

Oponentský posudek na dizertační práci:

MUDr. Lucie Kališová: Úloha vychytávání trijodthyroninu erythrocyty ve vztahu hypothalamo-pituito-thyroidální osy a depresivní poruchy

Postgraduální studium v oboru neurovědy

Vypracoval: Prof. MUDr. Cyril Höschl, DrSc. FRCPsych.

Práce je rozdělena do 5 oddílů. První je všeobecný úvod, druhý je teoretická část zahrnující literární přehled, třetí je vlastní výzkumná část nazvaná „Praktická“, čtvrtým dílem je anglický souhrn a v pátém oddílu je seznam literatury. Obsah se bohužel ne zcela kryje se skutečností, takže cíle výzkumné práce, které jsou v obsahu odkázány na str. 53 se ve skutečnosti nacházejí na str. 52. V této části nejsou zcela jasně odděleny cíle primární a sekundární. V úvodu oddílu „Cíle výzkumné práce“ autorka používá deklarace typu: „*dizertační práce je koncipována na bázi faktu, že funkce transmitérových systémů je obecně ovlivněna membránovým přenosem*“ nebo „*bylo vycházeno z následujících předpokladů...*“. Pod touto stylistickou mlhou se skrývají skutečně pregnantně formulované 3 základní cíle práce:

- 1) ověřit hypotézu, že membránový přenos T3 je u pacientů s depresí odlišný od zdravých kontrol a zda obráží změny na systémové úrovni,
- 2) hypotézu, že funkce membránového přenašečového systému je ovlivněna změnou membránové fluidity,
- 3) hypotézu, že užíváním antidepressiv dochází u pacientů s depresí k normalizaci (kinetických) parametrů.

Práce má celkem 93 stran, je napsána poměrně srozumitelně a koncizně a svědčí o dobré informovanosti autorky v dané problémové oblasti. Vlastní výzkumná část je řádně strukturována a zahrnuje popis souboru, metodiky, analýzy dat, přehled výsledků, diskusi a souhrn.

Autorka se pokusila na periferním modelu, který představovaly erythrocyty, sledovat souvislost depresivní poruchy s parametry vychytávání T3 do erythrocytů. Vycházela z toho, že změny tohoto vychytávání by mohly být odrazem narušené funkce osy hypothalamus-hypofýza-štítná žláza. Jako přídatnou hypotézu testovala předpoklad, že transport T3 přes membránu je ovlivněn jejím složením resp. vlastnostmi (fluiditou). Za tím účelem autorka sledovala maximální rychlost V_{max} a „zdánlivou“ Michaelisovu konstantu K_M a změny v membránové fluiditě u 24 osob s depresivní poruchou a 19 zdravých kontrolních osob. Depresivním pacientům byly odběry na stanovení kinetických parametrů provedeny před léčbou a 1 měsíc po léčbě specifickým inhibitorem re-uptake serotoninu citalopramem. Všechny depresivní osoby na léčbu citalopramem odpověděly adekvátně. Ukázalo se, že oproti kontrolám jsou kinetické parametry vychytávání T3 do erythrocytů signifikantně zvýšené. Po 1 měsíci léčby citalopramem sice došlo ke zlepšení depresivní symptomatiky, avšak kinetické parametry zůstaly oproti kontrolám zvýšené. Dalším zjištěním bylo, že funkce přenašeče pro T3 souvisí také se změnami lipidové dvojvrstvy, ve které je přenašeč zanořen: anisotropie fluorescence v erythrocytárních membránách, která odráží jejich mikroviskozitu, resp. fluiditu, byla signifikantně zvýšena ve skupině depresivních pacientů před léčbou ve srovnání s kontrolami. Po 1 měsíci léčby se neobjevila téměř žádná změna. Výsledky práce naznačují, že i u klinicky euthyreoidních osob s depresí lze nalézt subklinické markery odrážející narušení funkce hypothalamo-pituito-thyreoidální osy a že by toto narušení mohlo souviset s patofyziologií afektivních poruch. Autorka dovozuje, že ke změně uptake T3 do

erytrocytů vede změněná funkce osy štítné žlázy. Upozorňuje také, že kinetické parametry tohoto uptake nekorelují s tíží depresivní symptomatiky a že jsou spíš ovlivňovány vlastnostmi lipidové dvojvrstvy. Spekuluje, že náchylnost k depresi může vzniknout v důsledku změn složení biofyzikálních vlastností lipidové části buněčných membrán. Na závěr navrhuje, že by se o uptake T₃ do erytrocytů mohlo tedy v konečném důsledku uvažovat jako o membránovém periferním markeru odrážejícím narušení osy štítné žlázy u deprese.

