

Posudek oponenta disertační práce

Název disertační práce: **Obezita a obezogeny**

Student: Mgr. Jana Dvořáková

Oponent: RNDr. Zbyněk Houdek, Ph.D.

Pracoviště oponenta: Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Ústav biologie

Téma této disertační práce, vliv dichlordifenylchloroethylen (DDE) na funkci lidských adipocytů a tím na patogenezi obezity, jako celosvětově rozšířeného onemocnění, je velmi aktuální. A tak výsledky této práce mohou přispět k současné i budoucí prevenci a léčbě obezity. Hlavním cílem této studie je výzkum působení jedné skupiny obezogenů (perzistentních organických polutantů - POP) na expresi genů lipidového metabolismu a insulinové signální dráhy na modelu buněčné linie diferencovaných lidských mesenchymálních kmenových buněk. DDE náleží mezi metabolity DDT, které se užívalo hojně v minulosti (20. století) jako insekticid a jsou tedy přítomny v našem prostředí i v potravinách. Autorka se podrobně zaměřila na vliv DDE na tyto buňky během jejich diferenciaci v adipocyty.

Disertace má 100 stran textu a klasické členění. V úvodu se autorka podrobně zabývá obezitou od její definice, přes její fenotypy až po její prevenci. V další úvodní podkapitole popisuje histologii, fyziologii, typy tukové tkáně a roli mitochondrie v adipocyty. Úvodní část pokračuje definicí a podrobnou charakteristikou tukové kapénky až po patologické stavy s ní spojené. V další podkapitole autorka rozebírá hypotézu působení obezogenů na obezitu, ukazuje jejich přehled a končí analýzou účinků POP na lidský organismus.

Následuje definování hlavních a dílčích cílů disertace a kapitola „Materiál a metodika“. Ta zahrnuje použité rozdílné metodiky kultivace a diferenciaci lidských mesenchymálních kmenových buněk s a bez DDE a barvení získaných adipocytů. Pokračuje metodami k určení jejich viability, distribuce mitochondrií a měření mitochondriálního membránového potenciálu v nich. Tato kapitola končí kvantitativním stanovením exprese mRNA vybraných genů v získaných adipocytech pomocí RT PCR.

Kapitola „Souhrn výsledků a jejich diskuze“ podrobně ukazuje a rozebírá výsledky této studie a jí podobných. Autorka prokázala, že DDE stimuluje syntézu mastných kyselin. Dále DDE v přítomnosti lipidů podporuje jejich syntézu a zřejmě urychluje diferenciaci adipocytů. V kapitole „Závěry“ jsou shrnuty zjištěné závěry k jednotlivým cílům práce a jejich možné využití v praxi. Uvedený „Seznam použité literatury“ je aktuální a bohatý. K přehlednosti práce přispívají také uvedené seznamy obrázků a tabulek. V poslední kapitole „Seznam příloh“ je uvedeno 7 odborných publikací v mezinárodních i českých časopisech, z nichž 6 je s IF, ze kterých disertace vychází (ve 2 z nich figuruje jako 1. autorka a v ostatních jako spoluautorka).

Úvod práce je kvalitně zpracován a vychází z aktuální literatury. Shrnuje dosavadní znalosti z různých oblastí, které se týkají jak obezity samotné, tak i příčin, které ji způsobují.

Autorka zvládla řadu rozdílných laboratorních pracovních metodik: kultivaci a diferenciaci lidských mesenchymálních buněk, barvicí a imunocytochemické techniky a kvantitativní stanovení exprese mRNA vybraných genů pomocí RT PCR. Tato metodická zdatnost autorky je navíc podpořena zajímavými výsledky, které jsou kvalitně statisticky zpracovány a vyhodnoceny. Ze závěru vyplývá názor, že POP aktivně vstupují do metabolických funkcí lipidů a narušují je a ovlivňují i insulinovou signální dráhu.

Po podrobném prostudování celé práce mám k autorce do diskuze následující připomínky:

1. Na str. 8 v seznamu zkratk by bylo dobré uvést do závorky u všech zkratk původní název v angličtině. Seznam by byl tak jednotný a přehlednější.
2. K neúplnosti grafické stránky práce a to především k úpravě obrázků a fotografií: obr. 2 by bylo lépe dát na předchozí str. 16 než 17, protože je tam na něj odkaz a zbyla tam téměř 1 prázdná strana. Dále mám drobné výhrady k fotografiím, kde na str. 64 na obr. 14 a 15 zcela chybí měřítko, které by tam mělo být, i když tam je uvedené zvětšení objektivu. Navíc lépe by bylo uvádět celkové zvětšení mikroskopu. Na ostatních obrázcích sice měřítko nechybí, ale číslo pod ním není většinou čitelné. Výjimkou jsou pouze obrázky na str. 61, kde je číslo pod měřítkem dobře viditelné.
3. K překladu výsledků jedné studie z angličtiny, kde na str. 79 autorka uvádí, že vědci Pestana et al. [2017] prováděli pokusy na laboratorních myších Wistar, kdy ale existují pouze laboratorní potkani kmene Wistar a ne myši, což je uvedeno i v tomto anglickém originálu odborného článku.

Dotazy k diskuzi:

1. Existují aktuálnější informace o výskytu obezity v ČR než z r. 2008, které autorka uvádí na str. 10? Pokud ano, tak je prosím uveďte.
2. Proč je na str. 36 v tab. 6 uveden termín pěnové buňky (makrofágy)? Prosím vysvětlíte proces, při kterém vznikají pěnové buňky a jaká je jejich funkce?
3. Protože použité metody jsou velmi různorodé a výchozí výsledky z nich jsou velmi komplexní, tak se nabízí otázka, kterou autorka v práci sama zmínila: Proč se obecně při *in vitro* diferenciaci adipocytů nedaří dosáhnout stádia maturovaných adipocytů s 1 tukovou kapénkou, jak je známe z procesu *in vivo*?

Tato obsáhlá doktorská disertační práce zcela splňuje požadavky a pravidla obecně kladená na disertační práci, tak ji doporučuji k obhajobě. Stejně tak autorku Mgr. Janu Dvořákovou doporučuji po její úspěšné obhajobě k udělení titulu „Ph.D“.

V Plzni dne: 24.7. 2019

RNDr. Zbyněk Houdek, Ph.D.

Ústav biologie,
Lékařská fakulta v Plzni

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Plzni
Ústav biologie
323 00 Plzeň, alej Svobody 76

