

Oponentský posudek na disertační práci

Autorka: Mgr. Martina Holubová

### **Vliv stabilních agonistů a antagonistů ghrelinového receptoru na regulaci příjmu potravy**

Dizertační práce je zaměřena na základní mechanizmy, které se uplatňují v regulaci příjmu potravy, jmenovitě charakterizaci působení syntetických látek, které působí buď jako agonisté nebo antagonisté ghrelinu. Na výkumném zaměření a kvalitě celé dizertace se jasně projevují vlivy, pod kterými práce vznikala – pracovní možnosti, zkušenosti a spolupráce vynikající laboratoře vedené RNDr. Maletínskou, CSc, která byla hlavní školitelkou. Téma práce dobře zapadá do studijního programu biochemie a patobiochemie. Dizertační práce je psána v češtině, má klasický formát a zakládá se na třech publikacích v impaktovaných časopisech. Na dvou z těchto článků je Mgr. Holubová prvním autorem. Publikace jsou přiloženy na konci dizertace.

Po formální stránce je dizertace velmi zdařilá, většina výsledků již prošla důkladnou recenzí posuzovatelů v redakcích časopisů. Na literárním úvodu (28 stran) je zejména třeba vyzdvihnout detailní popis kachexie a anorexie, a popis souvisejících experimentálních modelů. Cíle práce jsou dobře formulovány. Popis metod (14 stran) odráží velice komplexní přístup k řešené problematice, od syntézy nových látek, až k jejich testování.

Výsledková část (31 stran) koresponduje s publikacemi. V dizertaci jsou však některé výsledky popsány podrobněji. Výsledky první práce jsou založené na vývoji nových dlouhodobě působících agonistů ghrelinu v laboratoři školitelky, popisu syntézy, testování in vitro a in vivo a popisu farmakokinetiky. Tyto výsledky pokládám za nejdůležitější přínos dizertace. Nové látky by se mohly uplatnit v léčbě kachexie, jsou podkladem patentu. Výsledky dalších dvou publikací popisují efekty agonistů a antagonistů ghrelinu, látek vyvinutých na spolupracujícím pracovišti ve Francii. Tyto výsledky dokládají systematickou a poctivou snahu přispět k charakterizaci ghrelinové signalizace a jsou dobrou referencí při vývoji nových látek. Na všech výsledcích zejména oceňuji ty, které byly získány v akutních a dlouhodobých pokusech na myších. Tyto pokusy jsou relativně náročné a výsledky z nich jsou nezbytné pro případné klinické testování nových látek.

Diskuse (10 stran) a závěry jsou adekvátní a dobře propracované.

Moje komentáře a otázky k dizertaci:

1. Všechny publikace jsou nutně výsledkem spolupráce autorky dizertace s dalšími. Chybí však informace o konkrétním příspěvku autorky.
2. Jaké je srovnání vlastností nových agonistů ghrelinu a perspektiva jejich využití vzhledem podobným látkám vyvinutým na jiných pracovištích?
3. Při testování akutních účinků na příjem potravy byla potrava vážená každých 30 min po dobu 5 hodin – automaticky nebo ručně? Jaký je pak stresový dopad časté manipulace, byl také kvantifikován příjem potravy po 5 hodinách bez výše uvedených manipulací? Je možné hodnotit interakci mezi testovanými látkami a stresem?
4. Je popsána detekce RNA, ale nejsou udané sekvence primerů.
5. Kachektiční pacienti mají zvýšené hladiny ghrelinu, tedy pravděpodobně jsou rezistentní k jeho účinku – jak tedy fungují používané suprafyziologické dávky ghrelinu a jak bude třeba navýšit hladiny agonistů ghrelinu u kachektických pacientů?
6. Látky a agonistickými účinky (Publikace 1) nemají vliv na příjem potravy u hladových myší (...not shown...) – je nějaký vliv na hladiny neuropeptidů v hypothalamu?
7. Publikace 2, proč byly látky podávány s.c.? Pro srovnání s účinkem nových látek?

8. Publikace 2, pokles exprese UCP1 genu – bylo by vhodné zopakovat u myši vystavených chladu.
9. Publikace 3, v diskusi je uváděna možnost, že podkladem efektu je zvýšení exprese UCP1 genu – to ale nesouhlasí s výsledky (obr- 34, str. 89).
10. Publikace 3, pdf na konci – chybí všechny tabulky

Závěr:

Práce přináší vynikající výsledky v oblasti vývoje nových agonistů ghrelinu a charakterizace biologických efektů a farmakokinetiky antagonistů ghrelinu. Tyto výsledky z pokusů na myších mají nesporně šanci napomoci léčbě závažných klinických stavů, zejména kachexie a možná i onemocnění spojených s obezitou. Výsledky jsou vynikajícím příkladem základního dobře koncipovaného výzkumu. Na základě této disertace proto navrhuji udělit její autorce akademický titul PhD.

V Praze dne 8.9.2014

MUDr. Jan Kopecký, DrSc.  
Fyziologický ústav AV ČR  
Videňská 1083  
142 20 Praha 2