K vlastní práci mám několik připomínek. Především považuji za naprosto redundantní všeobecný úvod a rozsáhlou teoretickou část, která představuje vlastně učebnicové pravdy, zřejmě opsané z různých zdrojů, popisující složení a funkci hypothalamo-pituito-thyreoidální osy, základní údaje o poruchách nálad, o jejich společenské závažnosti, přes výskyt až po farmakorezistenci, dále změny funkce osy štítné žlázy v rámci poruch nálad, až po upozornění na zprávy o podávání thyreoidálních hormonů thyreoliberinu, thyreotropinu, thyroxinu a trijodthyroninu u afektivních poruch. Celá tato část je zbytečná a s ohledem na cíle předložené práce až na detaily prakticky irelevantní. Dizertační práce by mohla začínat na str. 52 a stylisticky by jí to jenom prospělo. Pominu-li drobné překlepy, kterých je opravdu málo, což je jedna z předností předloženého textu, tak si nemohu odpustit přejít některé chyby, popř. opomenutí závažnější.

Ve všeobecném úvodu není zcela adekvátně odkazováno na literaturu, takže v něm zaznívá řada velice odvážných tvrzení, u kterých chybí jasný odkaz ke zdroji. Jde o tvrzení typu „100 mil. osob onemocní depresí každý rok“, „depresivní epizodu prožije alespoň jednou za život téměř každý pátý z nás“, „depresivní nemocní mají 30x vyšší riziko sebevraždy“, atd. Mnoho z těchto tvrzení postrádá odkaz na jakýkoliv zdroj. Text navíc obsahuje velmi obecné fráze a klišé, jako že „civilizace klade stále vyšší nároky na jednotlivce“, „deprese má negativní celospolečenský dopad“, „příčiny se jeví jako multifaktoriální“, atd. Navíc jsou ne zcela přesně citovány zdroje typu Guardian, jehož údaj o tom, že náklady na depresivní onemocnění činí ve Spojeném království 9 miliard (!) britských liber ročně, jsou nejen nesmyslné, ale s cílem práce vůbec nesouvisí. Na str. 4 autorka spekuluje, že u pacientů s depresivním onemocněním by následkem vzájemného ovlivnění transportu T₃ a L-tryptofanu mohlo dojít při poruše vychytávání T₃ erytrocyty v konečném důsledku k narušení syntézy mozkového serotoninu. Nikde však nevysvětluje, proč se tak domnívá. Necituje ani zdroj, ani nepředestírá logickou úvahu o kompetici mezi trijodthyroninem a L-tryptofanem (když je snížen transport jednoho, je snížen i transport druhého? nebo naopak snížení transportu jednoho je kompenzováno zvýšeným transportem jiného?).

Dále autorka uvádí, že předmětem předložené výzkumné práce je potvrzení hypotézy, že změny v kinetických parametrech transportu trijodthyroninu přes erytrocytární membránu mohou být odrazem změn na centrální úrovni a že souvisí s onemocněním depresí, případně s rezistencí deprese na léčbu. Obávám se, že nic z toho nebylo předloženou prací testováno, resp. z předložených dat a výsledků nelze uzavírat, že nalezené změny v kinetických parametrech jsou odrazem změn na centrální úrovni, dále z nich nelze uzavírat, jak s onemocněním depresí souvisí a již vůbec ne otázku rezistence deprese na léčbu, která v předložené práci vůbec nebyla testována.

