

Oponentský posudek disertační práce

MUDr. Jiřího Beneše, Jr.

Vývojové mechanismy arytmií – úloha konexinů v arytmogenezi

Disertace byla vypracována v Anatomickém ústavu 1. Lékařské fakulty UK v Praze ve spolupráci s Oddělením kardiovaskulární morfogeneze Fyziologického ústavu AV ČR. Zabývá se především změnami exprese konexinů a architektury převodního systému v souvislosti s vývojovými změnami aktivace srdečních oddílů a šíření vzruchu během embryogeneze. Druhá část je pak věnována konexinu Cx43 a jeho případné úloze při vzniku poruch srdečního rytmu během rozvoje objemového srdečního selhání v dospělosti. Jako experimentální modely byla použita embryonální srdce kontrolních a transgenních myší s deficitem konexinu Cx40 (homozygoti i heterozygoti) ve stádiích 9,5ED – 18,5ED a dále srdce dospělých potkanů 11 a 21 týdnů po provedeném aortokaválním zkratu. V experimentech byla, kromě standardních morfologických, histologických a biochemických metod, využívána zejména vysoce specializovaná technika optického mapování, která detekuje intenzitu fluorescence látky citlivé na změny membránového potenciálu pomocí mikroskopu s vysokorychlostní kamerou. Je nutné vysoce ocenit, že kandidát úspěšně zvládl tuto náročnou techniku, což jednoznačně dokládají kvalitní a originální výsledky shrnuté v této disertační práci.

Práce je sepsána úspornou formou, obsahuje 50 stran textu včetně obrazové dokumentace a seznamu 120 použitých citací, které zahrnují jak práce historické, tak nejnovější články vztahující se k tématu. Je členěna obvyklým způsobem na literární úvod, popis metodiky, výsledkovou část a stručnou diskuzi se závěry. Dále je spis doplněn přílohami, které obsahují kopie pěti publikovaných článků, jichž je kandidát hlavním autorem či spoluautorem. Tři z nich tvoří podklad disertační práce a zbývající dva se zabývají problematikou, která s tématem disertace volně souvisí.

14 stran teoretického úvodu je věnováno především různým aspektům vývoje převodního systému srdečního s důrazem na změny v zastoupení a distribuci jednotlivých typů konexinů a jejich úloze v arytmogenezi. Tato kapitola svědčí o znalosti tématu a dobré orientaci kandidáta v příslušné problematice. Moje výhrada se týká pouze odstavce na str. 13, který popisuje iontové kanály zodpovědné za spontánní aktivitu buněk sinoatriálního uzlu poněkud zjednodušeně a nepřesně. Zmíněný sodíkový kanál SCN5A chybí v buňkách centrálního sinoatriálního uzlu, který je dominantním pacemakerem. Na spontánní diastolické depolarizaci se podílí nejen kanál HCN, který vytváří „funny current“, ale částečně také vápníkové kanály typu T a L a draslíkový kanál GIRK, který je důležitým efektoem autonomní regulace tepové frekvence. Kanál RYR (ryanodinový receptor sarkoplasmatického retikula) může přispívat k pacemakerové aktivitě pouze nepřímo prostřednictvím aktivace elektrogenního sodíko-vápníkového výměníku v důsledku spontánního uvolňování vápenatých iontů do cytosolu. CASQ není kanál, ale vazebný protein, který váže vápenaté ionty v lumen sarkoplasmatického retikula a funkci pacemakeru může ovlivňovat pouze interakcí s kanálem RYR. Omluvou pro tyto nepřesnosti může být skutečnost, že mechanismus diastolické depolarizace není hlavním tématem disertace.

Druhá část úvodu se pak krátce věnuje obecně patogenezi srdečního selhání a souvisejícím změnám na úrovni konexinů, chybí však údaje o tom, co je dosud známo o konexinech při objemovém selhání, kterým se disertace konkrétně zabývá.

Výsledky jsou shrnuty na 11 stranách přehledným způsobem včetně 8 panelů s obrazovou dokumentací. Je nutné vyzdvihnout především dokonalou kvalitu morfologických a histologických obrázků a aktivačních map, které přesvědčivě dokumentují pozorované vývojové změny. Není sporu o tom, že kandidátovi se podařilo získat řadu originálních výsledků, které významně rozšiřují a upřesňují současné znalosti o vývoji převodního systému srdečního a jeho vlastností vzhledem ke změnám exprese a distribuce konexinů během embryogeneze. Za zvláště cenné lze považovat výsledky, které ukázaly, že deficit Cx40 vede k blokadě pravého Tawarova raménka a prodloužení aktivačního času komor v pozdějších fázích embryonálního vývoje. O významu této práce nejlépe svědčí skutečnost, že byla publikována ve vysoce prestižním periodiku s přísným recenzním řízením. Zajímavý je také nález výrazného poklesu exprese, fosforylace a redistribuce Cx43 v srdcích dospělých potkanů, selhávajících v důsledku objemového přetížení (je jen škoda, že do dokumentace nebyl zařazen také graf, který přesvědčivě ukazuje výsledky získané metodou Western blot). Hlavní dosažené výsledky jsou znovu stručně shrnuty na závěrečných 5 stranách, včetně diskuse možných důsledků pro funkci převodního systému a arytmogenezi.

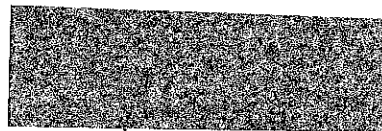
Jakkoliv nepochybuji o odborných kvalitách disertace, nelze pominout skutečnost, že formální stránce spisu mohla být věnována poněkud větší pozornost. V textu se místy vyskytují nepřesné či stylisticky neobratné formulace, anglikanismy i drobné gramatické a typografické chyby, které zbytečně odvádějí pozornost čtenáře od odborné stránky. V seznamu použité literatury například u řady článků chybí rok vydání.

Přes tuto formální výhradu hodnotím disertační práci jako kvalitní a přínosnou. Nemám žádné závažné připomínky, pouze dotaz k diskusi na straně 43, kde je ztráta funkčnosti pravého Tawarova raménka u Cx40-deficitních myších embryí vysvětlována postupným ztenčováním této struktury v pozdějších stádiích embryogeneze. Není jasné, jakým mechanismem by samotná struktura (šířka) raménka mohla ovlivňovat rychlost vedení, aniž by byla doprovázena změnami na úrovni iontového transportu.

Závěr:

Oponovaná disertační práce přináší řadu prioritních výsledků a nových poznatků, které významně rozšiřují současné znalosti a představy o úloze konexinů během embryonálního vývoje převodního systému srdečního a při rozvoji objemového srdečního selhání ve vztahu k arytmogenezi. Výsledky, které jsou součástí disertace, byly publikovány ve třech článcích v renomovaných zahraničních časopisech a prošly náročným recenzním řízením. Kandidát prokázal, že ovládá vědecké metody, má potřebné teoretické vědomosti a je schopen samostatné výzkumné činnosti. Jsem přesvědčen, že disertace splňuje požadavky stanovené zákonem, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě a MUDr. Jiřímu Benešovi, Jr. udělit titul Ph.D.

V Praze, 6. 1. 2014



prof. RNDf. František Kolář, CSc.
Fyziologický ústav AV ČR