



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

OPONENTSKÝ POSUDEK

Autor práce: MUDr. Petr Kala

Název práce: Úloha renální dysfunkce v patofyziologii progresu chronického srdečního selhání: preklinické studie na zvířecích modelech

Druh práce: doktorská disertační práce

Školitel/konzultant: prof. MUDr. Josef Veselka, CSc. / prof. MUDr. Luděk Červenka, CSc, MBA.

Pracoviště: 2. LF UK

Obor DSP: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předkládaná disertační práce se zabývá experimentálním výzkumem patofyziologických mechanismů účastnicích se na rozvoji chronického srdečního selhání (CHSS) a související renální dysfunkce na *in vivo* modelu u potkana a také možnostmi farmakologické intervence pomocí inhibitorů ACE (ACEi), látek zvyšujících účinky epoxyeikosatrienových kyselin (tzv. EETs) a kombinací těchto léčiv. Práce se zabývá velmi aktuálním tématem, má celkem 88 stran a opírá se 211 citací relevantní literatury.

Teoretický úvod je rozsahem přiměřený a dobře napsaný. Zabývá se obecnou charakterizací CHSS, experimentálními modely a patofyziologickými aspekty tohoto onemocnění se zaměřením na hemodynamické změny, deficit iontů železa, dysregulaci vegetativního nervového systému a renin-angiotenzin-aldosteronového systému a úloze natriuretických peptidů. Samostatná část je pak věnovaná úloze eikosanoidům a zvláště pak biologicky aktivním epoxyeikosatrienovým (EETs) a hydroxyeikosatetraenovým látkám (tzv. HETEs), které jsou předmětem experimentálního studia v této práci. Úvod dobře koresponduje se zbytkem práce. Pouze bych si dovedl představit v kontextu farmakologického ovlivnění ACE více zmínit možnou roli bradykininu a systematictější představení informací o receptorech zprostředkávajících účinky EETs.

Experimentální část disertace je postavena na 3 prvoautorských původních pracích Dr. Kaly, které byly publikovány v mezinárodních časopisech s IF. Tyto práce již prošly podrobných oponentním řízením, což je z prezentovaných výsledků a jejich interpretace zřejmé. Tento fakt vysvětluje, proč k výsledkům nemám závažnější připomínky, pouze několik drobných formálních poznámek, a hlavně pak dotazy jako náměty do odborné diskuse k disertační práci.

Na tomto místě je třeba také ocenit, že autor významně **převyšuje standardní požadavky na publikační činnost studentů DSP (6 publikací celkem, 5 x jako hlavní autor)**. Krom již zmíněných 3 prvoautorských publikací, je také prvním autorem další původní práce publikované v časopise s IF, která volně souvisí s tématem disertace a u další práce se vztahem k tématu je spoluautorem (vedle toho je také prvním autorem jedné práce bez vztahu k tématu disertace).

Získání experimentálních dat prezentovaných v této disertační práci bylo náročným výzkumným úkolem. Tento fakt je zřejmý ze značného počtu sérií *in vivo* experimentů, z množství experimentálních skupin, celkového počtu pokusných zvířat a dlouhodobého charakteru těchto pokusů (až 50 týdnů). V neposlední řadě bylo třeba provést řadu chirurgických zákroků a náročných vyšetření (např.





UNIVERZITA KARLOVA

Lékařská fakulta v Hradci Králové

echokardiografie a invazivní PV vyšetření). Tyto výsledky jsou jistě výsledkem aktivního přístupu dr. Kaly (viz počet prvoautorských publikací), ale také zkušeností, metodického a personálního zázemí, které se mu dostalo v Centru experimentální medicíny IKEM, kde byla většina experimentů realizována.

Po stručné charakterizaci pracovních hypotéz a hlavních cílů práce, je popsán použitý *in vivo* model CHSS navozeného u potkana pomocí objemového přetížení prostřednictvím chirurgicky vytvořené aorto-kavální píštěle (ACF).

V části 5. a 6. je pak popsán design jednotlivých sérií *in vivo* experimentů směřujících k získání odpovědi na dílčí cíle práce s následnou prezentací výsledků a jejich diskusí. Navzdory velmi komplexnímu charakteru experimentální práce a komplikovanému uspořádání jednotlivých experimentů se tak daří udržet přehled o tom, jak konkrétní experimenty probíhaly, jaké přinesly výsledky a také o jejich možné interpretaci. K prezentaci výsledků lze mít drobné formální připomínky (např. výsledky analýzy exprese proteinů metodou Western blot by měly být konvenčně doprovázeny ukázkou imunodetekce analyzovaného proteinu a proteinu sloužícímu ke kontrole nanášky – Graf 4, str. 37E-H). Rozdělení diskuse podle podtémat je praktické, ale v některých částech to poněkud znesnadňuje souhrnnou diskusi vzájemně významově propojených výsledků prezentovaných (a diskutovaných) zvláště. Nicméně z textu je patrná snaha se s tímto úskalím vyrovnat.

