

Posudek disertační práce PharmDr. Pavla Jeřábka

3. Lékařská fakulta University Karlovy

Název práce: Možné perspektivní využití ghrelinových mechanismů v terapii závislosti na opioidech

Autor, PharmDr. Pavel Jeřábek, předložil disertační práci o rozsahu 113 stran (z čehož je 13 stran literárních referencí). Práce dodržuje předepsané členění a splňuje formální požadavky na disertační práci kladené. Text je vhodně a logicky rozčleněn do kapitol, což napomáhá orientaci čtenáře. Práce sestává z teoretického úvodu a experimentální části, a je doplněna třemi impaktovanými publikacemi autora, z toho jednou prvoautorskou, které se všechny vztahují k tématu práce, tedy roli ghrelinových receptorů v modelu závislosti na opioidech.

Zvolené téma je zajímavé a mimořádně aktuální, vzhledem k tomu, že problematika závislostí představuje naléhavý celospolečenský problém, k jehož řešení může poznání příslušných neurobiologických mechanismů významně přispět, a to tím spíše, že popsán ghrelinový systém se zdá být společný pro celou řadu typů závislostí (drogy, alkohol, kouření, ale i přejídání). Antagonisté ghrelinových receptorů by mohli mít potenciál v terapii závislosti a prevenci relapsů. Navíc jde o téma zcela nové, protože podíl ghrelinu konkrétně v opioidní závislosti byl dosud zkoumán jen minimálně.

Úvod práce shrnuje obecné poznatky o problematice závislosti, včetně její definice a neurobiologických mechanismů. Velice dobře zpracovaná je část věnovaná animálním modelům a metodikám používaným k jejich posuzování. Poslední část teoretického úvodu je pak věnována přehledu poznatků o roli ghrelinu v různých typech závislostí.

Cílem práce bylo zjistit, zda utlumení ghrelinové signalizace povede ke snížení odpovědi na podání morfinu (jak po akutním, tak po subchronickém podávání drogy s následnou abstinencí), a to na úrovni neurochemické i behaviorální. Tyto cíle jsou zvoleny realisticky vzhledem k použitým metodikám a rozsahu práce, přitom jsou ambiciózní, z hlediska základního i preklinického výzkumu vysoce relevantní a vědecky zajímavé. Cíle a hypotézy práce jsou v textu explicitně formulovány v příslušné kapitole, přesto by právě tato část mohla být pojednána o něco pečlivěji. Cíle jsou definovány dosti obecně. Hypotézy jsou formulovány formou experimentálních otázek a jsou vesměs exploračního charakteru, tj. často není řečeno, jaký je předpokládaný směr očekávaného efektu, což je vzhledem k malému stupni probádanosti dané problematiky do určité míry pochopitelné, ale jasnější formulování předpokládaných výsledků (a později možnost je konfrontovat se skutečně naměřenými daty) by bylo na místě.

Praktická část práce popisuje zejména experimenty s antagonistou ghrelinových GHS-R1A receptorů, látkou JMV2959, v různých modelech morfinové závislosti. K řešení

experimentálních otázek byla použita kombinace vhodně zvolených a vzájemně se doplňujících metod, mnohé z nich experimentálně značně náročné, které dovolují komplexně posoudit zkoumané téma. Studovány byly zejména efekty na úrovni neurochemie (hladiny dopaminu a jeho metabolitů, hladiny endokannabinoidů) a chování (stereotypní chování, spontánní aktivita, podmíněná preference místa aj.). Metody jsou v práci náležitým způsobem popsány, s výjimkou stanovení neurotransmitterů pomocí kapalinové chromatografie/hmotnostní spektrometrie, které bylo prováděno na externím pracovišti. Do detailu jsou popsána i použitá farmaka a experimentální zvířata, použity byly přiměřeně velké experimentální skupiny. Také zvolené statistické metody jsou standardní a vhodně použité. Je nutné vyzdvihnout velké množství provedených experimentů a získaných dat.

