

## Oponentský posudek disertační práce MUDr. Jana Beneše

### REGULACE RECEPTORŮ SPŘAŽENÝCH S G PROTEINY

Předkládaná disertační práce vypracovaná na Fyziologickém ústavu 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze se zabývá analýzou důsledků genového vyřazení  $M_2$ -receptorů u myši, a to zejména v srdci.

Práce je přehledně členěna do 7 částí. Úvodní kapitola na 25 stranách podává souhrn o buněčné signalizaci zprostředkované receptory spřaženými s G proteiny. V první části Úvodu autor uvádí přehled některých membránových receptorů a zvláštní kapitolu věnuje G proteinům, jejich klasifikaci, struktuře a způsobům aktivace. Další kapitoly Úvodu už zasvěceně vysvětlují problematiku adrenergních a cholinergních receptorů, nejprve v celém organismu a následně v srdci. Pozitivním rysem úvodní části práce je souhrn současných poznatků o důsledcích genového vyřazení uvedených receptorů jednotlivě a ve vzájemných kombinacích.

Cíle disertační práce uvedené v její druhé části jsou metodicky velmi ambiciózní, ale věcně opodstatněné – zabývají se různými aspekty důsledků vyřazení genu pro  $M_2$ -receptory u myši a zahrnují dlouhodobé sledování kardiovaskulárních parametrů, zjištění exprese a funkce různých cholinergních, ale také adrenergních receptorů v srdci za klidových podmínek a po působení chladového stresu.

Spektrum zvolených experimentálních metod je velmi široké, autor si osvojil řadu ověřených molekulárně biologických a biochemických postupů (vazebné studie, studie genové exprese, stanovení aktivity adenylcyklázy, NO-syntázy, enzymů zodpovědných za syntézu katecholaminů a koncentrace katecholaminů) a moderních metod studia funkce srdce a jeho inervace (echokardiografie, telemetrický monitoring a analýza variability tepové frekvence), které vyžadují zručnost experimentátora i jeho teoretickou způsobilost.

V další části autor uvádí přehledně výsledky měření a bohatě je dokumentuje grafy a tabulkami. Disertační práce přináší původní nálezy týkající se exprese různých typů  $\beta$ -adrenergních receptorů v srdci myši s vyřazeným genem pro  $M_2$ -receptory. I když exprese  $\beta_3$ -receptorů nebyla na úrovni mRNA stanovena, vazebné studie ukazují na jejich up regulaci, a tím i na možnost převzetí zástupné role za chybějící muskarinové receptory. Možnost ovlivnění adrenergního signalizačního systému prostřednictvím „antagonistického“ cholinergního je nálezem, který má význam pro další studium

vzájemných vztahů různých receptorových systémů ve zdraví a nemoci.

Předložená disertační práce řeší aktuální problematiku, která se netýká jen fyziologie a patofyziologie kardiovaskulárního systému, ale všech tkání a orgánů, jejichž činnost je řízena nebo modulována duálním vlivem autonomního nervového systému. Nespornou předností práce je kromě nových vědeckých poznatků také zvládnutí mnoha velmi různorodých experimentálních a metodických postupů, které svědčí o komplexním přístupu autora k řešenému problému. Práce je sepsána pečlivě se snahou o přiměřenou stručnost, ale zároveň sdílnost. Drobné gramatické chyby nejsou na překážku srozumitelnosti.

K práci nemám žádné věcné výhrady, dovolím si položit jen dva doplňkové dotazy:

1. Jaké faktory by mohly podle Vašeho názoru přispívat ke zvýšené srdeční frekvenci u myši s vyřazeným M<sub>2</sub>-receptorem?
2. Jaké rozdíly mezi pravou a levou komorou by mohly vést k heterologní regulaci adrenergických receptorů u knockoutovaných myší?

Předložená disertační práce MUDr. Jana Beneše má výbornou úroveň po formální i obsahové stránce a potvrdila, že autor je schopen samostatně vědecky pracovat a řešit komplexní problematiku za použití relevantních prostředků a s přínosnými závěry.

Na základě uvedených skutečností doporučuji udělit MUDr. Janu Benešovi akademický titul

**„philosophiae doctor“ (Ph.D.).**



Doč. MUDr. Jitka Kuncová, Ph.D.  
Ústav fyziologie  
Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Plzni  
Lidická 1  
301 66 Plzeň

V Plzni, dne 5. května 2014.