

Oponentský posudek disertační práce

Amelioration of obesity associated disorders by n-3 PUFA and oleuropein: adipocentric view

Zlepšení metabolických komplikací spojených s obezitou podáváním n-3 mastných kyselin a oleuropeinu: význam tukové tkáně

Autor: Mgr. Michaela Svobodová

Školitel: RNDr Pavel Flachs, PhD.

Doktorské studijní programy v biomedicíně

Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

Práce se zabývá vysoce aktuálním tématem ovlivnění obezity složkami výživy – polyenovými mastnými kyselinami řady n-3 a polyfenolem oleuropeinem, extrahovaným z olivovníku, případně v kombinaci s léky ze skupiny thiazolidindionů ve vztahu k metabolismu tukové tkáně. Práce je prezentována v angličtině.

Hlavní cíle předložené práce jsou:

1. Stanovení účinku kombinovaného podávání thiazolidindionů- pioglitazonu nebo rosiglitazonu s polyenovými mastnými kyselinami řady n-3 u myši s obezitou a inzulinovou rezistencí navozenou dietou s vysokým obsahem tuku
2. Popis základních mechanismů účinku kombinace diety s kalorickou restrikcí a polyenových mastných kyselin řady n-3, které se mohou uplatnit v prevenci a léčbě obezity a souvisejících metabolických onemocnění u myši s dietou navozenou obezitou
3. Charakterizace molekulárních mechanismů působení oleuropeinu, polyfenolu získaného z olivových listů na modelech *in vitro*

Téma práce se jeví vysoce aktuální pro prevenci i léčbu obezity a nemocí souvisejících s obezitou, zejména metabolického syndromu.

Rozsah práce:

Práce obsahuje celkem 101 stran textu. Výsledky studií jsou uvedeny ve třech publikacích s IF. Seznam literatury obsahuje 158 citací.

Práce obsahuje souhrn, seznam vlastních publikací, seznam zkratk a úvodní přehled současného stavu problematiky, který je zpracován podrobně a přehledně. Definovány jsou cíle práce, materiál a metody, přehledně jsou prezentovány výsledky jednotlivých prací. Další části jsou diskuze, závěry a přehled použité literatury.

Na konci jsou přiloženy 3 publikované články.

Úvodní přehled problematiky stručně popisuje definici metabolického syndromu a jeho vztah k bílé tukové tkáni a obezitě. Popsány jsou funkce bílé tukové tkáně, zvláště ve vztahu k produkci jednotlivých adipokinů. Zvláštní pozornost je věnována lipidovému metabolismu v adipocytu se zaměřením na substrátové cykly a jejich regulaci, na peroxisomální

proliferátory aktivované receptory (PPAR), AMP aktivovanou kinázu. Popsána je diferenciace adipocytů. Podrobně jsou rozebrány možné mechanismy účinku polyenových mastných kyselin řady n-3 ve vztahu k inzulinové rezistenci a obezitě, jejich zdroje v potravě a možnosti endogenní syntézy n-3 PUFA s dlouhým řetězcem (n-3 LC PUFA) z 18:2n-6 a 18:3 n-3. Popsán je mechanismus účinku thiazolidindionů a polyfenolů, rozebrán je efekt omezení obsahu energie v dietě.

Cíle práce jsou jasně definovány:

Objasnit vliv kombinovaného podávání thiazolidindionů- pioglitazonu, látky používané v léčbě DM 2. typu, a polyenových mastných kyselin řady n-3 u myši na obezitu a inzulinovou rezistenci

Ověřit hypotézu, že kombinace energetické restrikce a polyenových mastných kyselin řady n-3 mají aditivní efekt v prevenci obezity a souvisejících metabolických onemocnění u myši s dietou navozenou obezitou

Charakterizovat molekulární mechanismy působení oleuropeinu, polyfenolu získaného v olivových list na modelech *in vitro*

Metodické postupy odpovídají současnému stavu znalostí a jsou podrobně popsány v kapitole Materiál a metody.

Výsledková část je tvořena třemi podkapitolami, které podrobně popisují výsledky jednotlivých prací, na jejich závěr je vždy zmíněna účast autorky na dané publikaci.

