

Oponentský posudek na doktorskou práci:

***„Mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. Effective diet against ominous octet“***

Autor: MUDr. Hana Kahleová, Praha, 2012

Předložená doktorská disertace je napsaná v anglickém jazyce, má 87 stránek, standardně rozdělených do kapitol: obsah, souhrn (prvých 11 stran), následuje pohled na studovanou problematiku (strany 12 - 28) nazvaný „Pathophysiological mechanisms of insulin resistance, and beta-cell failure in type 2 diabetes“.

V ní autorka podrobně rozebírá problém insulinové rezistence, patogenesy poruch funkce beta buněk, užívané intervence a typy, část týkající se vegetariánské diety obsahuje i pohled na observační a intervenční studie.

Vlastní práce je naplněná kapitoly „Vlastní výzkum“, str. 29 - 87. Obsahuje popis cíle studia, formulaci výzkumných hypotéz, popis souboru, design studie, program dietní i fyzické intervence, dále použité klinicko-experimentální, klinické, zobrazovací, laboratorní a další výzkumné metody. Dále tato kapitola zahrnuje dosažené výsledky, jejich diskusi, na závěr pak souhrn hlavních nálezů a výstupů, klíčová slova, zkratky a literaturu se 196 citacemi.

Součástí předložené doktorské práce je portfolio obsahující 5 publikací in extenso s IF, z nichž jedna je již publikována, jedna v tisku a 3 v různém stadiu recenzního řízení. U všech je první autorkou MUDr. Kahleová, IF jednotlivých prací se pohybuje od 2.032 do 2.902.

Cílem disertační práce bylo zjistit nové poznatky o významu vegetariánské diety při léčbě diabetik druhého typu a mechanismu jejího účinku. Především se autorka zaměřila na prověření následujících hypotéz:

- 1) vegetariánská nízkoenergetická dieta ve srovnání s isokalorickou konvenční dietou má vliv na pokles insulinové rezistence, snížení volumu viscerálního tuku, výrazněji ovlivní ukazatele oxidačního stresu a tyto rozdíly se zvýrazní fyzickou aktivitou.
- 2) v mechanismu zvýšení insulinové sensitivity u vegetariánské diety budou hrát roli zejména mastných kyselin v sérových fosfolipidech.
- 3) vegetariánská i konvenční hypokalorická dieta budou mít obdobný vliv na ukazatele kvality života, Beckovu škálu deprese, i dietního chování.
- 4) příznivý efekt vegetariánské diety na tělesnou hmotnost, tělesné složení a zlepšení metabolismu glukózy bude ve srovnání se standardní dietou déle přetrvávat.
- 5) v mechanismu zlepšení funkce beta buněk po dietní a fyzické intervenci budou hrát roli zejména GIT peptidy.

Pro studium uvedených otázek zvolila formu otevřeně randomizované, paralelní studie, ve které sledovala u nemocných s DM 2 typu po dobu 6 měsíců vliv vegetariánské redukční diety ve srovnání s isokalorickou konvenční diabetickou dietou. Dle protokolu v prvních 3 měsících byli nemocní podrobeni pouze dietní intervenci bez dalších režimových úprav, v dalších 3 měsících pak diet v kombinaci s individualizovaným aerobním cvičením (3x týdně 1 hod intenzity 60% MHR)

Personální a metodické vybavení pracoviště, kde MUDr. Kahleová prováděla svoji studii, umožnilo nejen zajistit potřebné podmínky pro klinicko-nutriční sledování nemocných, ale studovat i mechanismy účinku zkoumaných nutričních a režimových vlivů na metabolismus glukózy, insulinovou rezistenci, insulinovou sekreci, tělesné složení, a další vybrané parametry diabetického rizikového metabolismu.

Adherence probandů k dietě byla pečlivě sledována analýzou 3 denních zápisů v 0, 3, 6 měsíců, resp. náhodných telefonických dotazů. V týdnech 3,8,14,19 posuzujících 24 hodin dietní záznamy.

