

**Oponentský posudek doktorské disertační práce**  
**M.Sc. Tomáše Jeleníka**  
**1. lékařská fakulta UK Praha**

**Analysis of the involvement of  $\alpha$ 2-AMPK in the beneficial effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on obesity-associated metabolic derangements**

Rozsah práce

Předložená disertace má formu čtyř monotematicky zaměřených publikací uveřejněných v mezinárodních renomovaných časopisech (Diabetes, Diabetologia, Obesity, Journal of Physiology and Pharmacology). Předkladatel je prvním autorem publikace uveřejněné v časopise Diabetes, podíl M.Sc. Tomáše Jeleníka na dalších publikacích je v disertační práci jasně uveden. Předložené publikace jsou doplněny společným úvodem, vymezením cílů, stručnou metodikou, výsledkovou částí a diskuzí integrující jednotlivá zpracovávaná témata. Celá práce je psána anglicky, velmi jasně a přehledně. Úprava práce plně vyhovuje formálním požadavkům kladeným na disertační práci.

Cíle

Hlavním cílem studií zařazených do předkládané disertace byla analýza mechanismů podmiňujících pozitivní vliv n-3 LC-PUFA na rozvoj obezity a s ní spojené inzulínové rezistence a další metabolické poruchy.

Jednotlivé studie, které zároveň představují jednotlivé kapitoly, rozpracovávají následující dílčí témata:

1. studium úlohy  $\alpha$ 2-AMPK v působení n-3 LC-PUFA na modelu KO myši s cílenou delecí  $\alpha$ 2 podjednotky AMPK;
2. výzkum účinnosti chemických derivátů n-3 LC-PUFA v prevenci a léčbě poruch lipidového a glukózového metabolismu navozených vysokotukovou dietou (VTD);
3. hodnocení efektu kombinovaného podávání n-3 polynenasycených mastných kyselin a rosiglitazonu na zlepšení inzulínové senzitivity u modelu inzulínové rezistence navozené VTD.

Téma disertační práce je vysoce aktuální vzhledem k vysoké prevalenci obezity a s ní spojených zdravotních komplikací, zejména metabolického syndromu a diabetu 2. typu.

Úvod

předložené disertace je věnován literárnímu přehledu o současném stavu řešené problematiky. V dostatečném rozsahu jsou popsány mechanismy spojující obezitu a inzulínovou rezistenci v hlavních inzulín senzitivních tkáních. Zvláštní pozornost předkladatel věnuje regulační úloze AMPK v metabolismu. Na této části práce lze vyzdvihnout konzistentní a věcný přístup, který poskytuje i čtenáři, který není specialistou v dané problematice, dostatečný přehled umožňující orientaci v experimentální části práce.

Metodická část

zahrnuje kromě standardního popisu použitých metod velmi jasný popis uspořádání jednotlivých experimentů. Detailní pozornost autor věnoval metodice hyperinsulinemického-euglykemického zámku (clamp), což dokazuje výborné zvládnutí této náročné techniky.

### Výsledková část

Popisuje originální poznatky získané v rámci řešení projektů řešených na pracovišti předkladatele. Tato část je pojata jako komentář přiložených publikací. Získané výsledky jsou přehledně popsány a názorně doloženy v grafech a tabulkách. Z hlavních výsledků lze uvést:

1. Pozitivní účinek n-3 LC-PUFA na citlivost jater k inzulínu je závislý na funkční  $\alpha 2$  podjednotce AMP kinázy, přičemž je asociován se změnami v obsahu diacylglycerolů, ale nikoli triacylglycerolů v jaterní tkáni. Tento poznatek představuje významný přínos v oblasti základního výzkumu mechanismů vzniku a rozvoje inzulínové rezistence.
2. Chemicky modifikované deriváty n-3 LC-PUFA vykazují odlišné působení ve srovnání s přirozeně se vyskytujícími mastnými kyselinami. Autor testoval několik derivátů DHA a ukázal, že  $\alpha$ -ethyl DHA ethyl ester vykazuje stejný rozsah pozitivních účinků jako přirozeně se vyskytující n-3 LC-PUFA, ale s výrazně vyšší účinností. Tento poznatek může přinést významné podklady pro vývoj nových léčebných postupů pro léčbu metabolického syndromu a diabetu typu 2.
3. Z hlediska hledání nových terapeutických možností je velmi významné i zjištění, že kombinované podávání n-3 PUFA a nízkých dávek rosiglitazonu má aditivní účinky jak v prevenci, tak i v terapii dietně indukované hypertrofie tukové tkáně, hyperlipidemie a glukózové intolerance. Využití n-3 LC-PUFA otvírá možnost snížit dávky TZD a omezit tak jejich negativní vedlejší účinky.