Hlavní výsledky:

1. Rosiglitazon a pioglitazon mají odlišný účinek, v kombinaci s rybím olejem jenom rosiglitazon bránil vzniku obezity, zatímco pioglitazon eliminoval jaterní steatózu. N-3 PUFA se jeví jako vhodný doplněk antidiabetické léčby.
2. PUFA n-3 zvyšují účinek mírné nízkenergetické diety a současně zlepšují metabolismus lipidů a glukózovou homeostázu. Tyto účinky pravděpodobně odrážejí synergistickou indukci mitochondriální oxidace mastných kyselin v bílé tukové tkáni spojenou se supresi zánětu o nízké intenzitě v bílém tuku.
3. Oleuropein suprimuje proliferaci preadipocytů a diferenciaci adipocytů *in vitro*. Tento efekt je pravděpodobně zprostředkován přímou inhibicí transkripční aktivity PPAR gama.

Diskuze podává zevrubný komentář k získaným výsledkům ve srovnání s výsledky dalších publikovaných prací.

Jednotlivé části jsou doprovázeny kvalitně zpracovanými obrázky a grafy.

Dotazy:

Práce prošly recenzním řízením v oponovaných časopisech, proto mám jen několik obecnějších dotazů:

1. V práci 1 autorka zjistila, že kombinace n-3 PUFA s thiazolidinovými deriváty, konkrétně s pioglitazonem, používaným v léčbě diabetiků DM typu 2, zlepšuje jaterní steatózu a rovněž inzulinovou rezistenci u myši na vysokotukové dietě. Je známo, zda by obdobný efekt měla tato kombinace u obézních diabetiků?
2. Aditivní efekt mírné energetické restrikce a n-3 PUFA se jeví velmi nadějným postupem při prevenci i léčbě obezity, spojené často s poruchou glukózové tolerance. Byly obdobné výsledky potvrzeny ve studiích u lidí?

3. Polyfenoly jsou známy svým příznivým účinkem na zdravotní stav. Nemůže mít zjištěná inhibice transkripce PPAR gama s následnou supresí proliferace preadipocytů a diferenciací adipocytů navozená oleuropeinem negativní vliv na možnost ukládání tuku?

Závěr:

Předložená dizertační práce představuje originální přínos k poznání efektu různých kombinací diety, specifických složek potravy jako jsou polyenové mastné kyseliny řady n-3 nebo oleuropein a léků ze skupiny thiazolidindionů (glitazonů) na metabolismus u myši s dietně navozenou obezitou. Ukazuje pozitivní účinek kombinace běžně používaných léků v léčbě obézních diabetiků s n-3 PUFA na metabolismus sacharidů, snížení inzulínové rezistence a snížení jaterní steatózy. Kombinace běžně používané metody léčby u obézních pacientů pomocí mírné nízkoenergetické diety s polyenovými mastnými kyselinami řady n-3 vykázala aditivní účinek obou metod, zprostředkovaný synergistickou indukcí mitochondriální oxidace mastných kyselin v bílé tukové tkáni. Polyfenol oleuropein získaný z olivových listů suprimuje proliferaci preadipocytů a diferenciaci adipocytů *in vitro* zřejmě přímou inhibicí transkripční aktivity PPAR gama.

Práce splňuje cíle, které si stanovila. Studie byly provedeny moderními metodikami, které odpovídají současné úrovni v dané oblasti výzkumu a byly publikovány v renomovaných časopisech s IF. Po formální stránce je práce pečlivě zpracována. Závěry práce a diskuse získaných výsledků svědčí o tom, že autorka zvládla metody vědecké práce a interpretace experimentálních dat. Předložená práce prokazuje předpoklady Mgr. Michaely Svobodové k samostatné tvořivé vědecké práci.

Práce zcela splňuje požadavky kladené na dizertační práci, a proto doporučuji práci k obhajobě. Po úspěšné obhajobě doporučuji udělení titulu Ph.D. v oboru Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

Doc. MUDr. Marie Kunešová, Csc.
Centrum pro diagnostiku a léčbu obezity
Endokrinologický ústav v Praze

Praha, 21.5.2015