

15.8.2015, Praha

Oponentský posudek dizertační práce

Mgr Barbora Šaňková:

„Mechanismy vývoje převodního systému u obratlovců“

1. LF UK Praha, vedoucí práce prof. MUDr. David Sedmera, DSc.

Dizertační práce popisuje sérii pokusů studující vývoj časný embryonální vývoj převodního systému u obratlovců, má 33 stránek odborného textu a obsahuje 4 přílohy v podobě publikovaných prací. Text obsahuje všeobecný úvod, vymezení cílů, popis výsledků s diskuzí. Kvalita a myšlenkový obsah je na velmi dobré úrovni a text je obecně dobře srozumitelný.

Posouzení cílů a hypotéz: Cílem této disertační práce bylo studium mechanismů zodpovědných za vývoj převodního systému srdce obratlovců u kuřecích a myších embryí. Práce byla specificky zaměřena na studium A) vlivu mechanické zátěže na časný vývoj převodního systému. B) na význam connexinu 40 na vedení vzruchu v síních během vývoje u kmene myši s Cx40 deficiencí C) na studium vlivu funkční inhibice draslíkového kanálu u KvLQT1 deficientního kmene myši na vývoj a funkci komorového převodního aparátu. Autorka práce předpokládala, A) že ztráta normálního hemodynamického zatížení v důvodu unloadingu (in-vitro kultivace srdeční tkáně) povede ke ztrátě normálního vývoje převodního systému a že tuto abnormalitu bude možno částečně zachránit pomocí umělého mechanického zatížení pomocí silikonové kapky. B) že Cx40 bude během vývoje nezbytný a během vývoje kuřecího embrya dojde ke zpomalení vzruchu síněmi či komorami C) že u KvLQT1 deficience dojde k poruše vývoje převodního systému a zpomalení nitrokomorového vedení.

Autorka práce prokázala, že eliminace hemodynamické zátěže narušuje normální vývoj převodního systému a vede ke zpomalení nástupu zralé aktivační sekvence komory a též k poruše trabekulizace myokardu. Tyto abnormality lze částečně odstranit pomocí ex-vivo hemodynamické zátěže. Absence Cx40 se projeví především na úrovni zpomalení vedení v síních. Kardiální deficit KvLQT1 vede k zpomalení vedení vzruchu komorovým převodním systémem.

Metodiky: Autorka práce použila kombinace unikátních a velmi pokročilým metod vývojové biologie – využití transgenních organismů, konfokálního morfologického zobrazení, optického voltážového mapování vyvíjejícího se srdce, ex-vivo kultivace tkáně srdce zárodku. Je nutno zdůraznit že se autorka práce se neomezila na pouhý popis abnormalit vyvolaných nedostatečným hemodynamickým zatížením, ale s cílem posílení kauzality též provedla intervenci, která částečně napodobila normální zátěž. Tento přístup podstatně zesílil interpretační jistotu závěrů. Metodiky řešení lze považovat za kreativní a výjimečně kvalitní.

Publikační výstupy: Výsledky testování těchto hypotéz byly publikovány ve 4 pracích v odborných časopisech v nejvyšší kategorii kvality v daném oboru (FEBS letters, Cardiovascular Research 2x, American Journal of Physiology). Publikační aktivitu lze tedy považovat za excelentní.

Komentáře oponenta:

Ad část A)

V úvodu a ve zdůvodnění pokusu s eliminací hemodynamické zátěže je zmiňována především role smykového napětí („shear-stress“) jako hlavního epigenetického aktivátoru morfogeneze srdce. Nicméně aplikace silikonové kuličky do vyvíjející se komory zřejmě stimuluje spíše

radiální napětí stěny (wall stress) než smykové napětí, protože nedochází k toku, ale napínání tkáně komory na viskózní kapce. Použitý podnět také působí nejen na endoteliální vrstvu, ale na celou tloušťku myokardu.

1. Byl v minulosti použit jiný způsob jak napodobit shear stress ve vyvíjejícím se srdci (např. pomocí pulzní perfúze) ?
2. Postnatálním senzorem a mediátorem shear stressu jsou endoteliální caveoly s NO syntázou, efekt je blokovatelný inhibitory jako je L-NAME či L-NMMA. Byly provedeny v minulosti pokusy testující vliv inhibitorů NO na diferenciaci převodního systému zárodku?
3. V dospělé kardiovaskulární fyziologii narůstá význam mechanosensingu pomocí TRP kanálů (transient receptor potencial channels). Mají tyto kanály význam i při zprostředkování vlivu mechanických sil na diferenciaci převodního systému v embryonálním období?
4. Je mechanické napětí podstatné i u udržení fenotypu převodního systému postnatálně ? Jaké změny převodního systému lze předpokládat při dlouhotrvajícím odlehčení myokardu pomocí mechanické podpory srdce (u pacientů) či pomocí heterotopicky transplataného srdce (u zvířecího modelu). S ohledem na rozvoj systémů k dlouhodobé podpoře srdce může být tato otázka klinicky relevantní, zvláště u pacientů kde se uvažuje o zotavení funkce selhávající komory („bridge to recovery“).

Ad část B) bez připomínek

Ad část C)

1. Rychlost kondukce myokardem je ovlivněna především sodíkových kanálů, které zprostředkují depolarizaci. Draslíkové kanály jsou podstatné při repolarizaci, a proto též vedou k prodloužení QT intervalu. Jak vysvětlíte zpomalení vedení převodním systémem u KvLQT1 KO kmene myši ?

Celkový dojem: Jedná se o mimořádně kvalitní disertační práci na světové úrovni.

Závěr: Dizertační práce jednoznačně prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „PhD“ za jménem.



Doc. MUDr. Vojtěch Melenovský, CSc.
Klinika kardiologie
IKEM, Praha