

Abstrakt

V současné době je obezita vážný problém [1,2]. Ačkoliv by se mohlo zdát, že jde pouze o vyšší příjem potravy oproti energetickému výdeji, jde o složitou metabolickou chorobu, která se váže na lipidový metabolismus v tukové tkáni a buněčnou signalizaci s ním spojenou [3]. Je velmi důležité porozumět biologii tukové tkáně, abychom mohli rozpoznat nové a potencionální terapeutické cíle, které by nám pomohly předcházet a léčit choroby spojené s obezitou [4]. V našem výzkumu jsme využili především analytickou techniku kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) ke studiu metabolismu tukové tkáně a rovněž jsme se zaměřili na vliv omega-3 polynenasycených mastných kyselin (PUFA) na tento metabolismus. Prováděli jsme pokusy na hlodavcích a buněčných liniích a analyzovali jsme bílou tukovou tkáň, vzorky séra/plasmy, buněk a mateřského mléka.

Nejprve jsme zavedli několik metod ultraúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (UPLC-MS/MS) k analýze acylkarnitinů (AC), aminokyselin (AmA) a dalších metabolitů. Tyto metody nám umožnily rozdělit isobarické acylkarnitiny, ačkoliv to není obvykle možné. Použití těchto metod také odhalilo několik acylkarnitinů, t.j. AC s dlouhým řetězcem, karnitin, acylkarnitiny C4 a C6, C4DC stejně tak jako aminokyseliny tyrosin, alanin, ornithin a threonin, které by mohly sloužit jako komplexní pohlavně specifické biomarkery náchylnosti k obezitě a k obezitou podmíněné inzulinové rezistenci. Navíc jsme odhalili, že příjem vysokotukové diety kojících krysích samic vede ke změnám v profilu AC a AmA v plasmě mláďat. Konkrétně jde o acetylkarnitin, AC se středně dlouhými a dlouhými řetězci a glycin, alanine, isoleucine, serin a prolin.

Poté jsme se zaměřili na vzájemné interakce dvou hlavních typů buněk v tukové tkáni, adipocytů a makrofágů tukové tkáně. Naše výsledky ukázaly, že makrofágy specificky mění lipolýzu a re-esterifikaci mastných kyselin v adipocytech, přičemž tyto změny závisí na polarizačním stavu makrofágů a jsou odpovědí na suplementaci omega-3 PUFA v dietě. Dále jsme s využitím UPLC-MS/MS metabolické metody odhalili, že se prozánětlivé M1 a protizánětlivé M2 makrofágy chovají rozdílně. V další části dizertační práce jsme zkoumali lipidové mediátory, které vznikají v tukové tkáni. Zjistili jsme původ lipidového mediátoru protektinu D1. Také jsme stanovili hladiny několika dalších lipidových mediátorů v různých buněčných typech tukové tkáně a ukázali jsme jejich vzájemné působení. Navíc jsme doložili schopnost omega-3 PUFA snížit zánět v tukové tkáni.

Následně jsem se zaměřili na větvené estery oxidovaných mastných kyselin (FAHFA) lipidové molekuly, které rovněž ovlivňují metabolismus tukové tkáně. Popsali jsme novou sloučeninu z této lipidové třídy, t.j. ester kyseliny dokosaheptaenové a hydroxylinolové (DHAHLA), pomocí fragmentačních schémat a detekovali jsme několik jejích izomerů v myší plasmě. Poté jsme ukázali, že jsou adipocyty a makrofágy schopné vytvořit 13-DHAHLA a dokázali jsme její protizánětlivé účinky. Následně jsme jako první odhalili výskyt 13-DHAHLA v mateřském mléce, ale pouze ve vzorcích od matek, které během těhotenství užívaly omega-3 PUFA suplementaci. Naše výsledky rovněž naznačují, že se molekuly FAHFA z mateřského mléka mohou dostat do oběhu novorozence a tak pozitivně ovlivnit jeho metabolismus.

Závěrem lze říci, že jsme s využitím velmi citlivé techniky UPLC-MS/MS rozšířili naše znalosti o metabolismu tukové tkáně. Konkrétně jsme se zabývali vzájemnou interakcí mezi hlavními složkami tukové tkáně a analyzovali jsme různé metabolity (např. acylkarnitiny, lipidové mediatory, FAHFA sloučeniny) v různorodých vzorcích, které tento metabolismus ovlivňují.