



Urologická klinika FN a
LFUK Hradec Králové

**UROLOGICKÁ KLINIKA
FAKULTNÍ NEMOCNICE A LF UK
HRADEC KRÁLOVÉ
500 05 Hradec Králové, Sokolská ul. 581
tel. 49/583 33 78, fax. 49/583 20 96**

Posudek oponenta

**Název práce: On Purinoreceptores in the Rat Urinary Bladder
Autor: Mgr. Renata Veselá**

Předložená disertační práce je rozsahu 167 stran. Disertační práce obsahuje 101 stranu a jako přílohou jsou čtyři autorčiny publikace v plném znění na 66 stranách. Vlastní práce vychází ze 141 literárního zdroje.

Disertační práce analyzuje data získaná vlastním výzkumem zaměřeným na purinergní receptory močového měchýře. Zvolené téma je velmi aktuální. Hlavním důvodem je známá vysoká incidence dysfunkcí močového měchýře. Dále je známý fakt, že účinnost současné farmakoterapie je pouze omezená. Toto téma je spolu s uroonkologickými tématy velice častým cílem výzkumu a mnoha publikací zaměřených na močový trakt.

Práce je formálně dobře seřazena. Obsahuje úvod do problematiky, teoretickou část, cíle, materiál a metody, výsledky, diskuzi, závěry a literární zdroje.

Autorka v teoretickém úvodu přehledně zpracovala současné poznatky z fyziologie a patofyziologie dolních močových cest. Právě nedostatečný efekt současné léčby, který je zaměřen na ovlivnění autonomního nervového zásobení přes adrenergní a cholinergní systém vedl ke zkoumání dalších mediátorů a receptorů. V úvodu je podrobně popsán současný pohled a poznatky o purinergním systému. Ten patří k tak zvanému nonadrenergnímu noncholinergnímu systému (NANC). Je velmi správně prezentováno, že současné znalosti o purinergním systému jsou pouze částečné. Autorka popisuje dosud známé mediatory a receptory. Přehledně rozděluje purinergní systém na dvě základní podskupiny. U každé popisuje známé receptory. Přehledně jsou popsány a na obrázcích znázorněny jednotlivé typy receptorů.

Autorka si vytyčila 4 hlavní cíle, kterými se snaží popsat efekt purinergního systému na močové cesty:

- 1. Účinky purinoreceptorů na zdravý a zánětem postižený močový měchýř**
- 2. Účinek purinoreceptorů na zánětlivé změny a buněčnou proliferaci**
- 3. Určení typu purinoreceptoru, který zprostředkovává tyto změny**

4. Zda jsou ovlivněny purinoreceptory oxidem dusnatým (NO)

- 2 -

Oprávněnou ambicí je, že by získané výsledky mohly přispět k nasměrování dalšího výzkumu pro novou farmakoterapii, více účinnou na dolní močové cesty.

Výzkum byl prováděn na močových měchýřích získaných z krys. Výzkum byl proveden po schválení etickou komisí a po splnění náležitých legislativních podmínek pro práci s laboratorními zvířaty. Zánětem změněný močový měchýř byl získán po předchozí aplikaci cyklofosfamidu intraperitoneálně. Autorka podrobně a přehledně popisuje metodiku prováděného výzkumu. Jsou adekvátně popsány použité chemické látky, technologie pokusu i přístroje na kterých bylo provedeno hodnocení. Metoda statistického hodnocení je dostatečně popsána ve vlastním textu i v publikačních výstupech.

Získané výsledky jsou u jednotlivých cílů přehledně popsány a názorně dokumentovány v grafech. U zdravého měchýře bylo zjištěno, že se vyskytují 4 P1 receptory a to P1_{A1}, P1A_{2A}, P1A_{2B} a P1_{A3}. Hlavní relaxační účinek na detrusor měl receptor P1_{A1}. Na druhou stranu stimulace receptoru P1A_{2A} neměla žádnou odpověď. Přítomnost receptoru P1_{A3} zvětšovala efekt relaxační efekt adenosinu na receptor P1_{A1}. U zánětem změněného měchýře se ukázalo, že hlavní relaxační efekt má také receptor P1_{A1}. Výsledky těchto pozorování byly v souladu s imunohistochemickým vyšetřením.

