

## Abstrakt

Obezita a diabetes jsou metabolické komplikace spojené s vyšší akumulací tuku v periférii a kostech, mající za následek zvýšené riziko fraktury. Při léčbě obezity a diabetu bylo zavedeno několik přístupů - nefarmakologických (např. dietní intervence nebo fyzická aktivita) a farmakologických (např. metformin, tiazolidindiony (TZD)) ke snížení metabolických komplikací.

Dietní intervence včetně suplementace omega-3 polynenasycenými mastnými kyselinami (PUFA) ve studiích na zvířatech a v klinických studiích prokázala mnohonásobné příznivé účinky na kostní parametry a vlastnosti kmenových buněk kostní dřeně (BMSC). To však nebylo dobře prozkoumáno v obezogených podmínkách. Dále jsou TZD (např. pioglitazon, rosiglitazon) velmi účinnými sensibilizátory inzulínu, ale s několika vedlejšími účinky (zvýšená adipozita kostní dřeně (BMA) s vyšším rizikem fraktur) v důsledku jejich mechanismu účinku. MSDC-0602K, nový analog TZD, byl vyvinut pro minimalizaci vedlejších účinků na metabolismus tuků. Jeho vliv na kostní fenotyp a fenotyp BMSC ve vztahu k obezitě však nebyl intenzivně studován.

V disertační práci jsem zkoumala oba přístupy pomocí myšího modelu dietou indukované obezity (HFD). Samci myši ve věku 8 týdnů byli krmeni HFD nebo HFD doplněným omega-3 PUFA, MSDC-0602K nebo pioglitazonem po dobu 2 měsíců, za účelem prozkoumání účinků na metabolické a kostní parametry a vlastnosti kmenových buněk pomocí několika metod včetně  $\mu$ CT (micro computer tomography) histologie, analýzy osteoklastů diferencovaných z buněk kostní dřeně (BM) izolovaných z léčených myši (ve studii s použitím omega-3 PUFA), kultivace primárních BMSC a jejich buněčná a metabolická charakterizace.

V dietní intervenční studii ukázalo použití omega-3 PUFA významné změny v mikrostruktuře kosti a mechanických vlastnostech charakterizovaných nízkou kortikální porozitou a BMA v tibií a zvýšenou pevností femuru ve srovnání s HFD. Tyto změny se projevíly i na buněčné úrovni, sníženou osteoklastogenezí BM buněk, zvýšenou diferenciací BMSC na osteoblasty spolu se sníženou buněčnou respirací a nižším senescentním fenotypem s omega-3 PUFA. Dále ukázal farmakologický přístup porovnávající klasický TZD pioglitazon s MSDC-0602K méně škodlivý účinek nového analogu na mikrostrukturu kosti ve srovnání s pioglitazonem, což bylo doprovázeno vyšší distribucí menších adipocytů BM. Buněčná analýza odhalila zvýšenou osteoblastovou diferenciací primárních BMSC u myši léčených MSDC-0602K. Nicméně, buněčná respirace a glykolýza byly u MSDC-0602K BMSC ve

srovnání s pioglitazonem zvýšené. Což naznačuje odlišné využití živin těmito léky. Překvapivé výsledky nás vedly k porovnání účinku těchto léků na kostní a periferní metabolismus AT pomocí buněčné linie BMSC a linie kmenových buněk odvozených z tukové tkáně (AT-MSC) 3T3-L1, kde bylo pozorována snížená respirace s MSDC-0602K ve srovnání s pioglitazonem, což také naznačuje odlišný mechanismus účinku v kosti a v periférii. Pro lepší porozumění účinků TZD na buněčný metabolismus v periférii a v kostech, bylo měřeno využití živin v buněčné linii BMSC a AT-MSC. Bylo pozorováno zvýšené využití glutaminu pomocí MSDC-0602K v BMSC ve srovnání s pioglitazonem, zatímco v AT-MSC MSDC-0602K byla preferována glukóza před glutaminem. Byla provedena fluxomická analýza <sup>13</sup>C označené glukózy a glutaminu v BMSC ošetřeném MSDC-0602K a pioglitazonem a byla pozorována zvýšená utilizace glutaminu a snížená utilizace glukózy u MSDC-0602K ve srovnání s pioglitazonem. Výsledky podporují naši hypotézu, že zvýšený metabolismus glutaminu v BMSC ošetřením MSDC-0602K může přispět ke snížení stárnutí, zvýšené osteoblastogenezi BMSC a zlepšení mechanických vlastností kostí.

Celkově vzato, naše zjištění využívající nefarmakologickou léčbu obezity prokázala výrazné příznivé účinky suplementace omega-3 PUFA u myši léčených HFD na kostní mikrostrukturu, mechanické vlastnosti kostí a buněčnou homeostázi. Dále farmakologický přístup ukázal snížený vedlejší účinek léčby MSDC-0603K na vlastnosti kostí a BMSC ve srovnání s pioglitazonem pomocí aktivace metabolismu glutaminu. Práce přináší dvě potenciální strategie prevence negativního vlivu metabolických onemocnění a zároveň otevírá novou perspektivu pro další výzkum synergického efektu těchto molekul v klinické praxi.

**Klíčová slova:** Obezitou indukovaná křehkost kostí; Omega-3 polynenasycené mastné kyseliny, Analog thiazolidindionu MSDC-0602K; Kmenové buňky kostní dřeně; Buněčný metabolismus; Tuková tkáň kostní dřeně; Mikrostruktura kosti