Mezi hlavní nálezy a závěry práce patří: CHSS indukované u TGR potkanů pomocí vytvoření ACF je provázeno deficitem EETs v myokardu LK a také v ledvinách, což souvisí patrně zejména s jejich zvýšeným rozkladem. Podávání ACEi a EETs mimetik (EET-A a inhibitoru rozkladu endogenních EETs) v monoterapii má pozitivní vliv na přežití pokusných zvířat s CHSS navozených ACF, nicméně na výsledek kombinační léčby může mít vliv způsob farmakologické modulace EETs (podání analogu EETs vs. inhibice rozkladu EETs pomocí inhibitorů solubilní epoxid hydrolázy), ale zřejmě také kmen potkana (TGR vs HanSD) a v případě TGR i pohlaví potkana. Řada získaných výsledků a závěrů je originálních, velmi zajímavých a stimulujících/směřujících další výzkum v této oblasti.

K práci mám následující dotazy, které jsou myšleny jako příspěvek do odborné diskuse k získaným výsledkům:

1. Mohl by autor stručně shrnout poznatky o molekulárních cílech (receptorech), které zprostředkovávají účinky EETs? Mají tyto endogenní látky vlastní receptory tak jako např. prostaglandiny nebo leukotrieny? Bylo by možné blíže představit farmakologické modulátory této dráhy použité v této práci?
2. Ačkoliv dávkování studovaných léčiv bylo v předchozích studiích optimalizováno pro monoterapii u potkana, nelze vyloučit, že v případě TGR s ACF a kombinace léčiv může být dávkovací optimum těchto léčiv jinde (nejen s ohledem na diskutovaný hypotenzivní účinek). To by mohlo být jedním z dalších možných vysvětlení některých překvapivých výsledků této práce. Oponent si je dobře vědom jak náročný úkol (s nejistým výsledkem) by bylo ověřit tuto





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

teorii experimentálně v dlouhodobých studiích užitých v této práci. Nicméně domnívá se, že za zvážení tato hypotetická možnost stojí.

3. Model ACF navozeného CHSS je na pracovišti dobře zavedený a má řadu výhod. Nicméně byly zkoumané klíčové patogenetické mechanismy a farmakologické intervence (zejména modulace účinku EETs) hodnoceny i na jiných modelech CHSS s odlišným mechanismem vzniku tohoto patologického stavu? Jestli ano, tak s jakými výsledky v porovnání s daty získanými v této práci?
4. Navození ACF u samců TGR vede k podstatně rychlejšímu nástupu předčasných úhynů než u samic a také v porovnání s non-transgenními HanSD potkany, což je velmi zajímavý výsledek. Oproti neléčené skupině je také mnohem výraznější protektivní účinek ACEi na přežití u samců TGR s ACF v porovnání se samicemi (ale i HanSD potkany s ACF a stejnou léčbou). Celkové procentuální přežití ve skupině samců TGR s ACF léčených ACEi bylo dokonce lepší než u samců HanSD s ACF a stejnou léčbou. Čím si tyto výsledky vysvětlujete?
5. V návaznosti na předchozí otázku – je možné, že u samců TGR s ACF navozeným CHSS je výrazná indukce RAAS dominantním patogenetickým faktorem, což by mohlo vysvětlovat obdivuhodnou citlivost k léčbě ACEi? Nemohlo by to také znamenat, že účinek ACEi lze proto jen obtížně významně dále zlepšit kombinací léčbou s modulátory účinku EETs? Zatímco u samic TGR s ACF může být role RAAS o něco méně významná, a proto může být benefit z kombinace s EETs mimetiky relativně významnější (např. jak tomu bylo pozorováno při podávání inhibitorů sEH)? Studie s podáním EET-A byla provedena jenom na samcích, jaké výsledky byste očekávali u samic?

Závěr: předkládaná disertační práce splňuje nároky na kvalifikační práci daného charakteru, prezentované výsledky byly publikovány v mezinárodních časopisech s IF a již prošly recenzním řízením. Autorský podíl Dr. Kaly je zjevný mj. z toho, že je u všech tří původních prací prvním autorem. Téma práce je velmi aktuální, vědecky zajímavé a jeho řešení je důležité i pro klinickou medicínu. **Dr. Kala tedy jasně prokázal předpoklady k samostatné vědecké práci, a proto plně doporučuji jeho disertační práci jako jeden z podkladů pro udělení titulu Ph.D.**

V Hradci Králové dne 22. 8. 2022

Doc. PharmDr. Martin Štěrba, Ph.D.
Ústav farmakologie
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Univerzita Karlova
Tel. 495816 312

