



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ANTROPOLOGIE A GENETIKY ČLOVĚKA

Korespondenční adresa: Viničná 7, CZ-128 43 Praha 2, Czech Republic

Tel.: +420 221 951 618

Fax: +420 221 951 619

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Jany Kračmerové

Název práce: „**ROLE OF IMMUNE AND ADIPOSE CELLS IN THE DEVELOPMENT OF ADIPOSE TISSUE INFLAMMATION INDUCED BY STRESS ASSOCIATED WITH OBESITY**“

Školitel: **Mgr. Lenka Rossmeislová, Ph.D.**

Posudek vypracovala: **RNDr. Pavlína Daňková, Ph.D., PřF UK**

Charakteristika práce:

Disertační práce Mgr. Jany Kračmerové byla realizována na 3. LF UK pod vedením Mgr. Lenky Rossmeislové, Ph.D. Je pojata jako komentované původní publikace (celkem 6) doplněné o teoretický úvod. Je vypracována v anglickém jazyce. Text má celkem 137 stran. Teoretický úvod tvoří 19 stran textu doplněného třemi tabulkami a devíti obrázky. Cíle jsou jasně definované. *Přehled výsledků a diskuze na celkem 12 stranách je vzhledem k největší části práce, kterou tvoří přílohy s vloženými původními pracemi (celkem 78 stran), dostatečná.*

Tematicky autorka rozděluje práci na dva okruhy: V prvním se věnuje studiu vlivu experimentálně zvýšených hladin některých složek potravy na zastoupení a fenotyp imunitních buněk v cirkulaci a tukové tkáni. Tato část práce je podpořena experimentální prací a výsledky zveřejněnými ve třech impaktových publikacích (1 x British Journal of Nutrition, 2013, IF = 3,3; 1 x PLoS One, 2015, IF = 3,5; 1 x Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, v recenzním řízení, IF = 5,6). Druhá část disertační práce se zaměřuje na účinek redukce hmotnosti na sekreční schopnost adipocytů a imunitních buněk v tukové tkáni v návaznosti na zlepšení vnímavosti tkání k inzulinu. Tato část práce je podpořena také třemi publikacemi otištěnými v mezinárodních časopisech s faktorem impaktu (1 x Physiological Research, 2014, IF = 1,5; 1 x Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2014, IF = 6,3; 1 x Diabetes, 2013, IF = 7,9). Mgr. Jana Kračmerová je první autorkou ve dvou ze zmíněných publikací. V textu práce chybí kapitola použitých metod a také popis statistického zpracování dat, což by mohlo usnadnit čtení disertační práce. Obojí je však v dostatečném provedení uvedeno v původních publikacích. Velmi oceňuji snahu o přímé propojení úvodních kapitol s vlastním výzkumem; samotná kapitola Cíle se tak stává logickým vyústěním teoretické části práce.

Komentář k formální stránce:

Celkově je práce zpracována přehledně, orientace v textu je snadná a logická. Z formálního hlediska je práce zpracována vzorně s minimem překlepů či jiných nesrovnalostí: Nenašla jsem v textu vysvětlení dvou, možná ale z nejdůležitějších a nejfrekventovaněji používaných zkratk, AT a FA. V seznamu zkratk však již figurují. *In vitro* apod. je nutno psát vždy kurzívou. Kvalita některých obrázkových reprodukcí je nižší (špatné rozlišení, velmi drobné písmo), např. obr. 7 – 9. Kvalita anglického jazyka je dobrá.

