

Oponentský posudek doktorské dizertační práce
Mgr. Jany Kračmerové

Role of immune and adipose cells in the development of adipose tissue inflammation induced by stress associated with obesity

Rozsah práce

Předložená disertace je psána v angličtině a dokazuje jazykovou vybavenost autorky. Práce je zpracována jako rozšířený komentář již uveřejněných publikací autorky. Diskuze podává velmi jasný přehled dosažených výsledků v kontextu současného stavu problematiky a návaznost na přiložené publikace je zřetelně vyznačena. Celá práce je psána čtivým a věcným slohem, oceňuji zejména výstižnost a stručnost vyjadřování.

Publikace

Součástí předkládané práce je pět publikací uveřejněných v mezinárodních renomovaných časopisech s vysokým IF, jedna publikace byla podána do časopisu Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. Ve třech publikacích je předkladatelka první autorkou, popř. jednou ze dvou hlavních autorek. Uvedené publikace jednoznačně korespondují s deklarovanými cíli dizertace.

Cíle

Cílem předkládané práce je studium mechanismů podmiňujících vztah mezi nefyziologickými hladinami základních živin a metabolitů a parametry zánětlivé aktivace imunitního systému. Předkládaná dizertační práce je členěna do dvou tematických celků; první se věnuje vlivu akutního zvýšení glykemie/triglyceridemie na aktivační status buněk imunitního systému, druhá se týká vztahu mezi váhovým úbytkem a změnami v sekreční aktivitě adipocytů a stavem populace buněk imunitního systému v tukové tkáni. Téma dizertační 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. Zcela dostatečně pokrývá stav literatury vážící se k problematice řešené v předkládané dizertační práci, tj. sekreční a imunologickou funkci tukové tkáně, vztah obezity a inzulínové rezistence a stres endoplazmatického retikula. Na této části práce lze vyzdvihnout konzistentní a věcný přístup, který poskytuje teoretický základ vztahující se k řešené problematice.

Metodická část

V předložené disertaci chybí seznam použitých metod. Vzhledem k tomu, že použité metodiky byly popsány v přiložených publikacích, nepovažuji tuto skutečnost za podstatnou.

Výsledková část

Získané výsledky jsou uvedeny formou komentářů k publikacím. Z hlavních výsledků lze uvést:

1. Jednorázový příjem vysokokalorické potravy s vysokým obsahem tuku vede ke zvýšení markerů zánětu v cirkulujících polymorfonukleárních buňkách (PBMC) a

připomíná stav provázející obezitu. Není asociován s indukcí stresu ER v těchto buňkách.

2. Akutní zvýšení glykemie vede k nárůstu obsahu CD206 negativních monocytů a T lymfocytů v subkutánní tukové tkáni a ke zvýšené expresi specifických mRNA některých markerů zánětu, což poukazuje na možný klinický význam hyperglykemických epizod u obézních jedinců.
3. Akutní hypertriglyceridemie vyvolaná infúzí Intralipidu byla asociována s prozánětlivými a proaterogenními změnami v krevních buňkách a v subkutánní tukové tkáni.
4. Expresie specifických mRNA významných cytokinů v subkutánní abdominální a gluteální tkáni se neliší jak v bazálním stavu, tak ani po hypokalorické dietní intervenci.
5. Solubilní forma CD163 (sCD163) je vhodným biomarkerem inzulínové senzitivity ve stabilním metabolickém stavu, ale neodráží změny inzulínové senzitivity vyvolané hypokalorickou dietou.
6. Váhový úbytek vyvolaný hypokalorickou dietou vyvolává změny ve spektru cytokinů sekretovaných preadipocyty *in vitro* ve smyslu redukce sekrece prozánětlivých mediátorů a stimulace sekrece HMW adiponektinu.

Získané výsledky prokazují, že autorka dosáhla při řešení sledovaných otázek řady nových poznatků.

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.

1. ER stres je stav, kdy požadavky buňky na „processing“ proteinů určených k sekreci převyšují kapacitu endoplazmatického retikula a byl popsán u buněk s vysokou sekreční aktivitou, např. beta buněk pankreatu (sekrece inzulínu) nebo v hepatocytech (apoB pro sekreci VLDL). Jaký je teoretický předpoklad vzniku stresu ER v PMBC?
2. Metodický přístup k hodnocení stresu ER a unfolded protein response (UPR): Některé větve UPR jsou aktivovány velmi rychle po vzniku stresu ER a probíhají spíše na úrovni post-translační modifikace proteinů (zejména fosforylace) než na úrovni regulace transkripce. Uvažovali jste o hodnocení těchto parametrů?
3. Ve studii zabývající se vlivem akutní hypertriglyceridemie byla použita infúze Intralipidu, který má relativně vysoký obsah nasycených mastných kyselin. V určitých aplikacích, např. totální parenterální výživa, byl prokázán jeho negativní vliv a od jeho používání se upouští. Vzali autoři v úvahu nejenom vliv hypertriglyceridemie *per se*, ale také vliv složení lipidové směsi? Domníváte se, že lipidová emulze s příznivějším složením (SMOF lipid, Omegaven) by měla obdobný efekt? Byl nějak zohledněn efekt způsobu aplikace (parenterální podání), který může přispět ke stimulaci imunitního systému sám o sobě?

4. Výsledky týkající se „reprogramování“ sekrečního profilu adipocytů *in vitro* v důsledku redukce váhy jsou velmi zajímavé, nebyly však prokázány odpovídající změny (obsah prozánětlivého cytokinu IL-6, obsah adiponektinu) *in vivo*. Můžete toto pozorování komentovat?

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 autorka je seznámena s problematikou v dané oblasti a je schopna rozvíjet vědecké přístupy při řešení zvolené problematiky. Celkově má kandidátská disertační práce velmi dobrou úroveň.

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



Monika Cahová, PhD.
Centrum experimentální medicíny
IKEM, Praha

Praha 29. 5. 2015