

Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Dmitry Manakova

PROTEIN PROFILING, METABOLIC ENZYMES AND TRANSMEMBRANE SIGNALING IN THE HEART OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE SHR-TG19 RAT

PROTEINOVÝ PROFIL, METABOLICKÉ ENZYMY A TRANSMEMBRÁNOVÁ SIGNALIZACE
V MYOKARDU SPONTÁNNĚ HYPERTENZNÍHO POTKANA KMENE SHR-TG19

Studijní program: Fyziologie živočichů, P1521

Autor: Mgr. Dmitry Manakov

Školitel: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Oponent: doc. MUDr. Jitka Kuncová, Ph.D.

Dizertační práce byla vypracována pod vedením doc. RNDr. Jiřího Novotného, DSc., na Katedře fyziologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v rámci doktorského studia v programu Fyziologie živočichů. Zabývá se důsledky náhrady genu pro translokázu mastných kyselin Cd36 u spontánně hypertenzních potkanů na úrovni proteinového složení, mitochondriální funkce a aktivity vybraných enzymů v srdci a expresi a distribuci komponent beta-adrenergního signálního systému v membránových lipidových raftech izolovaných z levé a pravé srdeční komory. Ve studii autor porovnává nálezy u dvou kmenů potkanů – spontánně hypertenzního SHR/Ola a SHR-Tg19 nesoucího gen pro Cd36.

Práce má celkem 134 stran a je přehledně členěna do vzájemně vyvážených kapitol, tj. úvodního přehledu současných znalostí týkajících se zkoumané problematiky (25 stran), stručně a výstižně charakterizovaných cílů dizertační práce (1 strana), popisu použitých metod (12 stran), výčtu výsledků (28 stran), rozpravy o získaných datech ve vzájemných souvislostech (17 stran), stanovení nevýznamnějších závěrů (2 strany) a přehledu literárních zdrojů (více než 300).

Úvod se přímo vztahuje ke zkoumané problematice, vzhledem ke komplexnosti práce je velmi hutný, přesto však i méně zasvěcenému čtenáři poskytuje srozumitelný přehled o zkoumaných problémech, přesvědčivě dokládá potřebnost jejich studia a informace nezbytné pro pochopení výběru experimentálních metod.

Popis metod použitých pro řešení cílů práce svědčí o tom, že autor si osvojil řadu sofistikovaných experimentálních metod a postupů, od spektrofotometrického stanovení aktivity vybraných enzymů po vysoce účinnou respiometrii, proteomickou analýzu tkání, imunoblotting a imunofluorescenční zobrazování. Rutinní zavedení každé z nich představuje složitý úkol vyžadující řadu pilotních experimentů. Za drobný nedostatek považují chybějící popis statistických metod použitých v analýze získaných výsledků (jsou uvedeny pouze v autoreferátu).

Původní výsledky práce zahrnují popis zajímavých změn v expresi proteinů pravé a levé komory u transgenních potkanů s pečlivou analýzou mezikomorových rozdílů pomocí dvou proteomických přístupů. Proteomická analýza je vhodně doplněna stanovením exprese proteinů zájmu imunoblotem

a potvrzením jejich funkčnosti pomocí spektrofotometrického stanovení jejich aktivity, případně metabolickými důsledky změn exprese některých proteinů prostřednictvím vysoce účinné respirometrie. Za obzvláště cenné považuji porovnání dat z pravé a levé komory srdeční, jejichž vztah k funkčním a morfologickým rozdílům mezi oběma komorami sice není plně objasněn, ale představují další doklad svědčící pro nutnost analýzy pravokomorového myokardu v souvislosti s arteriální hypertenzí. V diskusi autor rozebírá nejen potenciální vztah nalezených výsledků k patofyziologii hypertenzního poškození myokardu, ale snaží se diskutovat i zdánlivě rozporuplné nálezy.

K práci nemám žádné vážné výhrady, dovoluji si položit jen tři doplňkové dotazy:

1. Popisujete zajímavé mezikomorové rozdíly v mnoha Vámi měřených parametrech a v úvodu komentujete potenciální vzájemnou nezávislost hypertrofie a vysokého arteriálního krevního tlaku u SHR potkanů. Jaké jsou morfologické a funkční parametry (jsou-li známy) pravé komory u SHR potkanů ve srovnání se zdravými zvířaty kmene Wistar (tj. např. echokardiografické, elektrofyziologické, histologické, biochemické)? Dochází k hypertrofii pravé komory ve stejné době jako levé?

2. Na straně 16 uvádíte, že Cd36 je významným prostředníkem adherence erytrocytů napadených *Plasmodium falciparum* k endoteliálním povrchu. Je známo, zda se genetické varianty *CD36* u lidí liší průběhem malarického onemocnění a zda existuje nějaká korelace mezi variantami *CD36* a kardiovaskulárními chorobami?

3. V respirometrické části uvádíte experimentální teplotu 25 °C a substráty spojené s aktivací komplexu I malát a glutamát. Z jakého důvodu byla právě tato teplota vybrána pro oxygrafii? Zkoušeli jste také jiné varianty substrátů, tj. zejména kombinaci s pyruvátem?

Mgr. Dmitry Manakov předkládá k obhajobě dizertační práci s jednoznačně stanovenými experimentálními cíli a jasně formulovanými závěry. Práce potvrdila, že autor je schopen samostatně řešit komplexní vědeckou problematiku a výsledky své práce adekvátně uplatnit. Je hlavním autorem nebo spoluautorem 3 publikací v mezinárodních impaktovaných časopisech, které byly již 9× citovány (bez autocitací). Lze konstatovat, že dizertační práce splnila svůj cíl.

Na základě uvedených skutečností doporučuji udělit Mgr. Dmitry Manakovovi akademický titul

doktor (Ph.D.).

doc. MUDr. Jitka Kuncová, Ph.D.
Ústav fyziologie
Lékařská fakulta v Plzni
Univerzita Karlova
alej Svobody 76
323 00 Plzeň

V Plzni, dne 3. prosince 2018.