

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Mgr. Olga Horáková, PhD.

Datum: 17.5.2024

Autor: Bc. Linda Stokičová

Název práce:

Vliv glukózy na rovnováhu lipidového metabolismu v β -buňkách slinivky břišní

Glucose effect on lipid metabolism homeostasis in pancreatic β -cells

Cíle práce

- 1) Zkoumat vlivu glukózy na expresi genů zapojených do metabolismu lipidů, aktivace mastných kyselin, lipolýzy a lipogeneze odrážející redoxní stav v buňkách INS1E a izolovaných myších pankreatických ostrůvcích.
- 2) Stanovit vliv glukózy a redukovaného redoxního prostředí na ukládání lipidových kapének v β -buňkách pankreatu.
- 3) Prozkoumat vliv glukózy a redukovaného redoxního prostředí na homeostázu neesterifikovaných mastných kyselin.
- 4) Kvantifikovat míru lipolýzy prostřednictvím měření sekretovaného glycerolu v různých koncentracích glukózy a oleátu pro stanovení procesu detoxikace zprostředkovaného uvolňováním glycerolu.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO ~~NE~~

Rozsah práce (počet stran): 80

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO ~~NE~~

Je uveden seznam zkratk? ANO ~~NE~~

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO ~~NE~~

Je napsán srozumitelně? ANO ~~NE~~

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO ~~NE~~

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO ~~NE~~

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO ~~NE~~

Kolik metod bylo použito? 10

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO ~~NE~~

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO ~~NE~~

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO ~~NE~~ - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO ~~NE~~ – co chybí, v čem je nedostačující?

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO NE

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ~~ANO~~ NE (viz připomínky)

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Po formální stránce splňuje práce požadavky. Práce je napsaná v angličtině.

Ale i přesto je v ní celá řada nepřesností:

Text obsahuje drobné pravopisné chyby. Výsledková část obsahuje velice komplikovaně formulované věty, které ztěžují pochopení textu.

Počet, kvalita i obsah obrázků v literárním úvodu je dobrá. Ale grafické stránce práce by mohla být věnována větší pozornost. Obrázky by měly být umístěny v textu tak, aby se legenda vešla na stejnou stranu. To platí i pro obrázky ve výsledkové části.

Autorka nedodržovala vždy používání již uvedených zkratk – např. pro fatty acid je zavedena zkratka FA, ale přesto se v řadě případů vyskytuje v textu nezkrácená forma (a to více než stokrát).

V seznamu chemikálií specifikace některých z nich chybí, nebo je neúplná. Jinak musím vyzdvihnout přehledně zpracované složení roztoků.

V metodách by bylo dobré vždy odkazovat na příslušné již uvedené metody, pokud jsou součástí popisu jiné metody (jmenovitě opakovaně chybí odkaz na kapitolu 4.3.2. v případech, kdy se zmiňuje metoda silencingu bez uvedení detail provedení v jiných metodách).

V metodách jsou pasáže vysvětlující teorii. Metody by měly být popsány stručně a jasně – zdůvodnění, proč se zvolit nějaký přístup patří do jiné části práce.

Výsledky:

Obrázek 7 – rozdílná velikost písma u různých částí grafu (vs. 7A vs 7B). Popis osy y je chybný. Správně by bylo „gene expression (relative to control, %)“.

V obrázcích 7D, 9 B-D je nad grafem uvedeno ns, význam zkratky není vysvětlen v legendě. V legendě je naopak uvedeno, že výsledky bez označení hvězdičkami jsou nesignifikantní.

Obrázek 10G narozdíl od ostatních grafů s expresí genu pro enzym HSL (*Lipe*) označeno Hsl.

U grafů z průtokové cytometrie (obr.12) chybí označení a škála na osách.

U obrázku 17 by bylo pro lepší přehlednost a lepší možnost porovnání dát vedle sebe do jedné řady všechny snímky buněk s koncentrací 3 mM glukózy a pod ně druhou řadu se obrázky buněk s glukózou o koncentrací 25mM.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Předložená práce splňuje všechny náležitosti a autorka naplnila cíl práce, tedy přispět k objasnění vlivu glukózy na metabolismus lipidů a akumulaci lipidových kapének v β -bunčkách pankreatu se zaměřením na redoxní prostředí.

V experimentální části je podrobně popsáno použití linie β -buněk INS1E a izolovaných myších pankreatických ostrůvků ke studiu genové exprese, lipidových kapének, volných mastných kyselin a uvolňování glycerolu za různých glukózových a redoxních podmínek. Autorka si osvojila během řešení své diplomové práce celou řadu metod.

Diskuse interpretuje výsledky a naznačuje, že aktivace lipidového metabolismu glukózou je klíčová pro krátkodobou adaptaci β -buněk, ale může vést k metabolické dysfunkci a T2D v chronických podmínkách s vysokou hladinou glukózy. Vyzdvihuje roli Nox4 v tomto procesu.

Sekce referencí obsahuje vyčerpávající citace podporující metodiky a zjištění diskutované v celé práci.

Přestože se jedná o relativně dobře zpracovanou diplomovou práci, mám k ní několik připomínek:

- 1) Některé závěry práce nejsou zcela v souladu se získanými výsledky.
Např. „Potlačení exprese Nox4 zvýšilo uvolňování glycerolu, jak při vysoké glukóze, tak po přidání oleátu v souladu se zvýšenou akumulací LD po umlčení Nox4, což společně naznačuje zvýšený metabolismus lipidů (ukládání lipidů a lipolýzu). Z obrázku č.21 ovšem vyplývá, že získané výsledky pro měření uvolněného glycerolu nebyly statisticky signifikantní.
- 2) Vyjádření výsledku jako hodnotu relativní ke kontrole je regulérní řešení. Ovšem v této práci byla kontrola, tedy skupina 3mM Glc 2h, definována jako 100% u všech tří replikantů (viz obrázek 7). V práci není řádně vysvětleno, proč tomu tak je.
- 3) Ve výsledkové části jsou popisovány změny signifikantní, stejně jako změny nesignifikantní. Fakt, že některé z popsaných změn nejsou signifikantně významné není v textu zmíněn. A naopak je u některých signifikantních změn je v textu chybně uvedeno, že nejsou statisticky významné. Celkově je autorka v popisu výsledků nekonzistentní.
- 4) GL/NEFA cyklus je v práci uváděn jako „glycerol/non-esterified fatty acid cycle”, to je ale chybně. Jedná se o cyklus tvořený syntézou TAG a lipolýzou, tedy jde o tzv. Glycerolipid/NEFA Cycle.

Otázky a připomínky oponenta:

1. Vysvětlete, proč jsou všechny replikanty v kontrolní skupině rovny 100%.
2. Proč jste použili při cytometrické analýze pro určení živých a mrtvých buněk metodu barvení Hoechst 33258? Jaké má výhody oproti jiným metodám?
3. Jak si vysvětlujete rozdílné výsledky *in vitro* pokusů vlivu zvýšené hladiny glukózy na expresi genů lipidového metabolismu u INS1E buněk a pankreatických ostrůvků izolovaných z myší, především exprese genů *Lipe*, *Acls3* a *Acls4*?

4. Jak chronické vystavení vysokým hladinám glukózy mění profily genové exprese související s metabolismem lipidů v β -buňkách pankreatu?
5. Jakou specifickou roli hrají různé ROS při modulaci metabolismu lipidů a sekrece inzulínu v β -buňkách pankreatu při různých koncentracích glukózy?

Návrh hodnocení oponenta

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: