

Oponentský posudek disertační práce

Endokrinní funkce tukové tkáně: úloha při vzniku a rozvoji komplikací aterosklerózy

Autor: MUDr. Lenka Bošanská

Disertační práce se věnuje výzkumu tukové tkáně ve vztahu k zánětovým parametrům u osob se zvýšeným rizikem rozvoje aterosklerózy. V posledních letech je tuková tkáň intenzivně zkoumána jako místo tvorby mnoha působků a hormonů, které se podílejí na ovlivnění metabolického stavu a na patogenezi nemocí s ním spojených, např. aterosklerózy, diabetu mellitu aj. S ohledem na alarmující nárůst obezity a četnost příslušných nemocí je téma práce aktuální a její výsledky přinášejí další poznatky důležité pro poznání velmi komplexních vztahů tukové tkáně k zánětu a k celému organismu.

Předložená práce má 87 stran + přílohy tvořené třemi hlavními publikovanými originálními články v časopise s IF (ve dvou případech jde o první autorství), jedním článkem v českém časopisu a abstrakty vztahujícími se k tématu. Seznam použité literatury čítá 190 citací. Práce obsahuje 4 obrázky a 11 tabulek. Další dokumentaci lze nalézt v příložených člancích, které obsahují data vlastní disertační práce. Klasické členění práce na metodiku, výsledky a diskusi je tak v těchto oddílech členěno na čtyři hlavní skupiny odpovídající hlavním tématům předložené práce a příslušným článkům.

Úvodní teoretická část se zabývá endokrinní funkcí tukové tkáně, jejích jednotlivých typů (subkutánní, viscerální) a vztahu jejích produktů ke kardiovaskulárním onemocněním a patogenezi aterosklerózy. Podrobněji popisuje význam některých adipokinů (leptinu, adiponektinu, resistinu) a cytoadhezivních molekul (ICAM-1, VCAM-1, E-selektinu) z hlediska zánětu, který obezitu doprovází. V práci jsou formulovány čtyři konkrétní cíle – exprese cytoadhezivních molekul v subkutánní a viscerální tukové tkáni u obeztních žen ve srovnání s ženami neobeztními a ve vztahu k solubilním formám a dalším parametrům zánětu a metabolismu, polymorfismy genů pro adiponektin a resistin u obezity a mentální anorexie, změny některých zánětových parametrů tukové tkáně u feochromocytomu (před a po léčbě) a srovnání markerů endoteliální dysfunkce a adipokinů u osob závislých na heroinu (a to pak i následně po roční léčbě methadonem). Jde o studie prováděné na skupinách pacientů vybraných dle příslušných kritérií. Metodicky je práce s výjimkou první části založena na měření sérových koncentrací daných látek a dalších parametrů metabolického stavu s jejich statistickým vyhodnocením včetně vzájemných korelací. U první části je navíc exprese cytoadhezivních molekul v obou tukových tkáních měřena na úrovni mRNA, event. proteinu přímo ve vzorcích peroperačně odebrané subkutánní a viscerální tukové tkáně.

Většina publikovaných dat již prošla oponentním řízením při své časopisecké publikaci. Zajímavé a přínosné jsou zejména rozdíly mezi subkutánní a viscerální tukovou tkání v produkci cytoadhezivních molekul, a to díky přímému měření exprese sledovaných látek v jednotlivých druzích tukové tkáně a korelacím s ostatními parametry. Zajímavé je rovněž pozorování vývoje koncentrací adipokinů po operaci feochromocytomu, přičemž některé výsledky jsou odlišné od dosud publikovaných. Část věnovaná studiu pacientů závislých na heroinu dosud publikována nebyla a předpokládá ještě dokončení jak metodické, tak teoretické (např. přehled dosavadní literatury týkající se této problematiky).

