

Ústav lekárskej fyziológie a Spánkové laboratórium LF UPJŠ Košice

prednosta: prof. MUDr. Viliam Donič, CSc.

Ústav lekárskej fyziológie LF UPJŠ, Trieda SNP 1, 040 66 Košice

tel.: +421 (055) 640 4491, fax: +421 (055) 6 423 763, IČO: 00397768

e-mail: viliam.donic@upjs.sk, fyzilog@upjs.sk,

<http://www.upjs.sk/lekarska-fakulta/ustavy-lf/ustav-lekarskej-fyziologie>

Oponentský posudok na dizertačnú prácu

Téma:	Syndróm spánkové apnoe jako rizikový faktor rozvoje metabolických onemocnění
Autor:	Mgr. Martin Weissenstein
Pracovisko:	Ústav telovýchovného lékařství a Centra pro výskum diabetu 3. lékařské fakulty University Karlovy v Praze
Študijný program:	Preventívni medicína
Vypracoval:	prof. MUDr. Viliam Donič, CSc., Ústav lekárskej fyziológie LF. UPJŠ v Košiciach.

Deskripcia práce:

Dizertačná práca je napísaná v českom jazyku s abstraktom v jazyku českom a anglickom. Pozostáva zo 103 strán textu vrátane zoznamu použitých skratiek a zoznamu 311 citovaných literárnych prameňov. Do textu je zaradených 15 obrázkov. Práca je vhodne členená podľa kritérií, ktoré sú požadované u takéhoto typu práce. Má 9 častí od úvodu po záver s diskusiou. Obsahuje popis použitých experimentálnych metodík, diskusiu a súhrn v ktorom sú uvedené aj obmedzenia experimentov a odporúčania pre ďalšie smerovanie výskumu. V prílohe sa ďalej nachádzajú kompletne výtlačky popisovaných 4 prác. V týchto originálnych publikovaných výskumných prácach (3 in vitro a 1 in vivo) je Mgr. Weissenstein v troch prácach prvým autorom a v jednej ako spoluautor.

Obsahová stránka:

Autor sa zamerával na štúdium a pochopenie mechanizmov vzťahov medzi nadmernou akumuláciou tukového tkaniva, poruchami spánku, rozvojom spánkových porúch dýchania

doprevádzaných intermitentnou hypoxiou so závažnými metabolickými komplikáciami. Medzi ne patrí vznik glukózovej intolerancie, inzulínová rezistencia s rozvojom diabetes mellitus 2 typu (DM2T). Objasnenie príčin, vzájomných vzťahov a ich mechanizmov je mimoriadne dôležité pre spánkovú medicínu. Až 35% pacientov s obštrukčným spánkovým apnoe (OSA) má zároveň aj DM2T. Ďalším spoločným znakom je obezita. DM2T u OSA nezaberá uspokojivo na liečbu CPAP. To znamená, že musia existovať aj ďalšie molekulárne a endokrinné mechanizmy, ktoré sprostredkujú príčinnú súvislosť medzi OSA a vznikom glukózovej intolerancie, inzulínovej rezistencie, zhoršovaním sekrécie inzulínu a nakoniec vznikom DM2T. Autor pomocou analýzy výsledkov 4 experimentálnych prác na ktorých realizácii sa osobne podieľal podáva komplexný pohľad na uvedené mechanizmy. Ponúka možné vysvetlenia, ktoré podopiera vlastnými experimentálnymi výsledkami dosiahnutými metódami proteomickej analýzy ako aj in vivo experimentmi na potkanoch, ktorým bolo aplikované liečivo acipimox.

Formálna stránka:

Po formálnej a jazykovej stránke nemožno práci vytýkať žiadne nedostatky, je napísaná zrozumiteľne, precízne, bez preklepov a chýb.

Ciele práce:

1. V rámci tejto PhD práce boli testované hypotézy, či poruchy v regulácii lipolýzy a ďalších funkčných charakteristík adipocytov hrajú kľúčovú rolu pre rozvoj DM2T pri OSA.
2. Cieľom v publikácii č.1: bolo definovať metodologický prístup, ktorý by umožnil expozíciu 3T3-L1 buniek intermitentnej hypoxii s využitím technológie kultivácie buniek na polopriepustnej fluorokarbonovej membráne.
3. Cieľom v publikácii č. 2: bolo skúmať priamy účinok rôznych úrovní pericelulárnych koncentrácií O₂ (1%, 4% a 20%) na proteomický profil a akumuláciu triglyceridov v 3T3-L1 diferencovaných preadipocytoch.
4. Cieľom v publikácii č. 3: bolo skúmať účinky miernej (4% O₂) a ťažkej (1% O₂) hypoxie na kľúčové adipocytárne funkcie, hlavne na diferenciáciu adipocytov, akumuláciu triglyceridov a lipolyzu.
5. Cieľom v publikácii č. 4: bolo definovať úlohu lipolýzy v tukovom tkanive pri expozícii myši intermitentnej hypoxii a či je možné diabetický fenotyp ovplyvniť farmakologickou inhibíciou lipolýzy.

