

Oponentský posudek doktorské dizertační práce Mgr. Petra Zouhara

Importance of adipose tissue metabolism for whole-body energy balance

Předložená dizertace zpracovává velice komplexní téma regulace metabolismu tukové tkáně, tedy orgánu, který má zásadní úlohu v udržování celotělové energetické homeostáze. Jelikož je ovlivněním metabolismu tukové tkáně možné zásadně ovlivnit i glukózovou homeostázu (jejíž narušení vede k rozvoji závažných metabolických onemocnění), jedná se o práci důležitou nejen s ohledem na základní výzkum, ale i na možná dietetická opatření pro budoucí léčbu metabolických onemocnění asociovaných s obesitou.

Práce je založená na 2 původních publikacích a jednom manuskriptu připraveného k publikaci, přičemž Mgr. Petr Zouhar je prvním autorem dvou prací. Již publikované práce jsou uveřejněny ve velmi kvalitních časopisech s vysokým IF. Práce je předkládána v angličtině a dle mého názoru plně vyhovuje formálním požadavkům kladeným na dizertační práci.

Rozsáhlý literární úvod seznamuje čtenáře přehledným způsobem se zásadními metabolickými procesy v tukové tkáni, ale i s dalšími aspekty biologie tukové tkáně. Vzhledem ke zkoumání účinku dietních opatření na termogenezi, jedna z kapitol je věnována termogennímu potenciálu tukové tkáně. Další část úvodu je věnována rozboru dosud známých regulačních mechanismů těchto metabolických a termogenních procesů. Závěrečná kapitola úvodu shrnuje znalosti efektů dietních opatření na tukovou tkáň, konkrétně obohacení diety o žlučové kyseliny a n3-PUFA nebo použití kalorické restriktce. Úvod se četl dobře a osvěžil a rozšířil mé dosavadní znalosti.

V pečlivě zpracované metodické části autor popisuje metody, které sám zvládl a používal, ale zmíněny jsou i metody ostatních členů týmu. Autor tak velmi pěkným způsobem ocenil i práci svých kolegů, která byla nezbytná pro komplexní analýzu řešených metabolických jevů, a zároveň prokázal, že je obeznámen se všemi přístupy. Autor jasně deklaruje podíl své práce zahrnující převážně metabolické analýzy na zvířatech, ale i izolovaných buňkách, a analýzu genové exprese (na různých úrovních). Množství a komplexnost metod zvládnutých autorem považuji za nadprůměrné.

Základním cílem práce bylo analyzovat vliv dietních opatření na metabolické procesy v tukové tkáni i na celkovou energetickou bilanci organismu. Využit byl model inbredních myších kmenů s různou mírou rezistence k obezitě. Konkrétní cíle jsou dále specifikovány v pěti bodech, řešených v jednotlivých publikacích.

Cíle byly splněny na základě výsledků uváděných v původních publikacích a jednom manuskriptu a stručně shrnutých v dizertační práci v Kapitole 4. Výsledky publikovaných studií dokládají, že obohacení diety o žlučovou kyselinu CDCA může po počáteční ztrátě hmotnosti (danou habituací na dietu) napomoci udržení nižší hmotnosti i za podmínek, kdy jsou experimentální zvířata dále vystavena vysokotukové dietě. Tento efekt CDCA je částečně podložen zvýšením exprese UCP1 jak v hnědé tak bílé tukové tkáni. Dále bylo prokázáno, že částečná substituce tuků v dietě koncentrátem dvou neaktivnějších n-3 PUFA, tj. EPA a DHA, v kombinaci s mírnou kalorickou restriktcí efektivně eliminuje řadu negativních metabolických efektů způsobených vysokotukovou dietou. Tento účinek kombinace kalorické restriktce s PUFA suplementací byl z části pravděpodobně podmíněn vyšší produkcí tzv. resolvinů, které snižují zánět, a z části i indukci jalového cyklu mastných kyselin, tedy opětovné reesterifikace v podmínkách aktivované lipolýzy. I porovnání reakce dvou myších kmenů lišících se mírou rezistence k obezitě na chladovou zátěž prokázalo, že rezistence k obezitě může být částečně založena na zvýšení anabolického procesu reesterifikace mastných kyselin v tuku za podmínek aktivní lipolýzy.

