



OPONENTNÍ POSUDEK

dizertační práce Mgr. Reshi Matyškové

„Vliv leptinu a ghrelinu na příjem potravy a metabolické parametry u obézních ovariectomovaných myších samic“

Předložená doktorská dizertační práce je prezentována na 110 stranách a je rozčleněna do 8 kapitol.

V úvodu autorka podává přehled o příčinách vzniku obezity, o regulaci příjmu potravy, zejména o interakcích estradiolu, adipokinů, ghrelinu a peptidů regulujících na hypotalamické úrovni příjem potravy. Zvláštní pozornost věnuje vztahu struktury a funkce analogů ghrelinu, jak s agonistickými, tak s antagonistickými účinky. Dále popisuje vhodný *in vivo* biologický model pro dietou indukovanou obezitu, a výběr kmene myší, který je použitý v experimentech. V další části autorka jasně definuje cíle studie a pracovní hypotézu.

Vlastní studie je rozdělena do čtyř částí. V první části se věnuje zavedení modelu obezity vyvolané vysokotučnou dietou u myší obou pohlaví, ve druhé části se věnuje modelu obezity OVX myších samic na vysokotučné dietě, ve třetí části zkoumá vliv vysokotučné diety a estradiolu na centrální účinky leptinu u OVX samic, a ve čtvrté části vliv antagonistů a inverzního agonisty ghrelinového receptoru na příjem potravy u obézních OVX samic.

Detailně autorka popisuje celou škálu metodických postupů, které při realizaci této studie musela zvládnout: OVX, hodnocení fáze cyklu, biochemické analýzy, a behaviorální testy. Metody použité pro statistické zpracování dat v jednotlivých částech studie jsou jasně definovány.

Výsledky jsou dokumentovány formou 9 přehledných tabulek a 21 obrázků, které jsou v textu náležitě okomentovány. Diskuse výsledků se opírá o citace 135 článků a svědčí o tom, že autorka dovede patřičně interpretovat získaná data. Závěry jsou formulovány jasně a stručně, z nichž vyplývá možnost aplikace výsledků i do klinické praxe.

Za stěžejní výsledky lze považovat:

- charakterizaci modelu obezity vyvolané vysokotučnou dietou u myších samců a samic, a nález že samci a samice kmene C57BL/6 jsou náchylnější k HF dietou vyvolané obezitě nežli samci a samice outbrední linie NMRI po srovnání nejen množství tukové tkáně ale i parametrů metabolického syndromu

- zavedení modelu obezity OVX myších samic na vysokotučné dietě připomínající syndrom postmenopauzální ženy konzumující nadměrné množství potravy, a zjištění normalizování jak parametrů metabolického syndromu, tak i centrální rezistence na leptin po suplementac E2
- zjištění vlivu ghrelinu na příjem potravy, hmotnost a metabolické parametry u OVX myší na HF dietě tím, že kompetitivní antagonist receptoru ghrelinu [D-Lys³]GHRP-6 upravil všechny sledované ukazatele, a tento efekt zprostředkuje potlačení příjmu potravy.
- v neposlední řadě zjištění anorexigenních účinků dosud ne zcela probádaných, nových derivátů antagonistů ghrelinového receptoru, JMV3002 a JMV4314 po podání agonisty.

Publikační aktivita na téma dizertační práce:

Výstupy studie autorka shrnula ve 2 originálních článcích publikovaných v časopisech s IF a v 1 článku publikovaném v časopise bez IF, ve všech publikacích jako 1. autor. Kromě toho publikovala jako spoluautorka z příbuzné problematiky 3 publikace v časopisech s IF.

K práci mám následující dotazy, resp. připomínky:

- Úvod:

Ghrelin a leptin regulují příjem potravy na úrovni ARC působením na orexigenní resp. anorexigenní neuropeptidy, avšak receptory pro oba hormony jsou přítomny kromě ARC i v VMN, PVN, a DMN. Přičemž VMN a LHA jsou centra sytosti a hladu. Je informace o tom, které regulační mechanizmy se v těchto oblastech podílejí na regulaci příjmu potravy?

Lidský ghrelin přechází přes BBB, ale ne myší. Je známý transportní systém u lidí? A jakým způsobem se dostává efekt do mozku u myší, kromě aktivace nervu vagu?.

Agonisté ghrelinu se používají i na aktivaci GH u GH deficitních stavů. Je možné, že by chronické podávání antagonistů GHRP-1 pro zvládnutí obezity mohlo narušit normální sekreční profil GH, a tím i negativně ovlivnit proteosyntézu?

- Materiál a metody:

Byl rozdíl v kalorické hodnotě diety po výměně slunečnicového oleje za prasečí sádlo?

Jaký byl důvod podávání HF diety až od osmého resp. desátého postnatálního týdne, a ne hned po odstavu?

- Výsledky

Zajímavý je nález, že s.c. dlouhodobé podávaní [D-lys³]GHRP-6 u OVX samic na St1 dietě upravilo metabolické parametry i ve smyslu vzestupu adiponektinu (Tab 9), tudíž zlepšilo citlivost na inzulín. Po suplementaci E2 samicím na St1 dietě podání [D-lys³]GHRP-6 zlepšilo hladiny leptinu, snížilo množství tuku, avšak neupravilo hladiny adiponektinu. Je známé, že za fyziologických okolností zmenšení tukových buněk vede ke zvýšené produkci adiponektinu. Jaký je tedy mechanizmus učinku E2 na metabolizmus tukové tkáně? Je možné, že se jedná o apoptotický efekt? Dá se dále usuzovat, že E2 po podávání ženám po menopauze má negativní účinek na citlivost k inzulínu, a dlouhodobě může být škodlivý?

Obr 30 ukazuje sedativní účinek jak [D-Lys³]GHRP-6, tak Spa, což koresponduje s nálezy, že ghrelin vyvolává zýšení explorační aktivity. Ghrelin má také analgetické účinky v modelu neuropatické bolesti u potkanů. Obr 30 uvádí analgetický účinek [D-Lys³]GHRP-6. O jaký mechanizmus se může jednat?

- Minoritní připomínky: V práci se uvádí hypofýza. Správně je adenohypofýza, vzhledem k tomu že druhá část hypofýzy, neurohypofýza je morfologicky i funkčně jiná tkání. Obr 19, (str. 65) ukazuje efekt DMSO na kumulativní příjem potravy. Zdá se, že měl negativní efekt. Chybí popis ve výsledcích. Obr 12, str 53, chybí vyznačení signifikance poklesu hmotnosti u OVX myší na St dietě po suplementaci E2.

Závěr:

Předložená dizertační práce je významným přínosem jak k poznání centrálních mechanizmů v rozvoji obezity u OVX jedinců s konzumací vysokotučné potravy, tak k poznání účinků antagonistů ghrelinu na zlepšení tohoto syndromu. Získané nálezy mohou být aplikovány i v klinické praxi, a dávají předpoklad k dalšímu rozvoji dané problematiky. Předložená dizertační práce splňuje podmínky požadované pro úspěšné ukončení a proto doporučuji Mgr. Matyškové po obhajobě udělení titulu Ph.D. v oboru Biochemie a patobiochemie.

[redakce]
Doc. Ing. Jana Jurčovičová, CSc.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie

3 LFUK v Praze

V Praze 18. 4. 2011