

Oponentský posudek na dizertační práci „Vliv inzulínu a glykémie na oxidační stres“ MUDr Michala ŽOURKA.

Předložená dizertační práce obsahuje 103 stran, rozdělených do 5 kapitol: úvod, přehled dosavadních znalostí, měření inzulínové sensitivity, zvířecí modely, cíle práce, dále 5 příloh, přehledu použité literatury a seznamu publikací a přednášek autora. Přehled použité literatury je založen na 197 citacích. Dále je součástí předložené dizertační práce seznam použitých zkratk, poděkování a přehledný obsah.

V krátkém úvodu uvádí autor důvody pro výběr řešeného problému a strukturu předložené práce.

V nejrozsáhlejší kapitole 2- přehled dosavadních znalostí (str. 7-34) autor podrobně probírá současné znalosti o metabolických účincích inzulínu a o oxidačním stresu. Zejména přehled tkáňově specifických knockout modelů při popisu různorodých efektů inzulínu, včetně výkladu inzulinoresistence v beta buňkách a její roli při vzniku dysfunkce beta buněk, působí nově a originálně a patří k nadprůměrným částem práce. Část disertace věnovaná oxidačnímu stresu, resp. intracelulární fyziologii a patofyziologii oxidoredukčních pochodů se zvláštním zaměřením na roli oxidu dusnatého a superoxidu prokazuje nejenom hluboké znalosti MUDr Žourka ale i schopnost je aplikovat v patogeneze inzulinoresistence, DM typu 2 a experimentovat v této oblasti. V 3. kapitole věnované měření inzulínové sensitivity autor podrobně popisuje jednotlivé clampové techniky, to je hyperinzulínový euglykemický, hyperinzulínový isoglykemický, hyperglykemický a hypoglykemický clamp, jejich provedení i vyhodnocování. Dobře zde dokumentuje praktickou zažitost těchto náročných klinicko-experimentálních technik.

Vlastní práce (kapitola 5) je postavena na využití clampové techniky u laboratorních potkanů v modifikaci originálního postupu zavedeného Klimešem v SAV. Autor pomocí této unikátní metody řeší některé otázky vzniklé na jednotkách intenzivní metabolické a kardiální péče. Jde zejména o otázku, zda exogenní infuze inzulínu je schopná upravit parametry oxidačního stresu během hyperglykémie a inzulinoresistence doprovázející kritický stav a tím ovlivnit morbiditu, resp. mortalitu těchto nemocných. Experimentální skupinu tvořilo 40 laboratorních potkanů (20 z kmene Wistar, sloužících jako kontroly s normálním metabolismem, 20 z kmene hHTG s metabolickým syndromem s inzulínovou resistencí, hypertenzí a hypertriglyceridemií), u kterých byl proveden clamp. Podrobné uspořádání experimentů je v této kapitole nejen popsáno, ale i graficky znázorněno. Vzhledem k neparametrickému rozložení naměřených experimentálních dat byl ke statistickému hodnocení využit Wilcoxonův test pro párové veličiny a Mann-Whitney test pro nepárové veličiny.

Autor zjistil již za basálních podmínek signifikantně zvýšenou aktivitu antioxidačního systému ve vazbě na metabolický syndrom s hyperinzulinemií. Tuto situaci autor vysvětluje vyšší produkcí reaktivní formy kyslíku doprovázející metabolický syndrom. Rovněž poměr mezi redukovanou a oxidovanou formou glutationu byl u potkanů kmene hHTG zvýšený. Během infuze s inzulínem autor zjistil zvýšení poměru ve srovnání s basálními hodnotami, infuze zabránila i poklesu poměru mezi redukovaným a oxidovaným glutationem navozený hyperglykemií. Velmi důležitým přínosem získaných dat je i získání dalších argumentů, že výše popsané efekty jsou dány především inzulínem per se, a ne sekundárně normoglykemií. Dosažené výsledky autor diskutuje na úrovni intracelulárních molekulárně biologických dějů. Zejména role oxidu dusnatého v těchto dějích se zdá být komplexnější, než se běžně uvádí. Výsledky napomáhají vysvětlit příznivé klinické zkušenosti s využitím inzulínu v péči o kriticky nemocné. Pomáhají objasnit mechanismus tohoto účinku zejména prostřednictvím schopnosti snížit projevy intracelulárního oxidačního stresu. Výsledky v užším či širším