Purinergní systém a mediátor ATP má dvojí účinek, a to nejen relaxační, ale také kontraktilní. Kontrakce detrusoru nastává aktivací P2X purinoreceptoru. Relaxace vzniká nejen aktivací P1 receptorů, ale také P2Y receptorů (receptory PX a PY patří k druhé podskupině skupiny purinoreceptorů).

ATP má u krysích měchýřů dvojí účinek, jednak krátký kontraktilní a delší relaxační. V relaxačním účinku je také účinný beta adrenergní receptor. U zánětem změněných měchýřů je relaxační účinek výrazně vyšší. U trigonální části měchýře je ATP vyvolaný relaxační účinek pouze nevýrazný.

Byla zjištěna velmi intenzivní exprese P1A receptorů v urotelu. Další jejich přítomnost se předpokládá také v detrusoru, a to všech jejich podtypů. Důležitým poznatkem je úloha P2X2 receptoru při mikčném reflexu a také vnímání bolesti. Předpokládá se, že u chronické měchýřové bolesti může být změněná exprese P2X2 receptorů. Jejich ovlivnění by mohlo být využito i v léčbě intersticiální cystitis nebo syndromu bolestivého měchýře.

Role NO je zásadní při cyklofosfamidem vyvolaném zánětu měchýře u laboratorních zvířat. Podle výsledků posledně publikované práce se ukazuje, že blokáda NO syntetázy může zabránit progresi zánětu měchýře. Prokázalo se, že dochází k významné regresi kontrakcí.

V kapitole diskuze jsou dosažené výsledky obsáhle komentovány. Jsou komentovány změny v expresi P1 receptorů při zánětu a jejich role v regulaci detrusoru. Je zmíněna určitá koordinace mikčného reflexu. Při kontrakci detrusoru hrají nejdůležitější roli M receptory, nicméně P1 receptory mají také svoji funkci. Bylo ověřeno, že P1 receptory mají duální funkci, krátkou kontrakci a poté trvalejší relaxaci u krysího měchýře. Ukázalo se, že adenosin hraje důležitou roli při zánětu, ale může hrát roli indukující zánět nebo naopak proti zánětlivou.

Velmi důležitá role NO je při regulaci funkce dolních močových cest i při změnách vyvolaných zánětem močového měchýře. Bylo prokázáno, že inhibitor

muskarinových receptorů neměl vliv na zánětem změněný detrusor, inhibitor NOS vedl k normalizaci funkce měchýře. Tímto se prokázalo, proč není dobrý efekt blokátorů

- 3 -

muskarinových receptorů u pacientů s cystitidou. Při zkoumání regulace zánětlivé odpovědi bylo zjištěno, že blokátor muskarinových receptorů neměl vliv na migraci žírných buněk. Blokátor NOS vedl k blokadě patologické migrace. Inhibice NOS tedy snižuje změny u cyklofosfamidem vyvolaném zánětu.

Předložená disertační práce splňuje všechny podmínky po formální i obsahové stránce. Je to kvalitní práce na velmi aktuální téma. Výsledky jsou slovně i graficky přehledně prezentovány. Práce autorky byly publikovány v renomovaných časopisech. Předložená disertační práce prokázala hluboké teoretické znalosti autorky v problematice regulace dolních močových cest autonomními regulačními systémy. Bylo by velmi vhodné, aby autorka i nadále pokračovala ve výzkumné práci týkající se dysfunkce dolních močových cest. Nemám žádných doplňujících otázek.

Předloženou disertační práci doporučuji k další obhajobě

V Hradci Králové 22. srpna 2012

doc. MUDr. Miloš Brod'ák, Ph.D.