První část pak pokračuje popisem fyziologie a biochemie hormonů štítné žlázy a uvádí řadu základních učebnicových údajů o jejich syntéze, o metabolismu jódu, o transportu a biologických účincích hormonů štítné žlázy. Tabulka 1 na str. 10 uvádí přitom údaje o hladinách hormonů štítné žlázy v séru a jejich plazmatické poločasy s téměř nepochopitelnou přesností. Např. hladina celkového trijodthyroninu v séru je udávána s přesností na 2 desetinná místa (1,84 nmol/l) bez jakéhokoliv intervalu, bez jakéhokoliv rozmezí nebo spolehlivosti a bez respektu k odchylkám v laboratorním zpracování. Po endokrinologické části následuje klinicky psychiatrická část popisující prevalenci, klinický obraz a klasifikaci

poruch nálady. Text je zatížen řadou nepodložených údajů (celoživotní prevalence 5,8 – 20 %, vyskytuje se hlavně mezi 25-35. rokem, 15 % nemocných ukončí svůj život sebevraždou, nevyhýbá se nikomu, trpěl jí např. L.van Beethoven, Vincent van Gogh atd.). Tyto údaje sice nejsou ve své většině nesprávné, ale měly být doprovázeny citací primárních zdrojů. Oponentovi není jasné, jak s cíli a závěry práce souvisí výčet základních depresivních příznaků (str. 13). Zcela bez vztahu k vlastní práci je na str. 15 zařazena tabulka „rozdělení antidepressiv podle mechanismu účinku“. Na str. 16 a dále následuje popis etiopatogeneze afektivních poruch, který autorka poměrně snadno převzala z práce svého konzultanta dr. Fišára (2001), ale nezaujala k nim žádné stanovisko ve vztahu k změnám kinetickým parametrům uptake hormonů štítné žlázy do erytrocytů. Navíc ve většině případů při svých tvrzeních zcela opomněla primární zdroje, takže např. molekulárně-biologická teorie deprese je na str. 18 zmíněna bez odkazu na základní práci Ronalda Dumana (*Arch. Gen Psych*, 1997), která není uvedena ani v seznamu literatury - a takových případů by bylo možno v uvedeném oddíle najít víc. Při popisu imunoneuroendokrinních změn u deprese na str. 19 autorka spekuluje, že při stresu dochází k vylučování CRF, který ovlivňuje sekreci ACTH a následně kortikoidů. Tyto se účastní aktivace imunitního systému. Není tomu spíše tak, že kortikoidy vykazují *immunosupresivní* účinky? V následujícím oddíle na str. 19 je velmi zkratkovitě popsána dysregulace hypothalamo-adrenergní osy, která přitom sehrála v dějinách psychoneuroendokrinologie zásadní úlohu (Dexametazonový supresní test, *Carroll et al.*, 1976; 1982). Absence podrobnějšího popisu DST ve vztahu k práci sice nechybí, ale činí tak celou úvodní část nejenom zbytečnou, nýbrž také velmi nevyváženou. Následuje několik stránek popisu toho, co je to farmakorezistence a shrnutí její klasifikace do tabulek 6 až 9. Tento oddíl nemá, podobně jako následný přehled léčby farmakorezistentní deprese, v souvislosti s vlastní prací, své opodstatnění, neboť autorka ve vlastní práci mezi 24 studovanými depresivními jedinci žádnou farmakorezistentní skupinu nedefinuje a otázku farmakorezistence netestuje. Na str. 42 a 43 uvádí autorka v tabulkách seznam studií akcelerace resp. augmentace antidepressivní léčby trijodthyroninem. Oponentovi není z textu zřejmý rozdíl mezi akcelerací a augmentací.

Vlastní studie, která je předmětem dizertační práce, nepřináší v podstatě nic originálního. Je replikací dvou studií, které se erytrocytárním uptake T3 u pacientů s afektivními poruchami zabývají. První je studie Moreau a spol. z roku 1998, která zjistila významné zvýšení hodnot K_m a V_m u depresivních pacientů oproti kontrolám a která navázala na celou řadu předchozích studií ukazujících změnu dostupnosti plazmatického L-tryptofanu a následné syntézy serotoninu v mozku v souvislosti s abnormalitami ve vychytávání. Druhá studie, která na ni navázala, měla zmapovat vliv fluvoxaminu na vývoj uptake T3 do erytrocytů (Moreau a spol. 2000).

