

OPONENTNÍ POSUDEK

dizertační práce PharmDr. Andrey Štofkové Štofkové „Role of Adipokines and Ghrelin in Normal and Nutritionally Modulated Adjuvant Arthritis in Rats“

Předložená doktorská dizertační práce je jako celek prezentována na 127 stranách v perfektní angličtině a je rozčleněna do 10 kapitol.

V úvodu autorka podává ucelený přehled o současném stavu znalostí o adipokinech, ghrelinu a glukokortikoidech s ohledem na regulaci příjmu potravy, rozvoj chronického zánětu a autoimunitních onemocnění. Zvláštní pozornost je věnována experimentální adjuvantní artritidě navozené aplikací Freundova adjuvans, která je použita v experimentech, o nichž je referováno v publikovaných studiích autorky. V další části autorka jasně definuje cíle studie a pracovní hypotézu.

Vlastní studie je rozdělena do čtyřech částí. První část zkoumá vztah leptinu a imunoendokrinních ukazatelů v jednotlivých fázích adjuvantní artritidy (AA). V 2. části je zkoumána souvislost mezi adipokiny, ghrelinem a expresí neuropeptidů regulujících příjem potravy v nucleus arcuatus hypotalamu během rozvoje anorexie navozené AA. Ve 3. části se soustředil zájem autorky na roli adipokinů v homeostáze glukózy u AA a konečně ve 4. části je zkoumán vliv dietní intervence na tíži AA, kachexii a na citlivost k inzulinu.

Zevrubně autorka popisuje rozsáhlou škálu metodických postupů, které při realizaci této studie musela zvládnout. Mezi ně patřily hodnocení skóre artrogramu, stanovení hormonů a cytokinů, vyšetření OGTT, kalkulace HOMA-indexu, stanovení obsahu leptinu a adiponektinu v homogenátech epididymální tukové tkáně, stanovení obsahu cholesterolu a triglyceridů v homogenátech jaterní tkáně, měření velikosti adipocytů atd. Autorka musela zvládnout i náročnou metodiku stanovení exprese genů celé řady hormonů, cytokinů, resp. receptorů (OB-R, NPY, AgRP, POMC, MC4R, CART, Il-1 beta, IL-6) v hypotalamických jádrech. Metody použité pro statistické zpracování dat v jednotlivých částech studie jsou jasně definovány.

Výsledky, které jsou dokumentovány formou 29 přehledných grafů, jsou v textu náležitě okomentovány. Následná diskuse výsledků opírající se o citace 394 článků z odborné literatury svědčí o tom, že autorka dovede patřičně interpretovat získaná data a učinit z nich odpovídající závěry, které mohou být aplikovány i v klinické praxi.

Za stěžejní výsledky lze považovat zjištění, že

- AA snižuje plasmatické hladiny leptinu a adiponektinu a zvyšuje plasmatické hladiny visfatinu a ghrelinu. Při překrmování potkanů dochází k obdobným hormonálním změnám s tím, že narůstá skóre definující artritické projevy spolu s ukládáním cholesterolu a triglyceridů v játrech.
- omezení energetického příjmu potkanům navodí u potkanů s AA větší pokles koncentrace leptinu, větší vzestup plasmatického ghrelinu a aktivaci systému hypotalamus – hypofýza – kůra nadledvin, která se manifestuje permanentním zvýšením hladiny kortikosteronu. Tato hormonální reakce v odpověď na energetický deficit přispívá k potlačení aktivity imunitního systému, a tím k poklesu hodnot artritického skóre.
- adaptační reakcí na hmotnostní redukci při artritidě (tj. artritickou kachexii) je zvýšení mRNA exprese orexigenních neuropeptidů (NPY, AgRP) a snížení exprese anorexigenního CART v nucleus arcuatus. Tyto změny nezabrání rozvoji artritické kachexie, která je zřejmě akcentována současnou zvýšenou expresí anorexigenního IL-1beta v hypotalamu.
- hyperleptinémie na začátku AA navozuje intenzivnější zánětlivou odpověď.

