UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Ústav biologie a lékařské genetiky
1. LF UK a VFN

Přednosta
prof. MUDr. Ondřej Šeda, Ph.D.

Albertov 4, 128 00 Praha 2
Tel. 224968180
oseda@lf1.cuni.cz

15.8.2018

Oponentský posudek

Dizertační práce

MECHANIZMY INDUKCE A INHIBICE APOPTÓZY MASTNÝMI KYSELINAMI U PANKREATICKÝCH BETA BUNĚK

RNDr. Jan Šrámek

Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta, studijní program Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

Školitel: prof. RNDr. Jan Kovář, DrSc.; konzultant: RNDr. Vlasta Němcová, Ph.D.

Tématem předkládané dizertační práce RNDr. Jana Šrámka jsou vysoce aktuální oblasti výzkumu:

Předložená dizertační práce má rozsah 139 stran a je psána formou komentovaného souboru původních publikovaných prací. Základ práce tvoří 3 originální a jedna přehledová publikace z let 2013-2017 v kvalitních recenzovaných odborných časopisech s IF; jedna práce je přiložena ve formě manuskriptu připraveného k odeslání do recenzního řízení. Ve čtyřech případech se jedná o práce prvoautorské. Mimo tuto základní sadu autor uvádí úctyhodný počet dalších 6 prací, publikovaných ve stejném období, bezprostředně s tématem dizertace nesouvisejících.

Práce je psána čtivou češtinou, má logickou strukturu, velmi pečlivě je zpracována i typograficky (v celé práci jsem zaznamenal jen ojedinělé překlepy, které jsou specifikovány níže). Velmi pozitivně hodnotím také fakt, že i když se jedná o komentovaný soubor publikovaných prací, je samotný komentář plnohodnotným a koncizním textem.

Literární přehled zdařile shrnuje na přibližně dvaceti stranách problematiku tvořící výchozí bod pro cíle a řešení práce, tedy souvislosti mezi diabetem mellitem 2. typu a různými stimuly vedoucími k apoptóze pankreatických β buněk. Zvláštní pozornost je věnována tématům zásadním pro samotnou

experimentální část práce, tedy dosud známým molekulárním mechanismům indukce apoptózy nasycenými mastnými kyselinami a hypoxií u pankreatických β buněk. Citace recentních zdrojů je adekvátní, obzvláště zdařilá je volba a zpracování obrazové dokumentace.

Dr. Šrámek se ve své dizertační práci zaměřil na 5 konkrétních cílů, vycházejících z konkrétních, dobře definovaných hypotéz. Za použití širokého metodologického portfolia se podařilo autorům anotovaných prací na modelovém systému mj. prokázat, že kaspáza 2 i p38 MAPK kináza jsou v tomto systému aktivovány působením kyseliny stearové, nicméně při samotném vyvolání apoptózy nasycenými mastnými kyselinami nehrají zásadní úlohu. Dále bylo zjištěno, že podání mastných kyselin vede k aktivaci všech tří signálních drah stresu endoplazmatického retikula, na jehož regulaci se podílí JNK kináza a potenciálně i kaspáza 2. Prioritní jsou rovněž zjištění o molekulární podstatě styčných ploch hypoxie pankreatických β buněk a mechanizmů indukce apoptóze.

Jednotlivé hypotézy ve světle získaných výsledků jsou pak diskutovány adekvátně v kontextu současného stavu poznání nejen v samotných publikacích, ale i celkově v samotné dizertační práci. Lze shrnout, že předložená dizertační práce přináší nové prioritní výsledky hned v několika oblastech. Představuje tak významný příspěvek k vědeckému poznání v oblasti relevantní pro základní výzkum (molekulární mechanizmy proapoptotického působení mastných kyselin a jejich ovlivnění hypoxií) s nezanedbatelným translačním potenciálem pro experimentální diabetologii.

Komentář

Vzhledem k tomu, že výsledky, které jsou podkladem samotné dizertační práce, prošly rigorózním procesem peer-review v impaktovaných časopisech, mám k práci samotné jen následující doplňující připomínky/dotazy:

1. Na straně 14 uvádíte ve výčtu zvířecích modelů typy monogenně, dietně, farmakologicky, chirurgicky indukované + genově modifikované. Vzhledem k tomu, že nejčastější forma diabetu mellitu 2. typu (DM2T) je onemocněním komplexním s oligo- až polygenní dědičnou složkou, jak relevantní jsou tyto typy modelů? Existují i modely s genetickou architekturou DM2T s podobným základem, se kterým se setkáváme u „běžných“ diabetiků?
2. Vaše práce odhalila řadu souvislostí týkajících se proapoptotického působení nasycených mastných kyselin na modelovou linii lidských β buněk. V literatuře se poměrně často objevuje termín „glukolipotoxicita“ reflektující pravidelný nález chronicky zvýšené glykémie jako jednoho z hlavních atributů DM2T. Dá se předpokládat, že by přítomnost vysokých koncentrací glukózy zásadním způsobem modifikovala vaše zjištění?
3. Jednou z charakteristik zvoleného modelového systému – buněčné linie NES2Y – je nekontrolovaný influx Ca^{2+}. Deregulace kompartmentalizace a toků Ca^{2+} má úzké vazby k apoptóze (např. Nat Rev Mol Cell Biol. 2003 (7):552-65). Je možné komentovat potenciální význam této skutečnosti pro zjištěné výsledky?

4. Některé z vámi studovaných procesů (např. stres ER) i mastné kyseliny s dlouhým řetězcem bývají kromě indukce apoptózy také spojovány s autofágií, je možné na základě vašich výsledků komentovat případný překryv na úrovni signalizačních či metabolických drah?
5. Několik poznámek drobných, formálních či nomenklaturních:
    a. Str. 14 „fa/fa krysy“, str.20 „krysích β buňkách“ atd. Byť anglické „rat“ neumožňuje přímo identifikaci použitého druhu, v citovaných pracích se vesměs jednalo o modelové kmeny laboratorního potkana (*Rattus norvegicus*), nikoli o krysy (*Rattus rattus*).
    b. Drobné překlepy či nekonzistence na str. 6, 32 „lactat“ místo lactate; str.14 „pankreatomie“ místo pankreatotomie/pankreatektomie, str.16 „morfogenese“ a „morfogeneze“ v 1 řádku; str.17 „gramzym“; str.18 „dvaceti-osmi“; str. 15,35 „nasidioblastóza“ místo nesidioblastóza.

Závěr

Na základě výše zmíněných skutečností konstatuji, že předložená práce nejen splňuje, ale výrazně překračuje kritéria kladená na dizertační práce v oboru a proto doporučuji, aby práce byla přijata k obhajobě a RNDr. Janu Šrámkovi byla udělena vědecká hodnost „Ph.D.“.

V Praze dne 15.8.2018

prof. MUDr. Ondřej Šeda, Ph.D.
Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN
Albertov 4, 128 00 Praha 2