

## Oponentský posudek doktorské dizertační práce Mgr. Michala Henslera

### Molecular mechanisms affected by n-3 polyunsaturated fatty acids

Předložená dizertace zpracovává důležité a aktuální téma, jelikož se zabývá efekty přirozené potravinové složky na prevenci či dokonce potlačení obezity a s ní spjatých metabolických komplikací. Konkrétně se jedná o účinky n3 polynenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem přítomných v rybím oleji. Ačkoliv je popsána experimentální část práce založená na myším modelu, výsledky práce mohou být v budoucnu uplatněny i v humánní medicíně, což práci posouvá z úrovně čistě základního výzkumu k výzkumu aplikovanému. Práce je založená na 5 původních publikacích s úctyhodným průměrným impakt faktorem 5,9, což svědčí o kvalitě získaných výsledků. Mgr. Michal Hensler je prvním autorem jedné z publikací a u ostatních jasně deklaruje podíl své práce, převážně analýzu genové exprese metodou Real Time RT-PCR. Publikace jsou doplněny společným úvodem, vymezením cílů, diskuzí a závěrem. Práce je předkládána v angličtině a plně vyhovuje formálním požadavkům kladeným na dizertační práci.

Literární úvod seznamuje čtenáře jasným a přehledným způsobem s charakteristikami a metabolismem n3-PUFA, včetně jejich možného mechanismu působení. Pro lepší pochopení biologických funkcí n3-PUFA je vysvětlen základní koncept insulinové resistance v různých tkáních. Vzhledem ke zkoumání účinku n3-PUFA v prevenci obezity je jedna kapitola věnována tukové tkáni a jejím sekrečním vlastnostem. Závěrečné kapitoly úvodu popisují v experimentální části práce využití farmakologické a dietetické přístupy k zmírnění obezitou vyvolaných metabolických komplikací.

Základním cílem práce bylo popsat efekty n3-PUFA na lipidový profil a glukózový metabolismus za podmínek vysokotukovou dietou vyvolané obezity. Konkrétní cíle jsou dále specifikovány v pěti bodech, řešených v jednotlivých publikacích.

Cíle byly splněny na základě výsledků uváděných v původních publikacích a stručně shrnutých v dizertační práci v Kapitole 3. Výsledky publikovaných studií dokládají, že substituce 15% tuků v dietě koncentrátem dvou nejaktivnějších n-3 PUFA, tj. EPA a DHA, účinně potlačuje rozvoj tukové tkáně i v podmínkách nadbytku tuků v potravě. Potlačení akumulace tukové tkáně je dáno inhibicí proliferace i diferenciací prekurzorů adipocytů. Podávání EPA a DHA současně zvyšuje insulinovou sensitivitu, přičemž dvěma z prokázaných mechanismů jsou aktivace AMPK a zvyšování sekrece adiponektinu. Tyto efekty jsou dále zvýrazněny v kombinaci s mírnou kalorickou restrikcí a podáváním thiazolidindionů. Předložené výsledky nejenže rozvíjejí dosavadní úroveň poznání v dané problematice, ale jsou též důležitým základem pro nové strategie vedoucí k prevenci či potlačení obezity u lidí.

K dizertační práci nemám zásadních připomínek, práci by nicméně neškodilo, kdyby prošla pečlivější jazykovou korekturou před tiskem. Přestože je úvod naprosto dostatečný pro dobré pochopení cílů i výsledků práce, ocenila bych v některých případech zahrnutí více detailů, zejména proto, že práce a téma jsou velice zajímavé a generují řadu otázek, které by mohly být zodpovězeny na základě již známých, i když detailnějších skutečností. To samé se týká i Diskuze, která by mohla být rozsáhlejší i s ohledem na předpokládanou aplikaci výsledků v humánní medicíně. Obrázek 2 bohužel postrádá srozumitelnější popis. V seznamu zkratk se objevují dvě zkratky (FFA a NEFA), přičemž obě znamenají volné mastné kyseliny.

K práci mám několik dotazů:

1. Publikace A se zaměřuje na popis dynamiky růstu tukové tkáně v reakci na vysokotukovou dietu suplementovanou koncentrátem n3 PUFA. K tomu je využíván myší model indukovatelné přechodné lipodystrofie. Výsledky ukazují na schopnost n-3 PUFA zásadně snižovat celkovou celularitu nově vznikající tukové tkáně. Vzhledem k tomu, že jak na myších tak na lidských modelech bylo prokázáno, že hyperplazie tukové tkáně je spojena s nižším rizikem metabolických komplikací,

považují výsledky za velmi významné ale částečně do určité míry kontroverzní. Na základě současného poznání bych totiž očekávala, že benefiční účinky n3-PUFA budou spočívat zejména v potlačení hypertrofie, nikoliv hyperplazie tukové tkáně. Mohl by autor komentovat tento jistý rozpor mezi modely/hypotézami? Byla hyperplastická expanze potlačena PUFA i v kombinaci s TZD, které naopak vedou k diferenciaci malých adipocytů?

2. Graf na obrázku 6A (Publikace A) znázorňuje změny hmotnosti u transgenních myší po injekci kontrolního roztoku nebo injekci tamoxifenu, která vede k likvidaci bílé tukové tkáně. Je překvapující, že úbytek váhy byl pozorován i u myší, kterým byla aplikována kontrolní injekce, a původní váhy myši dosáhly až po 10-14 dnech. Jedná se o standardní reakci? Ačkoliv pro účely experimentu popsaného v publikaci byly tkáně analyzovány po 14 a 42 dnech od injekce, je známo, jak vypadá tuková tkáň ve dni 10, kdy je zaznamenáván nejvyšší pokles váhy, a zřejmě tedy dochází k maximální redukci tukové tkáně? Jaké typy buněk převažují (kmenové buňky, makrofágy ...)? Je ve dni 10 mutantní myš více insulinorezistentní, s vyššími hladinami FFA v plazmě? (za předpokladu, že chybí tuková tkáň, která by efektivně ukládala lipidy z diety).
3. Jak se liší standardní Chow dieta od HF diety s kalorickou restrikcí 10% a 30% co se týče celkového množství kalorií? Nejedná se u 30% CR o něco podobného jako o Atkinsonovu dietu?
4. HF dieta byla tvořena z 35% hmotnosti lipidy a co se týče kalorií, lipidy tvořily zhruba 60%. Jestliže 15% lipidů bylo nahrazeno koncentrátem n3 PUFA, pak n3 PUFA tvořily okolo 9% celkového kalorického příjmu. Jaký je běžný příjem n3 PUFA v lidské stravě (v Čechách a naopak v zemích, kde je rozšířen mořský rybolov)? Mají protektivní účinky i nižší dávky PUFA?

Závěr:

Předložená práce řeší aktuální a významnou problematiku. Přinesla řadu originálních výsledků, které mohou být v budoucnu pravděpodobně využity i na poli prevence obezity u lidí. Mgr. Hensler jasně prokázal, že se orientuje v problematice a že zvládl organizaci experimentů na zvířatech a řadu molekulárně biologických a biochemických metod, nutných k úspěšnému zvládnutí cílů práce.

**Práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci. Její úroveň je velmi dobrá, a proto ji doporučuji k obhajobě a navrhuji udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.**

Lenka Rossmeislová, PhD.

V Praze 5.1.2012

Ústav tělovýchovného lékařství

3. LF UK v Praze