Na začátku studie, po 3 a 6 měsících byl klinický, regulační a metabolický stav detailně charakterizován pomocí špičkových klinicko-experimentálních metod (sekrece insulinu po stimulaci standardizovanou snídaní v prubhu meal testu, inzulinová senzitivita pomocí hyperinsulinového euglykemického 3 hodin clampu, moderní matematické metody schopné modelovat biologické funkce umožnily sledovat insulin secretory rate z C peptidu a jeho závislost na koncentraci glukózy, potenciální faktor a další ukazatele.

Obsah podkožního a viscerálního tuku byl sledován pomocí magnetické rezonance, z analytických metod nutno vyzdvihnout –

- stanovení sérových koncentrací anorektických adipokín (resistin, adiponectin, HMW - adiponectin, leptin).
- GIT peptidy sledovány basálně a v prubhu clampu (GIP, PP, PYY, oxyntomodulin),
- enzymatické i neenzymatické ukazatele oxidativního stresu,
- složení mastných kyselin v sérových fosfolipidech
- stanovení dalších hormonů a metabolických ukazatelů umožnilo získat detailní poznatky o mechanismu účinku zkoumaného nutričního vlivu.

Důležitě bylo i posouzení individuální schopnosti jednotlivých probandů dodržovat stejnou kalorickou hodnotu při vegetariánské a konvenční diabetické dietě, v etně kvalitě života, změně jídelního chování, výskytu depresivních příznaků.

Důležité informace získala autorka s ohledem na přetrvávání navozených změn i po 1 roce po ukončení aktivní intervence.

Použité statistické metody jsou moderní a adekvátní k typu a charakteru získaných dat.: ANOVA, párové i nepárové t testy, standardní statistické testy, modely biologických funkcí.

Autorka dosáhla mnoha nových poznatků, z části prioritní povahy. Výsledky byly prezentovány opakovaně na seminářích, kongresech domácích i zahraničních, a jejich kvalita, originalita i praktický klinický význam umožnily jejich publikování v impaktních časopisech s náročnou oponenturou recenzentů.

Autorce bych proto položil několik otázek k výsledkům v jiných, dle mého soudu rovněž důležitých souvislostech, než jsou diskutovány v rámci autoriných publikací:

1) Jaké důvody vedly autorku k tomu, aby zvolila formu paralelní studie, má tato forma některé přednosti právě u nutričních intervencí?

2) U déle trvajících výrazných kalorických restrikcí se rozvíjí tzv. adaptace na nízkoenergetický příjem, charakterizovaná regulačními a metabolickými změnami vedoucími k poklesu odpovědi na lipomobilizační podněty a následně i k poklesu váhových úbytků. Lze uvažovat v souvislosti s odlišnou dynamikou poklesu hmotnosti, volumu viscerálního i subkutánního tuku, MCR glukózy, LDL cholesterolu v obou skupinách zejména v týdnech 12 - 24 o projevech této adaptace a pokud ano, ovlivnila vegetariánská dieta tento proces odlišně ve srovnání s konvenční dietou?

3) Vegetariánská dieta vedla k výraznější redukci hmotnosti, zejména viscerálního tuku, k zvýšení insulinosenzitivity, dále k výraznému zlepšení profilu adipokin, ke komplexnímu zlepšení non-enzymatických ukazatelů oxidačního stresu, a fyzická aktivita tyto rozdíly ještě akcentovala. Do literární diskuse se tak dostává poprvé dobře dokumentovaný příznivý vliv vegetariánské diety s následnou fyzickou aktivitou.

Autorka vysvětluje tyto výraznější změny snížením volumu viscerálního tuku a event. dalšími faktory jako jsou změny intramyocelulárních depositů tuku a další.

