

Oponentský posudek doktorské disertační práce

MUDr. František Novák

**1. lékařská fakulta UK v Praze
IV. interní klinika**

Předmětem kandidátské disertační práce bylo sledování mediátorů zánětu, parametrů souvisejících s oxidačním stresem, plazmatických lipidů a lipidového profilu u kriticky nemocných pacientů.

Téma kandidátské disertační práce je vysoce aktuální nejen z hlediska diagnosy a klinické závažnosti onemocnění, ale i z důvodu poměrně malé pozornosti, která je v této souvislosti věnována poruchám lipidového metabolismu, přestože mastné kyseliny řady n-3 a n-6 se uplatňují v regulaci zánětlivých procesů například tím, že ovlivňují sekreci TNF- α .

Práce celkem obsahuje 88 stran textu, včetně seznamu zkratek, literatury a příloh. Do práce bylo začleněno 15 tabulek a 16 obrázků a schémat. Seznam literatury obsahuje 210 citací.

Předložená disertační práce má klasické uspořádání a obsahuje přehled o současném stavu problematiky (23 stran), cíle práce (1 strana), metody (8 stran), výsledky (22 stran), diskuse (6 stran), souhrn a závěry (2 strany), seznam literatury (16 stran) a seznam autorových publikací (4 strany). Výsledky studií uvedených v doktorské disertační práci autor publikoval ve dvou článcích v časopisech s IF, ve kterých je v jednom případě uveden jako první autor a ve druhém jako spoluautor, v 8 článcích uveřejněných ve sbornících (dvakrát jako první autor) a ve 23 abstraktech z domácích a zahraničních konferencí (čtyřikrát jako první autor).

Úvodní část předložené disertační práce je věnována literárnímu přehledu o současném stavu řešené problematiky. Popsány jsou patofyziologické mechanizmy víceorgánové dysfunkce u kriticky nemocných pacientů a problematika týkající se diagnosy syndromu systémové zánětlivé reakce a sepse. V dalších částech pak autor uvádí současné poznatky o úloze mediátorů akutní fáze zánětu a prozánětlivých cytokinů při sepsi a jejich komplikacích. Dále následují kapitoly věnované úloze oxidačního stresu, účinku antioxidantů, metabolickým poruchám lipidového metabolismu včetně změn profilu mastných kyselin při zánětu a sepsi. V poslední části úvodu jsou podrobně popsány antioxidační a protizánětlivé funkce lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL) a s nimi asociovaného enzymu paraoxonázy.

Z dobře napsaného úvodu, který svědčí o detailní znalosti sledované problematiky se odvíjejí **cíle disertace**, které jsou jasně formulované a jsou zaměřeny na:

- Sledování mediátorů zánětu, parametrů antioxidačního systému, lipoperoxidace a profilu lipidů u kriticky nemocných pacientů v sepsi a bez sepse
- Dále na sledování dynamických změn těchto parametrů v průběhu sepse a jejich změn ve vztahu k závažnosti onemocnění.

Použité a detailně popsané **metodické přístupy**, které vycházejí z dlouhodobých zkušeností pracoviště s vysokou odbornou úrovní, umožnily posouzení širokého spektra parametrů u sledovaných skupin pacientů. Výběr náročných biochemických metod, matematický výpočet korelací a statistické hodnocení získaných výsledků jsou vhodně zvolené pro řešení studované problematiky.

Výsledky jsou velmi pečlivě a přehledně prezentovány v textové části disertace, v obrázcích a v tabulkách.

