

Oponentský posudek

Dizertant: MUDr. Pavel Leden
Název dizertace: Zánět a periferní metabolismus glukokortikoidů
Vysoká škola: Univerzita Karlova
Fakulta: 3.Lékařská fakulta
Studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka
Školitel: Doc. MUDr. Milan Kment, CSc.,
Oponent: Prof. RNDr. Richard Hampl, DrSc., Endokrinologický ústav, Praha

Ve složitém a pestrém mechanismu protizánětlivých účinků glukokortikoidů v zánětem postižených tkáních se dizertant zaměřil na klíčový zpětnovazebný okruh tvořený zjednodušeně (i) prozánětlivými cytokiny, (ii) které na úrovni příslušných enzymů pozitivně ovlivňují periferní metabolismus glukokortikoidů (GK) interkonverzí neaktivní formy na aktivní a *vice versa* a dále (iii) biologicky aktivní GK negativně, prostřednictvím svých receptorů, regulují tvorbu výše uvedených cytokinů. Do těchto mechanismů zasahuje řada dalších faktorů a produktů signálních drah. Hlavním, nikoliv ale jediným motem práce bylo sledování úlohy obou isoform enzymu 11beta-hydroxysteroidní dehydrogenasy (11HSD), odpovědné za bod (ii), jejíž první typ (HSD 1) působí jako reduktasa zatímco druhý (HSD 2) jako oxidasa. Změny 11HSD u zdravých a zánětem postižených tkání byly sledovány na úrovni enzymových aktivit a exprese obou isoenzymů, spolu s makroskopickými projevy a změnami exprese klíčových prozánětlivých cytokinů, případně exprese dalších hráčů (molekul), zapojených do těchto mechanismů.

Tři kapitoly se týkají úlohy periferního metabolismu glukokortikoidů u zánětu tlustého střeva. Autor použil dva experimentální modely zánětu vyvolaného podáním kyseliny trinitrobenzen sulfonové (TNBS) potkanům, imitující Crohnovu chorobu, a zánětu vyvolaného podáním dextran sulfátu (DS) zvířatům, napodobující ulcerosní kolitidu. K dalším pokusům pak použil vzorků tkání tlustého střeva od pacientů, vyšetřených kolonoskopií. Čtvrtá kapitola pak se týká experimentálního modelu revmatické artritidy u potkanů, kterým byly odebírány vzorky buněk z lymfatických uzlin a synoviocytů.

Hlavní cíle dizertant formuloval do 4 bodů (zde zjednodušeně): 1 a 2. Jak se mění aktivita a exprese obou isoenzymů 11HSD u experimentálně vyvolané kolitidy zvířatům jednak TNBS, jednak DS, a do jaké míry do těchto dějů zasahují další látky ovlivňující metabolismus a mechanismus účinku GK (např. inhibitor 11HSD carbenoxolon, antagonist GK mifepriston)? 3. Jak se mění exprese 11HSD ve střevní tkáni v průběhu onemocnění ulcerosní kolitidou? 4. Nakolik existuje podoba v expresi 11HSD s uvedenými modely u adjuvantní experimentálně vyvolané artritidy?

Po metodické stránce jde o velmi propracované molekulárně-biologické a biochemické postupy, vycházející z vlastní zkušenosti autora včetně klinické a z publikovaných prací. Popis metod je jasný a postupy jsou reprodukovatelné.

Hlavním výsledkem je nález zvýšených aktivit i exprese isoformy 11HSD1 ve všech zmiňovaných případech a naopak snížených aktivit a exprese oxidující formy 11HSD 2, spolu se zvýšenou expresí prozánětlivých cytokinů (IL 1beta, TNF-alfa). Nebudu na tomto místě citovat všechny výsledky a jejich interpretaci, všechny byly publikovány v kvalitních impaktovaných časopisech s recenzním řízením, což je zárukou originality. Data jsou

dokumentována přehlednými a samo-vypovídajícími grafy a tabulkami, kvalitní jsou i histologické ukázky změn v zánětem postižených tkáních.

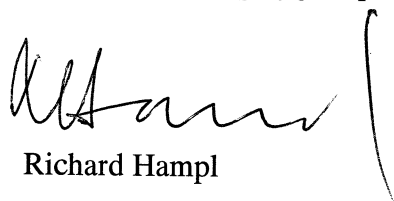
Rozbor a interpretace výsledků svědčí o skvělém přehledu autora v dané problematice a dobře spojuje biochemické a molekulárně biologické poznatky s klinickou zkušeností. Pro lepší informovanost naší širší biomedicínské veřejnosti by si např. kapitola o úloze GK při zánětu v různých tkáních zasloužila publikování v některém domácím periodiku, který zveřejňuje přehledové články na aktuální témata (např. Diabetologie, endokrinologie, metabolismus a výživa).

I po formální stránce působí práce profesionálně, v dizertaci jsem nenašel překlepy a formulační nedostatky až na úplné drobnosti.

K práci nemám kritických připomínek, pouze náměty k diskusi:

1. Co je známo o případné down-regulaci glukokortikoidních receptorů u experimentálních modelů ulcerósní kolitidy při expozici glukokortikoidy?
2. Dizertant vedle 11HSD a dalších výše uvedených molekul sledoval také expresi dalších vybraných "hráčů" v mechanismech zánětu a (také) imunitní odpovědi. Vedle exprese cyklooxygenasy (COX2), jako klíčového enzymu metabolismu kyseliny arachidonové směrem na prostaglandiny, je to zejména lipoxygenasa jejímž působením je kyselina arachidonová metabolizována směrem na leukotrieny. Sledoval někdo její expresi na výše uvedených modelech? To platí pro lipokortin(y) jako inhibitory fosfolipasy A2, jejichž exprese je přímo na genomové úrovni regulována glukokortikoidy.

Závěr: Jde o velmi kvalitní dizertaci, prokazující jednoznačně schopnost autora samostatné a tvůrčí vědecké práce, splňující podmínky pro udělení vědecké hodnosti PhD. V souladu s příslušnými předpisy ji doporučuji k obhajobě.



Richard Hampl