Na obr. 2, str. 43 lze sledovat u vegetariánské diety stálý pokles viscerálního i subkutánního tuku po celých 24 týdních, na obr. 3, str. 45 vidíme, že pokles hodnot adipokin (adiponektin, resistin) je zřejmý pouze v prvních 3 měsících, v dalších 3 měsících je patrný naopak jejich vzestup.

U kontrol, kde první 3 měsíce jsou charakterizovány rovněž poklesem hmotnosti, viscerálního i subkutánního tuku, hodnoty adiponektinu i resistinu neklesají, spíše naopak. Pouze hodnoty leptinu kopírují chování váhové křivky v obou skupinách. Obdobné trendy lze pozorovat i v chování některých ukazatelů oxidačního stresu.

Nenasvědčují tyto odlišné nálezy uvedených parametrů k poklesu hmotnosti více pro specifický význam vegetariánské diety nezávislý na (velikosti) poklesu hmotnosti, resp. zejména viscerálního tuku?

4) Významným prioritním nálezem je negativní korelace mezi plasmatickými koncentracemi PP a změny Gsensitivity a insulinové sekrece, korelace zůstává signifikantní i po adjustaci na BMI. Nález je významným přínosem pro literární diskusi pro chápání role GIT hormonů ve vztahu k poruchám funkce beta buněk při diabetu typu 2.

V literatuře se dosud uvádí, že PP ovlivňuje parakrinním mechanismem endogenní pankreas, vliv na insulinovou sekreci ale není prokázán. U PP bývá zdá se i jeho anorektický efekt. Mohla by autorka komentovat své nálezy týkající se PP i s ohledem na tyto poznatky?

5) Vegetariánská dieta byla asociována mimo jiné s méně negativními emocemi, s nižší reakcí ve smyslu „overeating“ při stresu, s výraznějším trendem poklesu pocitu hladu.

Mohou rozdíly v psychickém a emocionálním doprovodu obou diet vysvětlit výrazně větší podíl vyšší adherence u vegetariánské diety.

Jakou roli by mohl hrát v těchto volub vegetariánské diety ve srovnání s konvenčními dietami zejména v ovlivnění pocitu hladu?

6) Autorka prokázala přetrvávání příznivého vlivu vegetariánské diety i jeden rok po ukončení kontrolované intervence. Autorka připouští, že určitá část probandů byla ovlivněna na příznivým efektem vegetariánské diety na jejich zdravotní stav natolik, že byla motivována v dosavadním režimu pokračovat.

Byl to především vliv na emocionální a psychický stav, který motivoval probandy k dalšímu pokračování?

#### **Na základě předložené doktorské práce lze konstatovat,**

že autorka prokázala velký přínos ve studované problematice. Svědčí o tom téměř 200 citací, v tiskovině zcela recentních. Disertační práce je napsána v anglickém jazyce, je zpracována přehledně, výstižně a zkušeným způsobem. Dokumentuje, že autorka zvládla samostatně obtížná klinická sledování i velmi náročné výzkumné metody. MUDr. Hana Kahleová prokázala i schopnost samostatně studii plánovat, realizovat, dosažené výsledky interpretovat, diskutovat a nakonec i publikovat v impaktovaných časopisech.

Hlavním výsledkem doktorské práce jsou vedle nových, z části prioritních patofyziologických poznatků o příznivém vlivu vegetariánské diety v léčbě diabetes mellitus typu 2 i velmi cenné a dobře dokumentované zkušenosti s praktickým využitím vegetariánské diety. Jistě lze očekávat, že budou využity ve formě doporučení v dietním režimu diabetiků 2. typu, a nepochybně tak zvýší účinnost režimové léčby.

Vzhledem k tomu, že autorka splnila všechny podmínky k udělení titulu PhD,  
**jednoznačně doporučuji udělit MUDr. Haně Kahleové titul Ph.D.**

V Praze dne 02. 01. 2013

Prof. MUDr. Karel Vondra, DrSc.  
Endokrinologický ústav, Praha 1