K hlavním nálezům patří zjištěné vyšší hladiny prokalcitoninu, CRP a cytokinů u pacientů v sepsi v porovnání s hodnotami u kriticky nemocných pacientů bez sepse. Naproti tomu aktivita paraoxonázy nebyla u těchto dvou skupin rozdílná. Zajímavé jsou i nálezy o změnách plazmatických koncentrací oxidovaných lipoproteinů (LDL), konjugovaných dienů a antioxidačních enzymů v průběhu sepse. Za závažný nález, který by měl vzhledem k možnosti nutriční terapie podnítit další studie, lze považovat i zjištěné změny v zastoupení mastných kyselin řady n-6 a n-3 ve fosfolipidech a jejich vztah ke klinickému průběhu sepse. Získané výsledky dokumentují, že cíle práce byly splněny a že autor dosáhl při řešení sledovaných otázek řadu nových poznatků.

V **diskuzi** podává autor zasvěcený komentář k získaným výsledkům, který svědčí o dobré znalosti problematiky. Je třeba ocenit, že autor zdůrazňuje komplexnost oxidačního stresu, což souvisí nejen s obtížemi při analýze, ale i s vyhodnocením získaných údajů.

Připomínky a dotazy k předkládané práci:

- 1) V tabulce 4-6 chybí v legendě vysvětlení jakou statistickou významnost označuje index „c“.
- 2) Totéž platí pro index „d“ v tabulce 4-10.
- 3) Na straně 46 chybí v popisu výsledků odkaz na tabulku 4-10.
- 4) V metodické části není uvedena metoda použitá pro stanovení koncentrace triacylglycerolů.
- 5) α -tokoferol nemá v cirkulaci speciální proteinový nosič a je transportován v lipoproteinech (převážně ve VLDL). Z těchto důvodů je obvyklé uvádět koncentraci α -tokoferolu v přepočtu na množství plazmatických triacylglycerolů.
- 6) Jaké má autor vysvětlení pro nezměněné koncentrace triacylglycerolů u sledovaných skupin pacientů. V literatuře se uvádí, že při infekci jsou jejich plasmatické koncentrace zvýšeny. Naproti tomu autor zjistil výrazný pokles plazmatických koncentrací NEMK u pacientů v sepsi v porovnání se zdravými kontrolami nebo s

pacienty bez sepse. Jsou tyto rozdíly výsledkem změn lipolýzy v tukové tkáni nebo souvisí se změnou β -oxidace mastných kyselin?

- 7) Sledování profilu mastných kyselin přineslo prioritní poznatky o snížených koncentracích mastných kyselin řady n-3 ve fosfolipidech. Naznačuje tento nález možnost zlepšení účinnosti léčby u kriticky nemocných pacientů podáváním rybího oleje? Jaké je riziko léčby koncentrátů rybích olejů z hlediska oxidačního stresu?
- 8) Metabolismus MK je ovlivněn aktivitou desaturáz a elongázy. Změnám aktivit je věnována značná pozornost v souvislosti s tvorbou polynenasycených mastných kyselin. Jejich aktivitu lze posoudit podle poměru produkované a prekurzorové mastné kyseliny. Proč autor nepoužil toto hodnocení v případě plazmatických fosfolipidů, které odráží změny metabolismu mastných kyselin v játrech?

Závěr:

Předložená disertační práce řeší aktuální a významnou problematiku. Studie byly provedeny na pracovišti, kde oblast výzkumu zaměřená na patogenezi metabolických poruch má tradičně vysokou úroveň. Pečlivé shrnutí současných poznatků o problematice, podrobné uvedení metodik a věcná interpretace získaných výsledků dokazuje, že autor je detailně seznámen s problematikou v dané oblasti a je schopen rozvíjet vědecké přístupy při řešení této problematiky. Řešení sledovaných otázek přineslo řadu nových poznatků, které by měly být podkladem pro další studie v dané oblasti. Po formální stránce je práce velice kvalitní a je zpracována velice pečlivě.

Posuzovaná dizertační práce splňuje požadavky kladené na disertační práci a proto doporučuji práci k obhajobě a kladné vyřízení žádosti o přiznání akademického titulu „philosophiae doctor“ („Ph.D.“)

24. srpna 2009

Ing. Ludmila Kazdová, CSc.
Centrum experimentální medicíny,
IKEM, Praha