Získané výsledky prokazují, že autor dosáhl při řešení sledovaných otázek řady nových poznatků.

### Diskuse

V diskuzi předkladatel podává komentář k získaným výsledkům, který svědčí o dobré znalosti problematiky.

### Připomínky a dotazy:

Všechny publikované články prošly náročným recenzním řízením, které dostatečně prokázalo jejich kvalitu. K práci nemám žádné závažné připomínky, dotazy směřují pouze k upřesnění některých detailů nebo představují návrhy pro další práci.

### *Study I:*

1. Jak se (metodicky?) liší data týkající se syntézy glykogenu prezentovaná v grafu 4.1-3F a 4.1-4A? Podle první uvedeného grafu má  $\alpha 2$ -AMPK KO genotyp významný vliv na citlivost k pozitivním účinkům n-3 Lc-PUFA na syntézu glykogenu, podle druhého zmíněného grafu nikoli.
2.  $\alpha 2$ -AMPK myši vykazují menší infiltraci makrofágů do tukové tkáně vzdor tomu, že  $\alpha 2$  podjednotka AMPK v tukové tkáni není významně exprimována (viz str. 39). Můžete prosím navrhnout možné vysvětlení?
3. Prokázal jste, že u modelu  $\alpha 2$ -AMPK KO myši je významně zhoršená schopnost inzulínu snížit obsah NEMK v séru, což ukazuje na zhoršený antilipolytický účinek inzulínu na tukovou tkáň. Prosím navrhněte vysvětlení.

*Study 2:*

1.  $\alpha$ -ethyl DHA ethyl ester (substance 2) významně snižuje infiltraci makrofágů do tukové tkáně. Je známo něco o efektu této substance na případný rozvoj zánětu jater (steatohepatitidy)?
2. Zvýšená exprese AOX a PPAR $\alpha$  ukazuje na zvýšenou peroxisomální oxidaci mastných kyselin v játrech. Nepozorovali jste vedlejší negativní účinky, srovnatelné např. s účinky fibrátů?

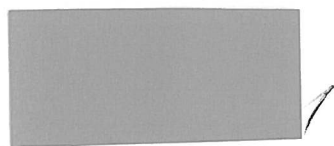
*Study 3:*

1. Byla použita dávka rosiglitazonu ve skupinách CHF+TZD a CHF+F+TZD stejná? Pokud má suplementace n-3 LC-PUFA umožnit nižší dávkování TZD, zkoušeli jste to experimentálně prokázat, tj. dosáhnout srovnatelného účinku běžné terapeutické dávky TZD a nižší dávky TZD v kombinaci s n-3 LC-PUFA?
2. Prokázal jste, že kombinace rosiglitazonu a n-3 LC-PUFA významně snižuje sekreci VLDL z jater. Nebylo toto snížení kompenzováno zvýšením obsahu triacylglycerolů v játrech?

**Závěr:**

**Předložená práce řeší aktuální a významnou problematiku. Studie byly provedeny na pracovišti, kde oblast výzkumu biologie tukové tkáně má tradičně vysokou úroveň, ke které přispívá i dlouholetá zahraniční spolupráce. S tím souvisí i použité metody, které jsou na špičkové úrovni a odpovídají současným trendům v dané oblasti výzkumu. Přiložený soubor publikací dokumentuje, že výsledky studií byly publikovány v mezinárodních impaktovaných časopisech. Pečlivé shrnutí současných poznatků o problematice a věcná interpretace získaných výsledků dokazuje, že autor je seznámena s problematikou v dané oblasti a je schopna rozvíjet vědecké přístupy při řešení zvolené problematiky. Celkově má disertační práce velmi dobrou úroveň.**

**Práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „PhD.“ za jménem.**



Monika Cahová, PhD.  
Centrum experimentální medicíny  
IKEM, Praha

Praha 15. 11. 2010