

## OPONENTSKÝ POSUDEK

dizertační práce MUDr. Miloše Mráze

„Nové metabolické regulátory a prozánětlivé faktory v etiopatogeneze diabetes mellitus

### 2. typu a obezity: Vliv farmakologických a dietních intervencí“

Předložená doktorská dizertační práce je jako celek prezentována na 136 stranách a je doplněna přílohami prací, které reprezentují publikační výstupy výzkumu. V úvodu autor podává ucelený přehled současných znalostí o funkci a mechanismu působení fibroblastových růstových faktorů (FGF) a o úloze tukové tkáně a v ní produkovaných adipokinů při vzniku chronického subklinického zánětu. V další části je definována jak hypotéza, tak čtyři hlavní cíle studie:

1. Zkoumání úlohy FGF při rozvoji obezity a diabetes mellitus 2. typu (DM2).
2. Odhalení mechanismů podílejících se na regulaci hladin FGF-19 a FGF-21 pomocí farmakologických intervencí.
3. Porovnání úlohy vybraných cytokinů v podkožní tukové tkáni a v cirkulujících monocyttech u subklinického zánětu, který provází obezitu a DM2.
4. Posouzení úlohy změn hladin FGF-19 a FGF-21 a exprese vybraných cytokinů v podkožní tukové tkáni a monocyttech při ovlivnění metabolické kompenzace DM2 nízkoenergetickou dietou.

V metodické části jsou popsána jak antropometrická, biochemická a hormonální vyšetření, tak i náročná další vyšetření jako biopsie tukové a jaterní tkáně, izolace monocytů, stanovení exprese mRNA a vyšetření inzulinové senzitivity pomocí hyperinzulinemického izoglykemického clampu. Dietní intervence byla prováděna pomocí velmi přísné nízkoenergetické diety (VLCD s denním energetickým příjmem 2500 kJ), zatímco při farmakologické intervenci bylo využito agonisty PPAR $\alpha$  fenofibrátu. Při statistické analýze dat bylo použito adekvátních statistických metod.

Ve výsledkové části autor zodpovídá na jednotlivé vytyčené cíle. U pacientů s obezitou, jakož i u obézních pacientů s DM2 byly prokázány vyšší koncentrace FGF-21 než u kontrolních osob. Jak nízkoenergetická dieta, tak aplikace fenofibrátu vedly ke zvýšení hladin FGF-21. Vzestup FGF-21 byl rovněž zjištěn v odpověď na hyperinzulinemii při clampu u pacientů s DM2. U obézních žen byla prokázána dvojnásobně zvýšená mRNA exprese FGF-21 oproti kontrolní skupině. Autor dochází k závěru, že zvýšení sérových koncentrací FGF-21 v odpověď na dietní či farmakologickou intervenci může svědčit pro pozitivní vliv FGF-21 na metabolickou kompenzaci organismu. Na druhé straně u obézních

jedinců byly prokázány nižší koncentrace FGF-19, které však nebyly významně ovlivněny aplikací VLCD. Nicméně u diabetiček vedla tříměsíční léčba fenofibrátem k signifikantnímu snížení sérového FGF-19. V závěrečné studii byla prokázána zvýšená exprese genů chemotaktických a prozánětlivých faktorů v podkožní tukové tkáni a odpovídajících receptorů na cirkulujících monocYTEch jak u obézních pacientů, tak zejména u pacientů s DM2. Aplikace VLCD po dobu 2 týdnů navodila signifikantní zlepšení profilu sledovaných prozánětlivých faktorů jak v podkožním tuku, tak na monocYTEch.

Výsledky studie jsou doloženy třemi publikacemi v renomovaných impaktovaných časopisech (Clinical Endocrinology, Physiological Research, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism). Ve všech těchto publikacích je Dr. Mráz prvním autorem.

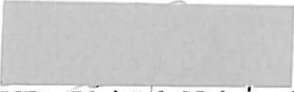
Studie doprovází 9 názorných obrázků a 1 tabulka, která shrnuje nejdůležitější chemokiny a jejich vztah k obezitě a DM2. Práce je doplněna 510 literárními odkazy, které zahrnují nejnovější poznatky ve zkoumané problematice. Diskuse s odkazy na literaturu svědčí o tom, že autor dovede patřičně interpretovat získané výsledky a dokáže z nich učinit odpovídající závěry, které mohou být aplikovány v klinické praxi.

#### **K autorovi mám následující dotazy:**

1. Ve studiích bylo použito k antropometrické charakteristice sledovaných jedinců indexu tělesné hmotnosti (BMI). Proč nebylo antropometrické vyšetření doplněno ukazatelem distribuce tělesného tuku, který lépe odráží chronický prozánětlivý stav a kardiometabolická rizika obézního jedince. I mezi obézními pacienty s  $BMI \geq 40$  se mohou vyskytnout občas jedinci s normální inzulinovou senzitivitou („healthy obese“), a to obvykle při gynoidní distribuci tuku. Naopak i nadváha či obezita lehčího stupně může být při zvýšené akumulaci intraabdominálního tuku provázena chronickým prozánětlivým stavem a zvýšenými kardiometabolickými riziky.
2. Jsou v literatuře doklady o tom, že se odpověď cytokinů na redukční režim liší u jedinců s rozdílnou distribucí tělesného tuku?
3. U studovaných obézních žen byl vyloučen diabetes. Dle HOMA-indexu byly tyto ženy bezpochyby inzulinorezistentní a ve dvou studiích měly vyšší průměrnou glykémii nalačno. Kolik obézních žen ve Vašich sestavách mělo prokázanou porušenou glykémii nalačno?
4. V dietních intervencích bylo použito velmi přísné nízkokalorické diety (VLCD) o energetickém obsahu 2.500, resp. 2.300 kJ. Proč autoři volili tento energetický obsah VLCD? Vyskytovaly se po aplikaci dietního režimu nežádoucí účinky? Jaký byl podíl jednotlivých makronutrientů v aplikované dietě? Jak může podíl makronutrientů ovlivnit sledované parametry? Byla tato dieta ketogenní?
5. Autor neuvádí, jak byl standardizován pohybový režim v intervenčních studiích, i když stupeň pohybové aktivity může výrazně ovlivnit vliv dietní intervence na sledované parametry.

## **Závěr:**

Předložená dizertační práce je cenným přínosem jak k poznání patofyziologické úlohy fibroblastových růstových faktorů 19 a 21 ve vztahu k obezitě a diabetu, tak k poznání jejich regulace v závislosti na nutričním stavu organismu a na podávání agonisty PPAR $\alpha$ . Významným přínosem pro klinickou praxi je rovněž prokázána úloha chemokinových a cytokinových receptorů v periferních monocytech jako ukazatele exprese prozánětlivého stavu v podkožní tukové tkáni, který provází obezitu a diabetes mellitus 2. typu. Diskuse získaných dat i předkládané závěry svědčí o tom, že MUDr. Miloš Mráz zvládl metody vědecké práce a na základě hlubokých znalostí v oboru je schopen získaná data diskutovat a správně interpretovat. **Předložená dizertační práce splňuje podmínky požadované pro úspěšné ukončení doktorského studijního programu v biomedicíně, a proto doporučuji MUDr. M. Mrázovi po obhajobě udělení titulu Ph.D. v oboru Fyziologie a patofyziologie člověka.**

  
Doc. MUDr. Vojtěch Hainer, CSc.  
Endokrinologický ústav v Praze  
V Praze 14.11.2011