým motivácia pre ďalšiu vedecko-výskumnú prácu autorky.

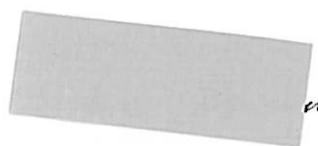
K problematike, ktorá tvorí súčasť predloženej dizertačnej práce mám nasledujúce otázky:

- Podrobne je diskutovaná úloha autonómnej inervácie a neurotransmiterov noradrenalínu a acetylcholínu v regulácii činnosti pľúc a srdca prostredníctvom autonómnych receptorov. Aký význam v regulácii týchto orgánov má extraneuronálny cholinergický systém? Akú úlohu zohrávajú kotransmitery uvoľňované z autonómnych nervov a hormóny uvoľnené z drene nadobličiek, obzvlášť adrenalín? Ako ovplyvňujú kotransmitery skúmané receptorové systémy?
- Je možné na základe získaných výsledkov vysloviť nejaký predpoklad týkajúci sa dopadu pôsobenia stresorov na činnosť srdca u pacientov s ischemickou chorobou, infarktom myokardu, prípadne zlyhávajúcim srdcom, kedy často dochádza k zvýšenej aktivácii sympatikoadrenálneho systému? Aký môže byť význam zmien v počte jednotlivých podtypov receptorov, napríklad β_3 podtypu adrenergných receptorov v uvedených patologických stavoch?
- Autorka predpokladá, že medzipohlavné rozdiely v skúmaných receptoroch môžu zodpovedať za medzipohlavné rozdiely v prevalencii chorôb dýchacích ciest (napr. astma). Aké ďalšie faktory sa môžu podieľať na uvedených medzipohlavných rozdieloch v prevalencii chorôb dýchacích ciest a aký môže byť ich vzťah k skúmaným receptorovým systémom?

Záver:

Autorka si zvolila aktuálnu tému, ktorej exaktné rozpracovanie svedčí o podrobnej znalosti študovanej problematiky. Komplexný experimentálny prístup, ktorý autorka zvolila, jej umožnila preveriť platnosť predpokladov týkajúcich sa zastúpenia jednotlivých podtypov adrenergných a muskarínových receptorov v pľúcach a srdci ako aj platnosť predpokladov týkajúcich sa vplyvu stresu na skúmané receptory. Významným prínosom práce je viacero originálnych zistení, ktoré zásadne prispievajú k pochopeniu mechanizmov autonómnej regulácie činnosti tkanív pľúc a srdca a to ako za pokojových podmienok, tak aj počas pôsobenia stresorov. Osobitne je potrebné vyzdvihnúť doterajšiu publikačnú aktivitu autorky v renomovaných zahraničných časopisoch, čo svedčí o jej odbornej vyspelosti.

Na základe vyššie uvedených skutočností navrhujem aby v prípade úspešnej obhajoby bola MUDr. Martine Novákovej udelená vedecko-akademická hodnosť „philosophiae doctor“.



Doc. MUDr. Boris Mravec, PhD.
Ústav patologickej fyziológie LFUK
Bratislava

V Bratislave 11. 11. 2011