Konkrétní dotazy pro obhajobu:

1. Jaký podíl má aspirantka na publikacích, kde je uvedena jako 2. – předposlední autor?
2. Jak byly vybírány endogenní kontroly pro QPCR (RPS13, 18SRNA, GUSB, PPIA) ?
3. Studie č. 1: Proč se na kvantifikaci exprese TNFa nepoužila TaqMan[®] AOD (Life Technologies) jako u ostatních genů, ale originální oligonukleotidy a SYBR[®] Green chemie?
4. Monocyty pružně reagují na celou škálu impulzů souvisejících se životním stylem jedince (~ dlouhodobý efekt), ale i na okamžité změny. Mezi takové patří např. pohyb, strava (co i jak mnoho), dlouhodobý stres a psychická zátěž (např. péče o nemocného člena rodiny). Míra odpovědi monocytů „nabuzených“ díky dlouhotrvajícím faktorům prostředí nebo naopak jednorázovým výkyvem oproti běžné normě jedince na experimentálně navozenou hyperglykémii/dislipidémii bude jistě odlišná od reakce „klidových“ buněk. Byl zkoumán (např. dotazníkovým šetřením) životní styl probandů vč. aktuálního stavu 2 – 3 posledních dnů před experimentem z pohledu výživy, aktivity, stresu?

Dotazy do diskuze:

1. Práce se mimo jiné zabývá vlivem hyperglykémie na imunitní buňky s ohledem na vznik tzv. postprandiálního zánětu a s ním souvisejících důsledků. Jsou však známy účinky hypoglykémie na mononukleární buňky, zejm. monocyty? Tento závažný stav je sice spojován v první řadě s diabetem, ale může se vyskytnout i u nediatetických osob např. v souvislosti se změnami metabolismu v důsledku infekce, medikací, hormonálních změn či dlouhotrvajícího hladovění.
2. Mezenchymální kmenové buňky jsou prekurzorem nejen adipocytů, ale také osteoblastů; mezi těmito dvěma vývojovými liniemi byla doložena vysoká míra plasticity a schopnost de- a transdiferenciace. Bylo také prokázáno, že snížení kostní denzity v souvislosti s osteoporózou je provázáno nárůstem tukové tkáně v kostní dřeni (práce Nutall ME, Justesen J aj.). Lze z Vašich dat dělat nějaké závěry stran poruch remodelace kosti, potažmo přímo osteoporózy, dalšího onemocnění se vzrůstající prevalencí?
3. Obezita je bezesporu závažným a prohlubujícím se zdravotnickým problémem s dopady v oblasti společensko-sociální a zejména ekonomické. Její nástup se navíc posouvá do stále nižších věkových ročníků. Existují pro to jiná vysvětlení než často (a jistě oprávněně) zmiňovaná hypokineze? Zajímavé mohou být případné evoluční aspekty obezity a možné adaptační mechanismy.

Celkové hodnocení:

Z formálního i obsahového hlediska jde o velmi zajímavou práci zabývající se důležitou problematikou s klinickou využitelností. Výsledky jsou bezesporu podloženy velkým množstvím práce; data byla získána pomocí kvalitních a moderních metodických přístupů. Úvod i komentář k původním pracím dokazují dobrou orientaci autorky v uvedené problematice. Na rozdíl od běžnějších *in vitro* studií, případně *in vivo* studií na modelových organismech, je předkládaná disertační práce založena zejména na *in vivo* experimentech, kde zkoumaným subjektem je člověk. Tento přístup je technicky, organizačně a i z etického hlediska náročný, ale závěry z takto designovaných experimentů jsou velmi hodnotné. Práce je navíc založena na mezinárodní spolupráci, což je rovněž mimořádně cenné. Kvalitu výzkumu a výsledků dokládá mimo jiné i výše IF časopisů (nejnižší má IF = 1,5), dva z článků jsou otištěny v mimořádně kvalitních periodících.

I přes drobné výhrady formálního rázu hodnotím disertační práci Mgr. Jany Kračmerové jako vynikající příklad kvalitní aplikace různých přístupů (observační, intervenční) molekulárně biologického výzkumu v klinické medicíně. Z hlediska publikační aktivity i ostatních náležitostí práce splňuje všechny zákonné podmínky a doporučuji na jejím podkladě udělení titulu Ph.D.

V Praze 18. 6. 2015



RNDr. Pavlína Daňková, Ph.D.