

## **Oponentský posudek disertační práce**

**Vliv redukční diety a farmakologických intervencí na metabolismus tukové tkáně u pacientů s diabetes mellitus 2. typu s obezitou**

**Autor: MUDr. Monika Gregová**

**Školitel: Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.**

**Studijní obor: Biomedicína**

**Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka**

Práce se zabývá vysoce aktuálním tématem ovlivnění endokrinní a metabolické funkce tukové tkáně a mitochondriální dysfunkce v tukové tkáni u obézních osob a diabetiků 2. typu pomocí nefarmakologických intervencí. Hlavní cíle předložené práce jsou:

1. Zhodnotit změny v endokrinní aktivitě tukové tkáně po bariatrickém výkonu se zaměřením na změny v omentinu. Tyto změny byly hodnoceny i po konzervativní léčbě režimem s dietou a s fyzickou aktivitou.
2. Zhodnotit úlohu mitochondriální dysfunkce v tukové tkáni a jejích změn po nízkokalorické dietě.

Téma práce se jeví vysoce aktuální pro léčbu obezity a DM 2. Typu.

### **Rozsah práce:**

Práce obsahuje celkem 103 stran včetně citací. Výsledky studií jsou uvedeny v celkem dvou publikacích s IF uvedených v plném znění, kde je autorka první autorkou. Dále je přiložen seznam prací, kde je autorka spoluautorkou. Seznam literatury má 352 citací.

Práce obsahuje abstrakt v češtině a angličtině. Úvodní přehled současného stavu problematiky je rozsáhlý, je zpracován velmi podrobně a přehledně. Definovány jsou hypotézy a cíle práce, které jsou rozděleny na 2 části. Přehledně je popsána metodika provedených vyšetření antropometrických, biochemických a hormonálních, biopsie tukové tkáně, stanovení exprese mRNA a další, popsány jsou metody intervence u jednotlivých skupin pacientů. Výsledky jsou krátce popsány s odkazem na přiložené publikace. Další části jsou diskuze, přehled hlavních výsledků, závěry, seznam zkratk a přehled použité literatury.

Na konci je práce dokumentována přiloženými 2 publikovanými články s IF, v nichž je autorka práce první autorkou. Impakt faktor článků je 1,293 a 1,461. Přiložen je seznam 3 článků s IF (IF 1,78, 3,75 a 2,67) a seznam 18 prací bez IF, kde je autorka spoluautorkou.

### **Úvodní přehled:**

Autorka podrobně popisuje vztah DM2 a faktorů, které ovlivňují jeho vznik. Zabývá se genetickými faktory i vlivem externích faktorů jako jsou složení a frekvence příjmu potravy při vzniku a léčbě DM2. V první části úvodu je popsán mechanismus vzniku inzulínové rezistence v jednotlivých orgánech a tkáních počínaje játry a konče endotelem a dalšími tkáněmi. Dále se autorka věnuje charakteristikám postprandiálního stavu u zdravých osob a u DM2, postprandiálnímu oxidačnímu stresu a účinku inzulínu, inkretinů a dalších hormonů a působků, které postprandiální stav ovlivňují. Zmíněn je vliv makronutrientů na postprandiální glykémii.

Krátce je zmíněn stav znalostí o vlivu frekvence příjmu potravy při léčbě diabetu.

**Hypotézy a cíle práce** jsou jasně definovány:

1. Ověřit zda sérové koncentrace adipokinu omentinu a mRNA exprese omentinu v tukové tkáni bude ovlivněna různými intervencemi vedoucími k poklesu hmotnosti-intervencí do změny životosprávy dietou a fyzickou aktivitu a po bariatrickém výkonu.
2. Zhodnotit zda obezita vede k mitochondriální dysfunkci v oblasti tukové tkáně a zda se v její úpravě uplatní nízkokalorická dieta.

**Metodické postupy** odpovídají současnému stavu znalostí a jsou podrobně popsány v podkapitolách týkajících se antropometrických, biochemických a hormonálních vyšetření, biopsie tukové tkáně, stanovení exprese mRNA pomocí kvantitativní RT PCR, separace periferních monocytů a izolace RNA z monocytů a stanovení aktivity mitochondriálních enzymů. Dále jsou popsány metody léčby nízkokalorickou dietou, fyzickou aktivitou a statistického vyhodnocení výsledků. Chybí aspoň stručný popis použité metody bariatrické chirurgie, který je ale uveden v příloženém publikovaném článku.