kontextu byly prezentovány formou přednášky či posteru 22krát, z toho 10krát je autor na prvním místě. Ve formě publikací byly výsledky uvedeny 7krát, z toho 4krát v anglickém jazyce, prvním autorem je MUDr Žourek 2krát, vždy s IF

K předložené práci mám následující dotazy.

1) 75% citovaných zdrojů, o které se autor opírá, bylo publikováno před r. 2000, jsou tedy starší více než 9let, což je v rozporu s vysoce aktuálním tématem jeho experimentální práce. Jaké je vysvětlení?

2) Právě poslední léta přinesla doklady o významu poruch pulsního charakteru sekrece inzulínu při vzniku inzulinoresistence, při vzniku DM 2 během stárnutí a pod. Autor se o pulsní sekreci prakticky nikde nezmiňuje. Mohl by svoje nálezy komentovat z hlediska pravděpodobných poruch pulsní sekrece?

3) V souvislosti s hlavními nálezy autora týkající se vlivu exogenní infuze inzulínu na sledované parametry oxidačního stresu bych rád upozornil na experimentální práce, ukazující na stimulační vliv inzulínu na enzym NAD(P)H-oxidázu, která je považována za jeden z nejvýznamnějších intracelulárních zdrojů volných kyslíkových radikálů. Rovněž je známo, a autor sám na tento fakt upozorňuje, že inhibice tohoto enzymu v experimentu zabrání tvorbě volných kyslíkových radikálů. Mohl by tyto literární odkazy komentovat z hlediska svých zkušeností ?

4) Je známo, že u kriticky nemocných se rozvíjí i low T 3 syndrom výrazně prohlubující mimo jiné diabetický charakter intracelulárního metabolismu, včetně snížení účinnosti inzulínu, alterace aerobního metabolismu atd. Mohl by autor blíže komentovat vztah prakticky vždy přítomného low T3 syndromu u kriticky nemocných, ale i u neuspokojivě kompenzovaných diabetiků ve vztahu k poruchám oxidoredukčních intracelulárních pochodů a k nálezům získaným ve svých experimentech.

Závěr:

Zavedením modifikované metody clampu v experimentu autor vytvořil v České republice unikátní předpoklady pro systematické studium řady vysoce aktuálních otázek, souvisejících s etiopatogenezí vzniku inzulinoresistentních stavů, včetně diabetu typu 2, i možností jeho léčby. Ve své disertační práci dokumentoval u potkanů hHTG s metabolickým syndromem inzulinoresistenci doprovázenou poruchami intracelulární oxidoredukční fyziologie. Získal řadu experimentálních dat o příznivém vlivu exogenní infuze inzulínu na zjištěné projevy oxidačního stresu, které mu dovolily se i vyjádřit k mechanismu tohoto příznivého vlivu. Velmi důležitý přínos je i získání dalších experimentálních argumentů, že tento efekt je dán především inzulínem per se, než sekundárně udržováním normoglykémie. Výsledky umožňují racionálnější využití inzulínu v léčbě kriticky nemocných na jednotkách intenzivní péče.

Své výsledky prezentoval autor v českém i zahraničním písemnictví s požadovaným IF.

Na základě výše uvedeného hodnocení předložené disertační práce doporučuji udělení hodnosti PhD.

18.srpen 2007

Doc. MUDr. Karel Vondra, DrSc.
kvondra@endo.cz