

## Oponentský posudok

doktorandskej dizertačnej práce Mgr. Lenky Polidárovej

### **molecular mechanism of the circadian clock and its entrainment within the rat digestive system**

Predkladaná dizertačná práca je venovaná molekulárnym mechanizmom generovania cirkadiánných oscilácií s dôrazom na periférne oscilátory a to predovšetkým v gastrointestinálnom trakte. V oblasti štúdia cirkadiánných rytmov sa v posledných desaťročiach dosiahli obrovské pokroky v poznaní molekulárných mechanizmov ich generovania a v súčasnosti je aktuálnou najmä otázka, ako sa komplexná mašinéria rytmickej expresie hodinových a hodinami regulovaných génov prejavuje na regulácii správania a fyziologických procesov v reálnom svete. Táto úloha je rozsiahla a komplexná, ale vzhľadom na indície o pozmenenej expresii viacerých génov v cirkadiánnom kontexte pri civilizačných ochoreniach, takto zameraný výskum je veľmi atraktívny. Týmto smerom bol orientovaný výskum Mgr. Lenky Polidárovej a môžem teda konštatovať, že zameranie práce je vysoko aktuálne. Ciele stanovené v práci sú zrozumiteľne formulované, ľahko kontrolovateľné a odrážajú sa v členení jednotlivých kapitol a následne aj v publikáciách.

Práca je predkladaná ako súbor piatich originálnych prác publikovaných v kvalitných medzinárodných časopisoch, v ktorých v štyroch je dizertantka prvým autorom.

Metodicky je dizertačná práca na veľmi dobrej úrovni a veľmi pozitívne hodnotím spojenie náročných dlhodobých *in vivo* experimentov monitorujúcich pohybovú a potravinovú aktivitu s *in vitro* hodnotením expresie genov pomocou bioluminiscencie v reálnom čase. Komplexný je aj a súbor analytických techník, monitorujúcich expresiu génov pomocou "in situ" hybridizácie a qPCR v reálnom čase, ako aj funkčné proteíny pomocou imunohistochemie a western blotu. Autorka sa sústredila na kľúčové hodinové gény a vhodne boli vybrané a analyzované aj hodinami kontrolované gény ako napr. *wee*, *dbp*, *e4bp4*, *pgs1alpha*, oba *ppar* a iné.

Práca prináša viaceré prioritné výsledky, z ktorých by som chcel vyzdvihnúť presné zdokumentovanie ontogenetického vývinu cirkadiálneho rytmu jednotlivých hodinových génov v gastrointestinálnom trakte potkana, kde je prekvapujúca čiastočne odlišná regulácia v duodene a v hrubom čreve. Záverečné práce prezentovanej série sú zamerané na cirkadiálne oscilácie spontánne hypertenzných potkanov (SHR), ktoré sú najvhodnejším a najpoužívanejším animálnym modelom esenciálnej hypertenzie u ľudí. Podnetným originálnym zistením je „ranný chronotyp“ u SHR potkanov v porovnaní s originálnom

materskou líniou Wistar, ako aj ich zvýšená citlivosť na zmeny potravného režimu. V tomto kontexte autorka navrhuje potenciálnu úlohu *Bmal2* v pečeni, pričom periférne oscilátory v tomto orgáne najcitlivejšie a najrýchlejšie odpovedajú na reštrikčné kŕmenie a sú najľahšie odpojiteľné od centrálného oscilátora.

Práca je veľmi starostlivo napísaná, veľmi dobre sa čítala a jedinou výhradou mám ku konštatovaniu na s. 27, že „SHR exhibit... dampened amplitudes of diurnal rhythms in blood pressure...“, pretože skupina prof. Lemmera pracovala na animálnom modeli hypertenzie vyvolanej zvýšenou aktivitou renín-angiotenzín-aldosterónového systému.

Otázky:

1. Môže zvýšená citlivosť SHR potkanov na potravný režim odrážať situáciu aj u esenciálnej hypertenzie u ľudí. Môžu byť hypertonici citlivejší a s väčšími negatívnymi dôsledkami reagovať na nepravidelný príjem potravy ako normotenzní ľudia.
2. Čím si vysvetľujete zmeny „chronotypu“ u SHR potkanov? Môže súvisieť s ich dobre známou zvýšenou aktivitou sympatika?
3. Myslíte, že antihypertenzívna liečba by mohla „normalizovať“ ich „chronotyp“ na úroveň kontrolného kmeňa Wistar?

Predloženú dizertačnú prácu hodnotím z hľadiska aktuálnosti témy, zvolených metód a získaných výsledkov vysoko pozitívne. Dizertantka preukázala schopnosť samostatnej vedeckej práce. Práca nielen splňa, ale aj podstatne prevyšuje všetky nároky kladené na tento druh prác, a preto ju odporúčam k obhajobe. Po úspešnej obhajobe doporučujem udeliť Mgr. Lenke Polidárovej akademickú hodnosť *philosophiae doctor* (PhD) v štúdijskom programe „Molekulárna a buněčná biologie, genetika a virologie“.

V Bratislave, 1. 6. 2015

Prof. RNDr. Michal Zeman, DrSc.  
vedúci Katedry živočíšnej fyziológie a etológie  
PRIF UK Bratislava