

Oponentský posudek doktorské dizertační práce
Mgr. Veronika Domanská
1. lékařská fakulta UK Praha

Role antioxidantní obrany v syntéze antidiabetických lipokinů
(Role of antioxidant defense in the synthesis of antidiabetic lipokines)

Předložená dizertační práce se věnuje popisu biologie nově identifikované třídy lipokinů, tzv. větvených esterů mastných kyselin (fatty acid esters of hydroxy fatty acids – FAHFA), zejména pak mechanismům jejich biosyntézy a odbourávání. Jedná se o zcela aktuální téma s potenciálním budoucím využitím při vývoji nových postupů terapie metabolického syndromu.

Dizertační práce vychází z výsledků autorky a kolektivu spolupracovníků publikovaných ve 4 odborných člancích v renomovaných mezinárodních vědeckých časopisech, přičemž autorka figuruje na 2 z těchto prací jako první autor. Konkrétní osobní přínos autorky ke všem těmto publikacím je v seznamu článků zřetelně vymezen a byl pro jednotlivé publikace naprosto zásadní. Mezi další výstupy práce v průběhu doktorského studia lze počítat spoluautorský podíl na 2 přehledných člancích a 4 dalších primárních publikacích mimo rámec předložené dizertační práce, ale v úzkém vztahu k ní. Vesměs se přitom jedná o práce publikované v časopisech spadajících do prvního kvartilu. Publikační výstup autorky je tak s ohledem na rané stadium její vědecké kariéry zcela mimořádný.

Stručný teoretický úvod dizertace adekvátním způsobem pokrývá téma oxidačního stresu, ochranných mechanismů proti němu (zejména role peroxiredoxinu 6 významného pro biosyntézu FAHFA) a samotným FAHFA. Heslovitě jsou nastíněny i pro další text významné aspekty problematiky diabetu 2. typu a chladové adaptace, jejichž podrobnější zhodnocení bylo nad rámec dizertace.

Autorka si následně vytyčuje cíl rozvinout metodologické postupy, které umožní hlubší porozumění syntéze a katabolismu FAHFA. Specifickými cíli je pak testování čtyř konkrétních hypotéz, jemuž se autorka následně věnuje v jednotlivých člancích. K úspěšnému dosažení cílů bylo třeba optimalizovat analytické metody kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS), včetně detekce metabolitů značených stabilními izotopy (^2H a ^{13}C). Metodická část je přehledně členěna na sekci věnovanou charakteristice analyzovaných vzorků, na sekci popisující protokoly extrakce, sekci zabývající se vlastní LC-MS a konečně na stručnou sekci shrnující obecné přístupy ke zpracování získaných dat a statistické analýze. Analyzované vzorky přitom zahrnují široké spektrum materiálu od tkáňových kultur, přes vzorky orgánů a krevní plazmy ze zvířecích experimentů, až po mateřské mléko. Autorka se osobně angažovala ve všech fázích popisovaných experimentů.

Hlavní výsledky všech čtyřech publikací s přímým vztahem k tématu dizertace a vytyčeným cílům jsou v dizertaci přehledně shrnuty a uvedeny do souvislosti s dostupnou literaturou. Popis obrázků a někdy i výsledků je poměrně stručný, což může být místy na úkor srozumitelnosti. Doplňkové informace je však možno načerpat z přiložených publikací.

Práce je psána srozumitelnou angličtinou, případné překlepy, nepřesnosti nebo zmatky v odkazech na obrázky se vyskytují pouze sporadicky. K práci proto nemám formálních připomínek. Dizertace a soubor článků, na kterých je postavena, představují nesporně originální přínos autorky našemu porozumění biologii antidiabetických lipokinů ze třídy FAHFA a otevírají prostor k řadě navazujících studií.

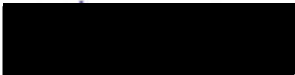
Dotazy

1. Molekulám FAHFA je připisována řada biologických účinků (popsaných mj. v jedné z úvodních kapitol, přičemž jednotlivé látky z této skupiny, popř. regioisomery těchto látek se ve svých účincích liší. Co je známo o receptorech zprostředkovávajících účinky FAHFA a jejich specifitě?
2. Při pokusech osvětlujících funkci ATGL v metabolismu TAG estolidů je jako jedna z reprezentativních FAHFA použita 9-PAHSA (graf 4). Hladiny této FAHFA se však (v protikladu k 13-PAHSA nebo 9-PAHPA) v experimentu na 3T3-L1 buňkách nepodařilo snížit aplikací atglistatinu. Hladiny 5-PAHSA nejsou v tomto experimentu ukázány vůbec. Může mít ATGL nižší afinitu k estolidům obsahujícím právě 5- a 9-PAHSA? Publikace II naznačuje, že se katalitická aktivita ATGL u estolidů zvyšuje s přibližováním větvení k alfa uhlíku karboxylové kyseliny. Lze tento závěr podpořit i výsledky z publikace I? Jak se výsledky s 9-PAHSA na 3T3-L1 buňkách slučují s výsledky in vivo v tukové tkáni AKO myši (graf 4 vs. graf 5)?
3. HSL hydrolyzuje estolidovou vazbu uvnitř struktury FAHFA (zejména v případě omega FAHFA) a snižuje tak množství TAG estolidů. Na druhou stranu lze očekávat, že bude HSL (podobně jako ATGL) hydrolyzovat esterovou vazbu a uvolňovat tak z estolidů mastné kyseliny i FAHFA. Chladová expozice je spojena se sympatickou stimulací tukové tkáně, což vede mj. k aktivaci HSL. Jak se při chladové expozici chovají omega FAHFA?
4. Model aktivního místa peroxiredoxinu 6 nabízí elegantní vysvětlení pro rozdíly v katalytické aktivitě enzymu v závislosti na místě větvení FAHFA. Jaký je vliv množství a pozic dvojných vazeb v řetězci FAHFA?
5. V publikaci I byla myším orálně podávána 5-PAHSA. Je možné ze srovnání podaného množství a plazmatických koncentrací 5-PAHSA odvodit efektivitu vstřebávání této sloučeniny? Je možné předpokládat (s odhlédnutím od pravděpodobných mezidruhových rozdílů), že 5-PAHSA v kolostru ovlivní plazmatické hladiny 5-PAHSA u kojenců?

Závěr:

Předložená práce se věnuje novému tématu s potenciálním významem pro klinickou praxi. Autorka prokazuje potřebnou orientaci v dané problematice a přináší řadu úspěšně publikovaných originálních výsledků, jejichž kvalita byla již nezávisle prověřena recenzním řízením v příslušných mezinárodních časopisech a které už nyní inspirují návazný výzkum, jak dokládá jejich poměrně vysoká citovanost. S využitím širokého spektra experimentálních modelů dokázala autorka díky optimalizaci LC-MS analýzy splnit vytčené cíle.

Předložená práce bez výhrad splňuje požadavky kladené na tento typ prací. Proto práci jednoznačně doporučuji k obhajobě a navrhuji udělení titulu „PhD“ za jménem.


RNDr. Petr Zouhar, PhD
Oddělení biologie tukové tkáně
FGÚ AV ČR, Praha

Praha 5.4.2023