

Oponentský posudek na disertační práci „Mechanism of insulin resistance in humans with focus on adipose tissue“.

Autor MUDr. Eva Švehlíková, Centrum diabetologie IKEM, Praha.

Školitel prof. MUDr. Terezie Pelikánová, DrSc.

Práce je psaná anglicky, má 104 stran. Je strukturovaná do následujících kapitol: Summary, Introduction, AIMS, Methods, Results, Discussion, Summary of main outcomes, Conclusions,

Abbreviations, Literature, Appendix. Na závěr jsou in extenso uvedeny kopie pěti zásadních publikací, jejichž výsledky tvoří základ disertační práce.

Cílem předložené disertační práce byla snaha poskytnout detailnějšímu poznání mechanismů, kterými se subkutánní tuková tkáň podílí na vzniku a rozvoji inzulinorezistence. Špičkové pracoviště autorce dovolilo vytvořit dostatečně přesné podmínky, za kterých bylo možno použít potřebné náročné klinicko-experimentální a analytické metody k získání relevantních dat, které bylo možné kriticky interpretovat. V jednotlivých studiích autorka použila metodu hyperinzulinového - euglykemického clampu, infuze lipidů, fyziologického roztoku, blokády angiotenzinu II. Vzorky podkožního tuku získané biopsií z abdominální oblasti umožnily sledovat endokrinní aktivitu tukové tkáně pomocí exprese vybraných adipokinů. Popsané náročné metodické postupy byly využity ve 4 studiích u dobře charakterizovaných skupin zdravých, nemocných s diabetem typu 2 s nadváhou /obezitou a u nemocných se zvýšenou glykemií nalaženo s nadváhou /obezitou. V první studii byl sledován vliv hyperinzulinémie s/bez akutní blokády angiotenzin 2 typu 1 receptoru na plazmatické koncentrace vybraných adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni v abdominální oblasti u nemocných s DM 2. U diabetiků autorka zjistila odlišné plazmatické hladiny studovaných adipokinů nezávisle na jejich expresi v podkožní tukové tkáni. Zejména byly ovlivněny hladiny rezistinu a leptinu – v obou skupinách, hladina adiponektinu a TNF alfa inzulinem nebyly ovlivněny ani jejich zvýšené exprese v podkožním tuku. Blokáda angiotenzin 2 typu 1 receptoru vedla k poklesu hladin rezistinu a leptinu, exprese studovaných adipokinů neovlivnila. Blokáda losartanem vedla k poklesu celkového a HMV adiponektinu i jeho exprese. Zjištěné změny cirkulujících adipokinů nebyly tedy možno vysvětlit pouze změnami jejich exprese v tukové tkáni. Plazmatický A-FABP (adipocyte fatty acid – binding protein) a

jeho exprese v tukové tkáni korelovaly s obezitou, inzulinorezistencí a hyperglykemií. Hyperinzulinémie snižovala A-FABP v plasmě, ale neměla jeho expresi v tukové tkáni. Akutní blokáda angiotenzin 2 typ 1 receptoru stimulovala bazální hladiny A-FABP, ale neovlivňovala jeho expresi.

Druhá studie zaměřená na vliv krátkodobé léčby telmisartanem u nemocných se zvýšenou hladinou glykemií. Autorka zjistila zvýšenou plasmatickou koncentraci adiponektinu, leptinu a rezistinu a naopak sníženou hladinu TNF alfa. Hyperinzulinémie tyto úkony potencovala. Expresie adipokínů v subkutánní tukové tkáni se neměla. Experimentálně navozená hyperlipidémie ve studii III. zvyšovala sekreci TNF alfa a rezistinu, naopak hladiny leptinu a A-FABP (adipocyte fatty acid – binding protein) klesly. Expresie adipokínu v podkožní tukové tkáni nebyla hyperlipidemií ovlivněna. Ve studii IV byly sledovány hladiny adipokínů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni během progresu glukozové intolerance. Byly nalezeny rozdíly mezi jednotlivými skupinami v plasmatických koncentracích, tyto ale nebyly prokázány v expresi adipokínů v podkožním tuku.

Ke studiím a jejím výsledkům mám několik dotazů, z části z metodického, a více z interpretačního aspektu.

K metodám:

Mohla by autorka porovnat výhody/ nevýhody metody sledování exprese a metody mikrodialyzy při studiu endokrinní aktivity podkožní tukové tkáně?

V úvodu práce je moderní a aktuální pohled endokrinologie tukové tkáně, s charakterizací i zcela nových peptidů s hormonální aktivitou - co vedlo autorku

ke zvolenému výběru studovaných adipokínů, u kterých se uplatňují v regulaci výrazní a jiné faktory, jako například u rezistinu zánět, nebo u adiponektinu fyzická aktivita.