Předložené výsledky, které byly v další kapitole adekvátně diskutovány, nejenže rozvíjejí dosavadní úroveň poznání v dané problematice, ale jsou též důležitým základem pro nové strategie vedoucí k prevenci či potlačení obezity.

K disertační práci nemám zásadních připomínek. Práci by sice neškodila korekce anglické gramatiky i některých slovních obrátů, nicméně fakt, že práce byla vypracována v anglickém jazyce, považuji za velmi pozitivní, jelikož

sepsání práce v angličtině ukazuje na dobré předpoklady pro následnou publikační aktivitu v mezinárodních časopisech. Úvod je pro lepší pochopení biochemických pochodů doplněný přehlednými schématy, u nichž ale není uvedený výchozí zdroj, což je u tak rozsáhlých schémat poněkud překvapující. V kapitole metod upozorňují na pravděpodobnou chybu v uvedeném zastoupení lipidů ve STD a HF dietě (u obou je uváděno 35 %).

K práci mám několik dotazů:

1. Publikace A se zaměřuje na efekty CDCA na tukovou tkáň. Přechod na dietu obsahující CDCA vedl u myši k výraznému omezení příjmu potravy, tedy k výrazné kalorické restrikci. Výsledkem byla normalizace řady metabolických parametrů, ale i indukce UCP1 exprese v bílé i hnědé tukové tkáni (i když s potenciálně omezeným fyziologickým významem). Je známo, že hladovění zvyšuje expresi FGF21, jehož působením též dochází k „hnědnutí“ tukové tkáně. Zajímalo by mě, zda je možné předpokládat, že FGF21 hraje roli i v popisovaném experimentálním uspořádání (CDCA obohacená dieta, resp. omezením dávek potravy), resp. zda by CDCA-závislé efekty na UCP1 expresi mohly být spojeny se sekrecí FGF21 nad úroveň vyvolanou prostou kalorickou restrikcí.
2. Chladová adaptace myši (Publikace C) vede k výraznému zvýšení spotřeby energie, které je kompenzováno zvýšením příjmu potravy. V přirozených podmínkách je ale chladová adaptace nutná v období se sníženou dostupností potravy. Je známo, jak reaguje kmen A-J vs. B6 na chladovou adaptaci v podmínkách stabilního energetického příjmu? Nelze předpokládat, že za těchto okolností je spotřeba energie při reesterifikaci mastných kyselin za podmínek vysoké lipolytické aktivity spíše evoluční nevýhodou? Nebo jsou AJ myši schopny za takových podmínek snížit míru reesterifikace mastných kyselin?
3. Žlučové kyseliny jsou schopné aktivovat receptor TGR5 i na povrchu imunitních buněk. Nemá autor k dispozici i data naznačující změnu ve fenotypu/aktivitě imunitních buněk v tukové tkáni po podání CDCA obohacené diety, což by mohlo přispět ke zlepšení metabolických parametrů (na úrovni tukové tkáně i celého organismu)?
4. Autor zmiňuje, že u myši je hnědý tuk aktivován i HF dietou obsahující proporčně méně proteinů, (mající tzv. protein diluting efekt). Je možné, že je tato dietou indukovaná termogeneza funkční i u lidí, kteří vykazují vysokou míru metabolické flexibility a na vysokotukové dietě jsou schopni preferenčně využívat jako energetický zdroj mastné kyseliny?
5. Z Fig. 4-9 (Publikace B) je patrné, že nejvyšší koncentrace EPA a DHA v eWAT jsou dosaženy při kombinaci PUFA suplementace a kalorické restrikce. Naproti tomu v játrech je koncentrace EPA a DHA shodná jak při podávání HF+F tak v kombinaci s kalorickou restrikcí. Výsledek v játrech mi přijde pochopitelný, ale jak si vykládáte zvýšení množství EPA+DHA v tuku v reakci na kalorickou restrikci?

Závěr:

Předložená práce řeší aktuální a významnou problematiku. Přinesla řadu originálních výsledků, které mohou být v budoucnu pravděpodobně využity i na poli léčby metabolických onemocnění spojených s obezitou u lidí. Mgr. Zouhar jasně prokázal, že se orientuje v problematice a že zvládl náročné metabolické experimenty na zvířatech i buňkách, které byly nutné ke splnění cílů práce.

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

Lenka Rossmeislová, PhD.

V Praze 11.5.2015

Ústav tělovýchovného lékařství

3. LF UK v Praze