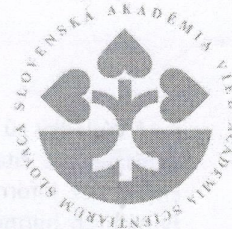




CENTRUM EXPERIMENTÁLNEJ MEDICÍNY SLOVENSKEJ AKADEMIE VIED

Dúbravská cesta 9, 841 04 Bratislava



Posudok na dizertačnú prácu Mgr. Veroniky Tibenskej

***“Vliv chladové adaptace na aktivaci adrenergických a tyroidních signálních drah
v myokardu potkana”***

Zámerom dizertačnej práce bolo objasniť signálne dráhy v srdcovom svale, ktoré sú aktivované v adaptačnej odpovedi organizmu na chlad, konkrétne tykajúce sa β -adrenergného a tyroidného systému. Je známe, že otužovanie alebo adaptácia na chlad je spojená so zvýšenou odolnosťou organizmu voči komunikačným aj nekomunikačným ochoreniam. Tým sa znižuje riziko vzniku kardiovaskulárnych ochorení, ktoré majú stúpajúci trend napriek neustálemu pokroku v diagnostike a liečbe. Najúčinnějšíou prevenciou je kardiovaskulárnym ochoreniam predchádzať a tomu prispieva zdravý životný štýl ako i aktivity, včítane adaptácie na chlad, podnecujúce endogénne ochranné mechanizmy. Tato problematika je zaujímavá a aktuálna z hľadiska získania nových informácií obohacujúcich poznanie o endogénnej ochrane organizmu a jej dopadu na srdcový sval.

Dizertačná práca je klasicky štruktúrovaná na 128 stranách a dokumentovaná 24 obrázkami. V literárnom prehľade sú veľmi dobre spracované a prezentované kľúčové informácie týkajúce sa problematiky dizertačnej práce. Sú to kapitoly o tepelnej homeostáze, katecholamínoch, včítane ich receptorov a o tyroidných hormónoch. Nasleduje uvedenie hlavných cieľov dizertačnej práce, ktoré spočívajú v definovaní expresie β -adrenergných receptorov a ich kolokalizácie so sarkolémou ako i expresie spriahnutých G-proteínov v myokarde potkanov vystavených krátkodobému chladu (8 ± 1 °C) počas 3 a 10 dni a tiež u potkanov adaptovaných na chlad počas 5 týždňov a následnej 2 týždňovej regresii. V tomto modeli sa sledovala aj expresia a lokalizácia receptorov tyroidných hormónov, THR α 1 a THR β 1. Experimentálny protokol, metodické prístupy a štatistické vyhodnotenie sú jasne a precízne popísané. Nasleduje kapitola výsledkov, ktorá detailnejšie charakterizuje adrenergnú signalizáciu prostredníctvom β -1, β -2 a β -3 adrenergných receptorov u skúmaných modelov a tiež charakterizuje úroveň expresie THR α 1 a THR β 1 u chronického modelu. Výsledky sú vzorne dokumentované tabuľkami, western blotmi, grafmi a mikroskopickými obrázkami a hodnotené štatisticky. Originálne výsledky sú adekvátne diskutované a kľúčové informácie sú vyjadrené vo výstižnom závere. Dizertačná práca je ukončená zoznamom použitej literatúry a prílohami.

Z prezentovaných výsledkov vyplýva, že signálna dráha β 1-AR-Gs-adenylátcykláza-proteínkináza A, ktorej dlhodobá aktivácia je pre kardiomyocyty detrimentálna, nie je chladom tangovaná. Zvýšenie troch izoforiem inhibičných podjednotiek G-proteínu (G α i 1-3) bolo zistené akútne, po 3 dňoch chladovej expozície, zatiaľ čo po desiatich dňoch, ani po 5-týždňoch, sa ich hladina už nemení. Je však zaujímavé, že po návrate do normotermných podmienok G α i znovu významne narastajú. Pozoruhodným je originálne zistenie aktivácie β 2-AR-proteínkinázy B (Akt) v regresnej fáze po adaptácii na chlad ako aj aktivácia β 3-AR, keďže tieto dráhy sa asociujú s kardioprotektívnymi mechanizmami.