Významné výsledky:

Všetky vytýčené ciele sa podarilo dosiahnuť. Autor sa dopracoval k originálnym vedeckým výsledkom a zisteniam z ktorých za najdôležitejšie považujem nasledovné:

1. Využitie originálneho nápadu použiť polopriepustnú membránu na spodnej strane doštičiek pre umožnenie dosiahnutia rýchlych zmien pericelulárnej koncentrácie kyslíka pri adipocelulárnom výskume. Je to mimoriadne dôležité pre štúdium účinkov prerušovanej - intermitentnej hypoxie, ktorá je typická pri syndróme obštrukčného spánkového apnoe u ľudí.
2. Najškodlivejšie účinky na adipocity je možné pozorovať pri 4% hypoxii, kedy dochádzalo k najvýraznejšej akumulácii lipidov.
3. Adipocity reagujú na chronicky zníženú dostupnosť O₂ rôzne ato v závislosti od stupňa hypoxie. Mierna hypoxia stimuluje adipogénu, lipogénu a zvýšila spontánnu lipolýzu.
4. Závažnejšia hypoxia znižuje stimuláciu diferenciácie adipocytov a znižuje stimuláciu lipolýzy.
5. Výsledky účinkov liečiva acipimox, ktoré blokuje lipolýzu. Invivo experimenty na potkanoch ukázali, že u potkanov vystavených intermitentnej hypoxii acipimox zabránil vzniku diabetického fenotypu. U kontrolnej skupiny ktorá nebola vystavená intermitentnej hypoxii podávanie acipimox nemá vedľajšie účinky.

Otázky na autora:

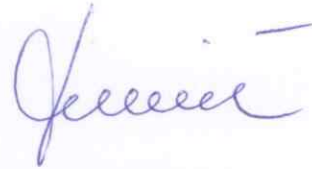
1. Aký stupeň hypoxie považuje autor za kritický pre vznik inzulínovej rezistencie?
2. Intermitentná hypoxia je schopná vyvolať inzulínovú rezistenciu a zhoršiť kontrolu glykémie viac, ako hypoxia pretrvávajúca. Aká frekvencia striedania sa normoxie a hypoxie je potrebná, aby bolo možné pozorovať tento efekt?
3. Mohli by voľné mastné kyseliny FFA uvoľnené počas intermitentnej hypoxie spôsobenej OSA u človeka pôsobiť na inzulínový receptor a blokovat' účinok inzulínu?
4. Doštičky s polopriepustnou fluorokarbonovou membránou vykazujú iné vlastnosti pre rast a metabolizmus buniek v porovnaní so štandardne používanými polystyrénovými doštičkami. Preto získané výsledky nie je možné priamo porovnávať. Prečo bola zvolená práve fluorokarbonová membrána? Bolo by možné použiť iný materiál, ktorý by mal podobné vlastnosti voči bunkám ako polystyrén, ale zároveň by bol rovnako polopriepustný ako fluorokarbonová membrána? Napríklad polypropylén je tiež polopriepustný.

Celkové hodnotenie:

Autor splnil ciele dizertačnej práce. Predložená práca prináša nové pozoruhodné vedecké poznatky, ktoré sú prínosom aj pre klinickú prax.

Záver:

Posudzovaná práca spĺňa všetky kritéria kladené na doktorandské dizertačné práce. Autor v nej preukázal schopnosť samostatnej tvorivej vedecko-výskumnej práce a dopracoval sa k originálnym vedeckým zisteniam. Preto odporúčam aby Mgr. Martinovi Weiszenstein po splnení ostatných náležitostí a po úspešnej obhajobe bola udelená vedecká hodnosť Philosophiae Doctor v študijnom programe preventívna medicína.



V Košiciach, 28. novembra 2016

Prof. MUDr. Viliam Donič, CSc.