K interpretaci:

Je obecná zkušenost, že koncentrace metabolitů, i regulačních peptidů v cirkulaci a v tkáních jsou zejména za patofysiologických stavů odlišné, vzpomeňme na hladiny aminokyselin v krvi a ve svalu u urémie a zásadní význam informací ze svalové biopsie. Autorka si toto uvědomuje, diskutuje důvodů vzestupu hodnot v krvi bez adekvátních změn aktivity exprese v podkožní tukové tkáni.

Mohla by p ehledn shrnout vlivy , které vedou k této situaci, jako jsou například další zdroje produkce adipokin , ale i vlivy vedoucí naopak k poklesu hodnot adipokin v cirkulaci?

U dobře kompenzovaného diabetika je nezbytné uvažovat vliv a typ léky, u DM2 může být v případě stimulační sekrece inzulínu sulfonylureou i zvýšení citlivosti metforminem. Tuto manipulaci s endogenním inzulínem a jeho účinkem i při vyloučení glitazon lze v studovaném souboru předpokládat, včetně manipulace s lipolysou a ovlivněním tedy zejména prozánčlivých, aktivace zánčlivých cytokinů a to nejen v tukové tkáni. Rovněž užívání nesteroidních antiinflammatorik je velmi rozšířeno, s vlivem na zánčlivé údaje a ukazatele je u souboru s průměrným věkem 50 let v této souvislosti nutno počítat. Jak by komentovala autorka tyto chybné informace o nemocných s DM2, s IFG i age matched kontrol ve vztahu s interpretačními problémy u nichž výsledky?

Za jak velký problém při interpretaci nálezů považuje autorka interindividuelní variabilitu, která může být větší než rozdíly mezi jednotlivými skupinami? Hrají zde větší roli chybné charakteristiky a parametry, které by variabilitu vysvětlily? Nebylo možné využít multifaktoriální analýzu se zhodnocením jednotlivých faktorů, které byly k dispozici?

Studie byly provedeny pouze u mužů, vzhledem k odlišnostem v regulaci abdominálního tuku u mužů a žen i odlišných konsekvencích jeho depotizace v tomto regionu bylo by možné očekávat výrazné odlišnosti u žen?

Pro autorka neuvažovala o analýze k antropometrickým údajům, které dovolují dostatečně přesně hodnotit i množství podkožního a viscerálního tuku.? Zjistěné vztahy mezi leptinem, event.dalšími adipokiny by mohly významně přispět například k diskusi o vztahu adipokinů a poruchy glukozové tolerance v závislosti na množství tuku

Závěrem:

Docílené výsledky zpřesnily naše chápání role adipokinů v patogenezi inzulinorezistence. Ukázalo se, že u studovaných skupin se hodnoty adipokinů lišily jak v basálních hladinách, tak v regulaci jejich exprese v podkožní tukové tkáni. U jednotlivých typů poruch glukozové tolerance autorka charakterisovala typické změny

regulace adipokin . Autorka prokázala velký přehled ve studované problematice. Svídí o tom impozantních 320 citací, většinou zcela recentních, byasto protichdné literatury, z velké části založené na experimentálních datech, která zdaleka nebyla potvrzena u člověka.

Soubor studií MUDr Evy Švehlíkové provedený u člověka za různých podmínek definovaných patofysiologických stavů je proto velkým přínosem. Disertační práce dokumentuje, že autorka zvládla samostatně velmi náročné klinicko experimentální postupy, prokázala schopnost samostatně studie plánovat, realizovat, diskutovat a nakonec i publikovat v renomovaných časopisech, z nichž bych vyzvedl : European J of Endocrinology (IF 3.14) , Diabetes Research and Clinical Practice (1.82) oponentní řízení v Diabetologia (IF 6.41), je ale i spoluautorkou dalších publikací s vysokým IF, které nejsou obsaženy v doktorské práci. Při publikování v těchto mezinárodních časopisech se musela MUDr Eva Švehlíková vyrovnat s náročnou a nepřijemnou oponenturou předních zahraničních odborníků. Po formální stránce je práce velmi hezky napsaná v anglickém jazyce, to spolu s pečlivou redakcí, a použitím barev dodává předložené doktorské práci nadregionální, mezinárodní rozměr s možností využít disertační práci bez větších úprav pro zahraniční vydání ve formě monografie..

Jednoznačně doporučuji udělit MUDr Evě Švehlíkové titul PhD.

01.03.2011
Prof. MUDr. Karel Vondra, DrSc