Práce je po formální stránce zpracována pečlivě, je dobře napsaná. S ohledem na to, že výsledky již prošly recenzním řízením, mám jen drobné připomínky spíše k zpracování předložené disertace a několik dotazů:

- S ohledem na členění práce je nutné mozaikovitě vyhledávání příslušných údajů v jednotlivých sekcích. Možná by bylo vhodnější spojení sekce výsledky a diskuse. V některých případech text disertační práce odkazuje na publikované články zařazené v příloze (např. na straně 30), přičemž stránky přílohy číslovány nejsou, což dále ztěžuje vyhledání. V textu disertační práce např. chybějí údaje o souhlasu etické komise (uvedené v již publikovaných člancích).
- V úvodní přehledové části by bylo vhodné zařadit shrnující schéma či obrázek, popř. přehlednou tabulku s údaji o studovaných adipokinech či cytoadhezivních molekulách a jejich vzájemné provázanosti a regulaci, i když není detailně známa.
- Metodická laboratorní část je popsána poměrně stručně (cca 5 stran). U části měření jde o využití komerčních kitů a postupů (ELISA, RIA apod.). U nerutinních postupů by však popis mohl být podrobnější a ucelenější než v příložených člancích. V případě měření polyformismů by byl vhodný např. obrázek gelu jako ukázka. Z textu není rovněž jednoznačně patrné, jak byl stanoven postup pro restriční analýzu sledující dané konkrétní polymorfismy – je uvedena citace pro výběr primerů, vztahuje se však i na výběr restričního enzymu a celý postup? U real-time PCR cytoadhezivních molekul nejsou popsány parametry reakce ani sekvence primerů či jejich zdroj – šlo o navržení vlastních primerů či byly převzaty z literatury či starších prací? Přitom v jiné části metodiky jsou tyto údaje pro jinou PCR reakci uvedeny.
- Tab. 11 (str. 54): přehozené údaje CRP a celková bílkovina.


DOTAZY:

- Jak byl vybrán referenční gen pro real-time PCR tukové tkáně (18S RNA), byly zkoušeny i jiné geny (např. beta2-mikroglobulin)? Proč byly v tukové tkáni některé parametry stanoveny jen na úrovni mRNA, a nikoliv rovněž na úrovni proteinu (např. E-selektin)? Šlo u všech měření o již zavedené postupy nebo bylo nutné je pro účely těchto studií vyvíjet či adaptovat?
- Jaký je podíl autorky na nerutinních laboratorních, zejm. molekulárně biologických metodikách, popř. na jejich zavádění či modifikaci?
- Jaká je regulace exprese zmiňovaných adipokinů či cytoadhezivních molekul na subcelulární úrovni, jsou podrobněji známy např. transkripční faktory a kaskády jejich aktivace? Lze na jejich základě při současných znalostech vysvětlit rozdíly mezi dvěma druhy tukové tkáně, a to i s ohledem na možné terapeutické ovlivnění?
- Jsou známy mechanismy, jakými katecholaminy ovlivňují expresi adipokinů a CRP? Jsou při feochromocytomu změněny kromě CRP i jiné zánětové parametry (jiné cytokiny apod.), které by mohly expresi adipokinů ovlivňovat (a jejich pokles by tak mohl kompenzovat nárůst tukové tkáně)? Změnilo se operací množství (viscerálního) tuku, došlo-li jen k malému vzestupu BMI?
- Změnila se u osob závislých na heroinu během ročního sledování též aktivita hepatitidy?
- Plánujete rozšířit spektrum měřených adipokinů (např. o visfatin, omentin) a jejich využití ke korelaci nejen s metabolickými parametry, ale též s časnými známkami aterosklerózy (tloušťka intimy apod.) či léčbou např. statiny?
- Dá se některý ze sledovaných či jiných parametrů považovat za slibný v rutinním hodnocení viscerálního tuku, resp. známek metabolického syndromu?

ZÁVĚR

Autorka ve své disertační práci přináší velké množství originálních, z větší části již autorkou publikovaných výsledků, které přispívají k dalšímu pochopení role tukové tkáně jako zdroje zánětových molekul a patogenetického faktoru při vzniku aterosklerózy a dalších závažných chorob. Některé experimentálně získané poznatky a hypotézy jsou v předložené práci zkoumány v přesně definovaných klinických stavech, takže předložené výsledky mohou mít i praktický význam a propojují základní výzkum s významnými onemocněními. Autorka prokázala, že problematiku sleduje a ovládá a je schopna ji integrovat do širšího patofyziologického kontextu a vědecky prezentovat. Proto mohu konstatovat, že **autorka předloženou práci prokázala schopnosti a předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.**

V Praze, 4. května 2009



Doc. MUDr. Martin Vokurka, CSc.
Ústav patologické fyziologie 1. LF UK