V metodice vlastní práce oponent postrádá údaje o zastoupení mužů a žen v kontrolním souboru zdravých osob a popis randomizace resp. náboru. Na str. 53 se uvádí, že osoby s depresí byly získány náhodným výběrem z pacientů přijatých k hospitalizaci nebo ambulantní léčbě na I.LF UK. Zcela chybí popis toho, jak tento náhodný výběr vypadal (konsekutivní příjmy? randomizace čísel přijetí?). V textu se uvádí, že všechny zařazené osoby vyslovily s účastí souhlas a byly informovány o účelu a obsahu studie, nikde však není zmínka o tom, že by studie byla součástí nějakého projektu, grantu a že by byla schválena etickou komisí (jakou? kdy?). Původ a složení souboru kontrolních osob zůstává zcela neznámé. Čtenář práce se pouze dozví, že jich bylo 19 a že jim byly odebrány 4ml krve (str. 54). Práce nikde nedefinuje podíl autorky na uvedených metodách a procedurách včetně měření uptake T3 do erytrocytů, přípravy erytrocytárních ghostů a statistického zpracování. Podíl autorky není nikdy ani odhadnut, ani vyčíslen, ani definován. Nabízí se tak zbytečně možná bezdůvodné podezření, že celá laboratorní procedura byla kompletně přejata z dílny školitele bez vlastního podílu autorky. Při použití statistických metod není zcela jasné volné


zacházení autorky s použitím parametrických a neparametrických statistických metod při stejné povaze dat (str. 57). Obrázky na str. 62, 63 a 64 jsou sice názorné, ale v legendách pod nimi chybí vysvětlení, které by objasňovalo význam hvězdiček (statistická významnost vůči kontrolám? mezi sebou? jak velká?). Navzdory všem uvedeným výhradám práce přináší jasné sdělení o tom, že u depresivních nemocných oproti kontrolám je změněna kinetika uptake hormonu štítné žlázy trijodthyroninu do červených krvinek. Tyto kinetické parametry se v uvedené práci neměnily v souvislosti s léčbou a nezávisely na výši psychopatologie. Nic víc se z předložených dat nedá usoudit. Práce tedy nehodnotí vztah těchto parametrů k farmakorezistenci, nehodnotí vztah těchto parametrů k patofyziologii depresivní poruchy a neodpovídá na otázky, zda depresivní porucha je důsledkem centrálního subklinického hypothyroidismu, či jaká je spojitost HPT osy s afektivními poruchami, jaký je vztah mezi uptake trijodthyroninu a tryptofanu a jaký tedy vztah této poruchy k obratu serotoninu a jak spolu transport trijodthyroninu přes erytrocytární membránu, změny na centrální úrovni a onemocnění depresí, popř. rezistence na léčbu deprese, souvisejí.

Předložená práce představuje značné úsilí a zkušenost autorky na poli studia vztahu afektivních poruch a dysregulace osy štítné žlázy. Nicméně v podobě, v jaké je předložena, by zřejmě nesplňovala náročná kritéria recenzního řízení dobrého mezinárodně impaktovaného časopisu. V takových časopisech autorka publikovala, ale vždy jako spoluautor, jehož konkrétní podíl na té které práci není zcela zřejmý.

Uvedenou disertační práci doporučuji přijmout pod podmínkou, že se autorka vyjádří k následujícím bodům:

- 1) jaký byl konkrétní její podíl na vypracování designu studie, na metodice, statistickém zpracování, laboratorních testech a interpretaci výsledků.
- 2) Která etická komise a kdy projekt schválila.
- 3) Ze kterých prací konkrétně čerpá údaje pro výroky o prevalenci a ekonomické zátěži depresivní poruchy, o vztahu poruch štítné žlázy a deprese, a zejména údaje o jednotlivých hypotézách rozvoje depresivní poruchy.
- 4) Seznam literatury, který je uveřejněný na konci, byť není zcela reprezentativní, by měl jednoznačně odpovídat citované literatuře v textu. Tuto okolnost by měla autorka buď napravit nebo alespoň uspokojivě okomentovat.
- 5) Autorka by se měla vyjádřit ke vztahu výsledků a závěrů, ke kterým došla a hypotéz, jejichž testování na začátku slibuje (potvrzení hypotézy, že změny v kinetických parametrech transportu T3 přes erytrocytární membránu mohou být odrazem změn na centrální úrovni a že souvisí s onemocněním depresí, případně s rezistencí deprese na léčbu).
- 6) Autorka uvede podrobnosti o vzniku kontrolního souboru a jeho věkovém a pohlavním rozložení. Zároveň by se měla vyjádřit k tomu, zda toto rozložení mohlo v porovnání s testovaným souborem nějak ovlivnit výsledky.

V Praze dne 30. ledna 2006


Prof. MUDr. Cyril Höschl, DrSc. FRCPsych.
ředitel Psychiatrického centra Praha
a přednosta Psychiatrické kliniky 3.LF UK