Zaujímavé originálne výsledky podnecujú ďalšie štúdium za účelom komplexnejšieho objasnenia kardiálnych a extra-kardiálnych molekulárných mechanizmov regulujúcich procesy adaptácie na chlad. Taktiež vyzývajú ku klinickým štúdiám zameraným na testovanie adaptácie na chlad v prevencii kardiovaskulárných ochorení a ako aditívny prístup pri liečbe týchto ochorení.

V súvislosti s problematikou dizertačnej práce a prezentovanými výsledkami mám niektoré pripomienky a otázky.

P-1/ Výsledky sú veľmi výstižne charakterizované v záveroch, zatiaľ čo v abstrakte nie sú dostačujúco popísané pre čitateľa poučné informácie získane pri skúmaní danej problematiky. V kontexte cieľov chýba tiež informácia o výsledkoch tyroidnej signalizácie, ktorá sa sledovala na úrovni receptorov tyroidných hormónov. I keď sa ich expresia v srdci výrazne nemenila v odpovedi na chlad v danom modeli, to ešte nevyklučuje ich účinky ovplyvňujúce termoreguláciu. Okrem toho sú známe na receptoroch nezávisle, negenomové účinky tyroidných hormónov, ktoré majú vplyv na funkciu srdca. V literatúre (Tsibulnikov 2020) sa uvádza zvýšenie deiodázy a teda T3 v adaptácii na chlad.

O-1/ Stanovovali sa cirkulujúce hladiny tyroidných hormónov v sledovaných experimentálnych modeloch?

P-2/ Laboratórny potkan je rutinne používaný pre experimentálne účely. Jeho metabolizmus aj charakteristiky srdca sa však významne líšia od človeka (napr. frekvencia srdca, zastúpenie iónových kanálov, atď.).

O-2/ Ako by sa dal interpretovať význam či opodstatnenosť získaných výsledkov v kontexte adaptácie na chlad u človeka?

P-3/ Je potrebné oceniť, že v práci sa skúmali nielen proteínové hladiny receptorov pre adrenergenú a tyroidálnu signalizáciu, ale sa sledovala aj ich *in situ* lokalizácia na rezoch zo srdcového svalu.

O-3/ Z metodického opisu nie je jasné z ktorého oddielu srdca sa nakrájali kryostatové rezy? Bolo to septum, či ľavé komory, ktoré sa použili na imunofluorescenčné detekcie skúmaných receptorov? Okrem toho výraz imunoznačenie vzoriek nie je správny. Tiež by ma zaujímalo čo si myslíte o spoľahlivosti použitých protilátok voči β -AR či neznačili aj iné proteíny (*cross reaction*) ako to naznačuje nielen membránová, ale aj intenzívna cytoplazmatická imunopozitivita na mikroskopických obrázkoch?

P-4/ V prípade lokalizácie receptorov tyroidných hormónov by sa očakávala dominantná imunopozitivita v jadre kardiomyocytov. Z prezentovaných obrázkov to však nie je jasné.

O4/ Môžete sa k tomu vyjadriť?

P-3/ V tabuľke sa uvádzajú pomery hmotnosti srdca k hmotnosti tela potkana. Tento údaj má svoju výpovednú hodnotu. Hmotnosť tela experimentálnych potkanov bola však variabilná preto informácie o zmenách absolútnych hodnôt hmotnosti srdca má svoju výpovednú hodnotu okrem iného aj v súvislosti s proteínovými analýzami v srdcovom svalce.

O-3/ Čo si o tom myslíte?

Napriek uvedeným pripomienkam, ktoré sú skôr podnetmi pre uvažovanie, hodnotím dizertačnú prácu pozitívne. Doktorandka splnila zadefinované ciele a originálne výsledky obohacujú poznanie v oblasti výskumu zameraného na mechanizmy endogénnej ochrany funkcie srdcového svalu.

Dizertačná práca spĺňa podmienky vyžadované pre udelenie titulu Ph.D., a preto ju odporúčam k obhajobe.

V Bratislave 4.5.2021

RNDr. Narcisa Tribulová, DrSc.