Publikační aktivita na téma dizertační práce:

Výstupy studie autorka shrnula ve 4 originálních článkách publikovaných v časopisech s IF (ve 3 z nich je první autorkou, v jednom 2. autorkou), v 1 článku publikovaném v zahraničním časopise bez IF (1. autor) a ve 2 přehledových článkách v zahraničním časopise bez IF (v obou jako 1. autor).

K autorce mám následující dotazy, resp. připomínky:

- Jak byl stanoven CRP (jednalo se o stanovení hsCRP)? Čím si autorka vysvětluje, že překrmovaná zvířata nevykazovala zvýšení CRP oproti kontrolám, i když jejich hmotnost a koncentrace leptinu byly sigifikantně vyšší. Zvýšení CRP u zánětlivých onemocnění u lidí bývá řádově vyšší než zjišťuje autorka u experimentální artritidy. Je to odrazem nižší zánětlivé aktivity nebo nižší syntézy CRP u experimentální AA či se jedná spíše o vliv použité metody ke stanovení CRP?
- Jak ovlivňuje zastoupení makronutrientů či obsah mikronutrientů při kalorické restrikci aktivitu zánětu u experimentální adjuvantní artritidy či v klinice u RA?
- Zvířata s omezením energetického příjmu měla proti očekávání 2x vyšší inzulinemii oproti kontrolám (0,64 ng/ml vs. 0,33 ng/ml) a 2x vyšší HOMA index (4,34 vs. 2,17). I když zvýšení bylo nesigifikantní, je tento trend nečekanný. Čím si to autorka vysvětluje?

- Zajímavým nálezem je bezpochyby snížená leptinémie u „překrmovaných“ artritických potkanů. Chybění významné změny hmotnosti u těchto potkanů (224→235 g) během 18 dnů oproti „překrmovaným“ kontrolním potkanům (231→325 g) a i oproti kontrolní skupině zvířat (223→294 g) zřejmě vysvětlí sníženou leptinémii. Nabízí se otázka, jak bylo kontrolováno, zda překrmování skutečně odpovídá zvýšená konzumace potravy? Čím si autorka vysvětluje nevelkou změnu hmotnosti „překrmovaných“ artritických zvířat? Měl by se předpokládat zvýšený energetický výdej. Je však nepravděpodobné, že by artritická zvířata vykazovala větší pohybovou aktivitu. Dá se zřejmě u nich, podobně jako u lidí s postižením pohybového aparátu, očekávat nižší pohybová aktivita. Může snad energetickou bilanci ovlivnit zvýšená tělesná teplota v souvislosti s aplikací Freundova adjuvans a vznikem zánětu či dochází k negativní energetické bilanci v důsledku termogenního působení některého z produkovaných cytokinů, např. TNF-alfa?
- V jinak velmi přehledné tabulce 4.1 v autoreferátu není jasně označeno, že udávané koncentrace triglyceridů a cholesterolu se týkají jateních homogenátů.

Závěr:

Předložená dizertační práce je významným přínosem jak k poznání humorálních faktorů v patogenezi zánětu u adjuvantní artritidy potkanů, tak k poznání úlohy změn energetické bilance při rozvoji artritických zánětlivých projevů. Diskuse získaných dat i předkládané závěry svědčí o tom, že PharmDr. Andrea Štofková zvládla metody vědecké práce a na základě hlubokých znalostí v oboru je schopna získaná data adekvátně interpretovat. Předložená dizertační práce splňuje podmínky požadované pro úspěšné ukončení doktorského studijního programu v biomedicině, a proto doporučuji Dr. Štofkové po obhajobě udělení titulu Ph.D. v oboru Fyziologie a patofyziologie člověka.

Doc. MUDr. Vojtěch Hainer, CSc.

Endokrinologický ústav v Praze

V Praze 29.11.2010