**Výsledková část** je tvořena dvěma podkapitolami, které podrobně popisují výsledky obou prací.

Hlavní výsledky:

1. V první práci byly vyšetřeny 3 skupiny pacientek obézní ženy s DM2 (n=11), obézní ženy bez DM (n=37) a zdravé štíhlé kontroly (n=26). Bazální hodnoty omentinu v séru byly ve srovnání s kontrolami u obézních pacientek a diabetiček významně sniženy. Konzervativní léčba (dvoutýdenní VLCD nebo tříměsíční režim s fyzickou aktivitou) hladiny omentinu významně neovlivnila. Pouze bariatrická léčba metodou laparoskopické tubulizace žaludku (sleeve gastrectomy) vedla k vzestupu hladiny omentinu v séru po ročním sledování, po 2 letech zůstala stabilní.
2. Druhá práce se týká mitochondriální dysfunkce u obezity a DM2. typu. Do studie bylo zařazeno 11 obézních osob bez DM 2, 16 obézních pacientů s DM2 a 17 zdravých kontrol. Sledována byla exprese genů pro mitochondriální enzymy metodou PCR ve vzorku podkožní tukové tkáně a v periferních monocytech, aktivita mitochondriálních enzymatických komplexů byla měřena spektrofotometricky v trombocytech u DM2 za bazálních podmínek, aktivity v monocytech a trombocytech byly měřeny též po třítydenní dietě s velmi nízkým obsahem energie (VLCD). Ve srovnání s kontrolami zjistila autorka výrazně sníženou expresi genů mitochondriálních enzymů a aktivitu mitochondriálních enzymatických komplexů (pyruvátdehydrogenáza, cytochrom oxidáza) u pacientů s DM2, u obézních pacientů byla zjištěna výrazně snížená exprese mRNA téměř všech sledovaných enzymů před intervencí. Dále byl sledován efekt VLCD u diabetiků.

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

**Dotazy:**

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

1. Ve studii jedna autorka zjistila, že u konzervativní léčba u obézních osob bez diabetu ani u obézních diabetiků 2. typu nevede ke změnám hladiny omentinu ani k poklesu exprese mRNA omentinu v tukové tkáni a vzestupu hladiny omentinu v séru. Tento

efekt je vyjádřen pouze po bariatrickém výkonu, v případě poklesu exprese mRNA je více vyjádřen po roce. Může autorka spekulovat, zda tyto změny jsou dány vyšším poklesem hmotnosti nebo zda se na změně podíli bariatrický výkon sám o sobě? Jak se uplatňuje se faktor času?

2. Ve studii dva autorka našla sníženou expresi mRNA a sníženou aktivitu enzymů dýchacího řetězce v periferních monocytech a podkožních adipocytech u diabetiků a obézních ve srovnání s kontrolami. U diabetiků typu 2 došlo po krátkodobém redukčním režimu s VLCD k dalšímu snížení exprese mRNA řady genů v tukové tkáni i periferních monocytech. Aktivita mitochondriálních enzymatických komplexů se nezměnila nebo se snížila kromě COX, kde došlo k vzestupu. Jak autorka hodnotí tyto změny ve vztahu k další léčbě těchto pacientů? Je z literatury známo, jaké jsou efekty VLCD případně jiných metod po střednědobé, případně dlouhodobé léčbě obezity?
3. Jak hodnotí autorka možnost praktického využití výsledků obou studií v léčbě obézních osob a diabetiků typu 2?

### **Závěr:**

Předložená dizertační práce představuje původní přínos k poznání účinku různých metod léčby obezity a DM 2. typu sledováním některých faktorů, které na uplatňují při jejich vzniku a vzniku souvisejících komplikací.

V první části práce autorka ukazuje vliv různých metod léčby na hladinu a expresi mRNA omentinu u pacientů s obezitou a DM 2. typu ve srovnání s kontrolami a účinek 3 typů redukčních režimů. Z hlediska ovlivnění hladin omentinu a exprese mRNA omentinu se jako účinná metoda u obézních osob jevila bariatrická chirurgie (laparoskopická tubulizace žaludku, LSG).

V druhé části jsou uvedeny výsledky studie ověřující přítomnost mitochondriální dysfunkce u obezity a diabetu 2. typu a možnost jejího ovlivnění krátkodobou nízkenergetickou dietou. Studie potvrdila přítomnost mitochondriální dysfunkce u obézních osob a diabetiků 2. typu ve srovnání s kontrolami. Krátkodobý redukční režim u DM typu 2 vedl ke zvýšení aktivity COX, zatímco aktivita ostatních sledovaných enzymů se nemění, v případě NQR klesá.

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 MUDr. Moniky Gregové 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 Fyziologie a patofyziologie člověka**

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

Praha, 3.4.2018