Výsledky ukazují, že premedikace látkou JMV2959 snižuje morfinem indukované uvolnění dopaminu v „centru odměny“ *nc. accumbens* (specificky v oblasti pláště (*shell*)), i když je zcela nedokáže potlačit. Tato experimentální látka (při působení souběžně s morfinem) také ovlivnila metabolismus dopaminu, kde byla degradace tohoto neurotransmitteru celkově zvýšena, s posílením monoaminoxidázové dráhy a naopak oslabením katechol-O-methyltransferázové dráhy. V opioidní závislosti je významný taktéž endokannabinoidní systém, kde morfin vyvolává nárůst koncentrace anandamidu a naopak pokles hladiny 2-arachidonylglycerolu v plášti *nc. accumbens*. Inhibice ghrelinových receptorů zcela obrací vliv morfinu na uvolňování anandamidu (namísto vzestupu dojde k poklesu), zatímco v případě 2-arachidonylglycerolu je vliv závislý na předchozí historii užívání morfinu (prohloubení poklesu po akutním podání morfinu, naopak jeho zmírnění po subchronické zkušenosti s morfinem). V případě chronické zkušenosti s drogou a následné abstinence se projevuje při opětovném užití hypersenzitivita k jejím účinkům (senzibilizace), která je podáním této experimentální látky snížena (na úrovni dopaminergního i endokannabinoidního systému). Na úrovni chování JMV2959 taktéž potlačuje morfinem indukované změny v chování, zejména stereotypie a hyperlokomoci, a to ještě výrazněji po chronické zkušenosti s látkou (protokol behaviorální senzitivace). Snižuje také preferenci místa spojeného s drogovou zkušeností, což svědčí o oslabeném působení drogy jako odměny v kontextu podmiňování. Samotný ghrelinový antagonist nejeví významnější účinky na chování.

Vzhledem k tomu, že ghrelinový mechanismus je zřejmě společným jmenovatelem celé řady, či snad dokonce všech látkových závislostí, jsou tyto výsledky mimořádně významné, protože ukazují, že ghrelinoví antagonisté by se mohli v budoucnu uplatnit v terapii drogové závislosti, zejména v prevenci relapsu.

Po literární stránce je práce nadprůměrně dobře zpracovaná. Teoretický úvod je napsán velmi dobře a přístupnou formou, což je třeba vyzdvihnout. V úvodu i v diskuzi také autor odpovídajícím způsobem pracuje se zdroji a srovnává metodiky i výsledky s již publikovanými

pracemi. Zejména ve shrnutí a autoreferátu se místy objevuje šroubovaný sloh, který jde poněkud na úkor srozumitelnosti, ale naštěstí nepřevažuje.

Překlepy a pravopisné chyby se vyskytují jen v malém množství, což je známkou pečlivého zpracování. Vytknout lze místy nejednotnou použitou terminologii (nukleus i nucleus accumbens; NACSh i NACShe). V závěru se potom některé věty doslova opakují (kapitoly 5.4.2 a 5.5.1).

Větší pozornost měla být rozhodně věnována obrazovému doprovodu práce, protože zde se sešlo nedostatků více. Např. v obr. 1 nejsou vysvětleny některé v obrázku se vyskytující zkratky. Některé obrázky nemají dostatečné rozlišení a jsou viditelně pixelované, např. na obr. 6 je z tohoto důvodu obtížné rozlišit značky různých datových řad (kruh a čtverec). Všechny grafy jsou popsány v angličtině, i když práce je v jazyce českém. V případě grafů zpravidla chybí legenda jako součást samotného grafu, jednotlivé datové řady a jejich označení jsou až v popisu obrázku (který je často až na následující stránce než obrázek samotný), což velmi znesnadňuje orientaci. Díky tomu grafy často příliš nepomáhají pochopení a objasnění výsledků, což by mělo být jejich primárním účelem.

Práce po teoretické i experimentální stránce naplňuje cíle, které si autor stanovil. Zjištění dosažená v průběhu řešení práce jsou vědecky neobyčejně zajímavá, a přímo vybízejí k navazujícímu výzkumu, směřujícímu k preklinickému testování a případně i praktickému uplatnění.

Celkově vzato, práce je zpracována velmi pečlivě, a podává svědectví o kvalitní experimentální práci svého autora, stejně jako o jeho dobrých teoretických znalostech zvolené problematiky a schopnosti samostatně a tvůrčím způsobem zpracovat odborný text na vysoké úrovni. Není proto pochyb, že její autor velmi dobře naplnil všechna kritéria, požadovaná pro završení postgraduálního studia ve svém oboru.

Na základě těchto skutečností práci doporučuji k obhajobě.

Otázky oponenta:

1. Ghrelinový systém je primárně zodpovědný za regulaci příjmu potravy. Byl u potkanů použitých ve studii pozorován po experimentech zahrnujících akutní agonismus či antagonismus ghrelinových receptorů zvýšený či snížený příjem potravy, nebo by k tomu bylo zapotřebí dlouhodobější podávání?
2. K experimentálnímu designu patří také zaslepení výsledků při analýze. Bylo v experimentech zajištěno zaslepení při analýze koncentrací neurotransmitterů a jejich metabolitů, i při pozorování chování zvířat?
3. V práci se píše, že antagonismus ghrelinového receptoru by mohl mít klinické uplatnění v léčbě závislosti. U jakého typu pacientů by podle Vašeho názoru mohla být taková léčba nejpřínosnější, a jak by mohla probíhat? Lze při klinické aplikaci očekávat také vedlejší účinky?



RNDr. Tomáš Petrásek, Ph.D.