

Posudek dizertační práce RNDr. Jana Šrámka

„Mechanismy indukce a inhibice apoptózy mastnými kyselinami u pankreatických beta-buněk“

Dizertační práce RNDr. Jana Šrámka (dle WOS: H-index 5, 49 citací s vyloučením autocitací) zahrnuje 139 stran včetně použité literatury. Práce je napsána velmi srozumitelně a logicky členěna. V úvodu autor definuje cíle práce, zaměřené na úlohu různých signálních drah, resp. jejich částí (kaspázy 2, p38 MAPK, dráhy stresu endoplazmatického retikula) na indukci apoptózy nasycenými mastnými kyselinami a inhibici této indukce mastnými kyselinami nenasycenými. Poslední z vytyčených cílů se týká modulující role hypoxie.

Následujících 20 stran je věnováno literárnímu přehledu, shrnujícímu (po krátkém seznámení s rolí pankreatických beta-buněk v patogenezi diabetu 2. typu) současný stav poznání v oblasti programované buněčné smrti – apoptózy, nejprve obecně a poté s detailním popisem vlivu mastných kyselin.

Z předchozích prací výzkumné skupiny autorova školitele prof. Kováře, realizované v této oblasti převážně RNDr. V. Němcovou, Ph.D., ale také dalších autorů vyplývá, že nasycené mastné kyseliny s řetězcem delším než 16 uhlíků vykazují výrazný proapoptotický potenciál a naopak, nenasycené mastné kyseliny mají (v určitých koncentracích) antiapoptotický efekt. Přehledně jsou uvedeny jednotlivé relevantní signální dráhy (kaspáza 2, ERK, stresová dráha endoplazmatického retikula a další). Popsána jsou také známá fakta o modulujícím vlivu hypoxie.

Následně autor komentuje 4 práce, již publikované v časopisech s faktorem impaktu 3,226 a 3,550, ve třech z nich je dr. Šrámek prvním autorem, pátá komentovaná práce je připravena k odeslání.

Výsledky, zpracované podle cílů, lze shrnout následovně:

- Působením stearové kyseliny v již ověřené, apoptózu indukující koncentraci 1mM, dochází k aktivaci kaspázy 2 i dráhy p38 MAPK, ale tyto dráhy pravděpodobně nehrají v indukci apoptózy zásadní roli.
- Stearová kyselina 1mM aktivuje dráhy stresu endoplazmatického retikula, kyselina olejová 0,2mM tyto účinky v části drah inhibuje.
- Hypoxie zesiluje proapoptotický účinek stearové kyseliny (pravděpodobně cestou zvýšení signalizace stresu endoplazmatického retikula) a snižuje protektivní efekt olejové kyseliny.

Pro úplnost doplnil autor ještě další nepublikované výsledky a návrhy na další výzkum v oblasti.

Závěry jasně a srozumitelně shrnují dosažené výsledky se spekulací, že iniciace proapoptotické signalizace nasycenými mastnými kyselinami, resp. inhibiční intervence

nenasycených mastných kyselin se nalézají „upstream“ od studovaných drah, pravděpodobně ve fluiditě plazmatické membrány. Současně autor naznačuje možný klinický význam tohoto poznání a jeho přesah do ne-diabetologických oblastí.

Seznam literatury čítá naprosto adekvátních 328 citací. Na konci jsou zařazeny ještě další publikace autora nesouvisející s tématem a publikace vytvořené v rámci doktorského studia.

Z formálního hlediska je práce zpracovaná kvalitně, se zcela ojedinělými překlepy. Za velmi vhodné považuji úvodní začlenění seznamu zkratk.

K práci nemám zásadní připomínky, pouze tři drobné komentáře:

1. Terminologický komentář k názvu laboratorních zvířat - potkan místo použitého krysa
2. Str. 14: ... mutace v genu kódujícím leptin (ob/ob či db/db myši, fa/fa krysy) – jedná se o nepřesné vyjádření (ob/ob mají mutovaný gen pro leptin, db/db však mutovaný receptor pro leptin)
3. Terminologický komentář: opakovaně chybně uvedena nasidioblastóza (správně - nesidioblastóza).

a tři dotazy:

1. Jak byste komentoval protichůdné a poměrně radikálně formulované závěry studie Plötze et al. (The monounsaturated fatty acid oleate is the major physiological toxic free fatty acid for human beta cells. *Nutr Diabetes*. 2017 Dec 21;7(12):305. doi: 10.1038/s41387-017-0005-x.)?
2. Na str. 31 tvrdíte, že „hypoxie bývá v pankreatu často způsobena tzv. syndromem spánkové apnoe“. Máte pro toto tvrzení nějaké konkrétní důkazy? Syndrom spánkové apnoe samozřejmě vede hypoxii všech orgánů, citlivost různých orgánů k hypoxii je však velmi odlišná a pankreatické beta-buňky jistě nepatří k těm nejcitlivějším. K lokální hypoxii (ischemii) může např. stejně dobře vést chronická mezenterická ischemie (stenóza relevantních zásobujících tepen – truncus coeliacus a a. mesenterica sup.) na podkladě, u diabetiků velmi časté, aterosklerózy.
3. Zeptám se jako kliník, denně se věnující péči o diabetiky 2. typu v různé fázi choroby (včetně těch s vyhasínající inzulínovou sekrecí, za niž může, jako jeden z možných mechanismů, být zodpovědná právě Vámi zkoumaná apoptóza beta-buněk). Domníváte se, že je reálné na základě výsledků Vaší práce (již dostupné, ale i té plánované), že by v budoucnu mohla být k dispozici specifická léčba zvyšující viabilitu beta-buněk některým z mechanismů interferujícím s apoptózou?

Celkové hodnocení

Jedná se o velmi kvalitní práci, která přispěla k pochopení vlivu mastných kyselin na viabilitu pankreatických beta-buněk a významným způsobem tak doplnila mozaiku patogeneze diabetu 2. typu. Aktuálnost zvolné problematiky vzhledem k pandemii této metabolické poruchy je zřejmá. Za důležitou považuji též kontinuitu práce v rámci výzkumné skupiny s jasně definovanými plány na pokračování výzkumu v této oblasti.

Dizertační práce prokázala autorovy předpoklady k samostatné vědecké práci a na jejím podkladě doporučuji po úspěšné obhajobě udělení titulu Ph.D.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'L. Brunerová', written in a cursive style.

V Pečkách dne 9.8.2018

MUDr. Ludmila Brunerová, Ph.D.

Diabetologické centrum

II. interní klinika FNKV a 3. LFUK

Šrobárova 50

100 34 Praha 10