

## Oponentský posudek doktorské disertační práce

Mgr. Irena Marková

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra biochemie

Hodnocená kandidátská disertační práce se zabývala zejména různými aspekty působení isoform proteinkinázy C epsilon a theta v patogeneze inzulínové rezistence. Cíle práce zahrnovaly studium vztahů buněčné lokalizace a relativního množství proteinů v kosterním svalu hypertriglyceridemického potkana k vybraným parametrům lipidové a glukózové homeostázy.

Sledovány byly vztahy mezi ukazateli inzulínové rezistence a studovanými isoformami proteinkinázy C u dietou indukované obezity a v průběhu stárnutí hereditárně hypertriglyceridemických potkanů.

K dalším cílům patřilo studium úlohy rezistinu v patogenezi inzulínové rezistence a možnosti ovlivnění dietou stimulované inzulínové rezistence podáváním pioglitazonu.

**Zvolené téma** je v současné době velmi aktuální. Inzulínová rezistence hraje významnou roli nejen v patogeneze diabetu mellitu, jeho komplikací a kardiovaskulárních onemocnění, ale zřejmě stojí i v pozadí dalších závažných chorob, jako jsou některá nádorová nebo neuropsychiatrická onemocnění. Proto jsou intenzivně zkoumány možnosti jejího příznivého ovlivnění, přesné mechanismy působení jednotlivých patogenetických faktorů, i farmak, která jsou v současné době u chorobných stavů, spojených s inzulínovou rezistencí, užívána.

**Předložená disertační práce** má celkem 107 stran textu, včetně seznamu použité literatury, zahrnuje také 17 tabulek a 36 obrázků. Zahrnuje literární přehled (36 stran), cíle práce (1 strana), materiál a metody (11 stran), výsledky (24 stran), diskuzi (15 stran), závěry (3 strany) a seznam literatury (20 stran) a souhrn.

**Literární přehled** podává základní informace o hlavních komponentách metabolického syndromu, o patogeneze inzulínové rezistence, a zahrnuje také literární přehled poznatků o proteinkináze C (klasifikace a struktura, tkáňová lokalizace, substráty, zapojení do buněčné signalizace i vztahu proteinkinázy C k inzulínové rezistenci. Podává také informace o nejčastěji používaných experimentálních modelech inzulínové rezistence. Literatura, která byla k přehledu o současném stavu poznání sledované problematiky použita, je bohatá.

**Cíle práce** jsou zaměřeny na několik okruhů: 1. Rozšíření poznatků o patogeneze inzulínové rezistence (zejména získání nových poznatků o uplatnění proteinkinázy C a o možnostech jejího ovlivnění nutriční a farmakologickou intervencí); 2. Studium úlohy rezistinu v patogeneze inzulínové rezistence; 3. Možnosti ovlivnění nutričně stimulované inzulínové rezistence podáváním pioglitazonu.

**Metodické postupy**, použité k řešení studovaných otázek, jsou založeny na bohatých zkušenostech špičkového pracoviště, které se studiem mechanismů inzulínové rezistence dlouhodobě zabývá. Analytické a statistické metody, které byly aplikovány, odpovídají zvoleným cílům. Rovněž počet experimentálních zvířat, použitý v jednotlivých studiích, je dostačující.

**Výsledky** jsou zpracovány velmi podrobně, ale přehledně, a vedle textové části jsou prezentovány i v názorných tabulkách a obrázcích.

**Význam dosažených výsledků:** předložená disertační práce vedla k získání prioritních experimentálních poznatků o úpravě inzulínové rezistence, spojené s aktivací isoform proteinkinázy C (theta i epsilon) v důsledku dlouhodobého podávání pioglitazonu potkanům, krmených vysokosacharidovou dietou, přesto, že obsah triglyceridů ve svalu byl zvýšen, což ukazuje na to, že tyto nové isoformy proteinkinázy C by se mohly účastnit regulace inzulínové citlivosti ve svalu. K dalším zajímavým výsledkům práce patří nález postupného zhoršování inzulínové rezistence v průběhu stárnutí hereditárně hypertriglyceridemických potkanů, které nebylo provázeno současným zvyšováním podílu tukové tkáně, přičemž docházelo k nárůstu relativního množství proteinkinázy C theta nebo zjištění, že chronická transgenická exprese rezistinu v tukové tkáni kmene spontánně hypertenzních potkanů byla spojena s rezistencí tukové tkáně k účinkům inzulínu a s nárůstem relativního množství proteinkinázy C theta v kosterním svalu, což podporuje hypotézu o významu rezistinu v patogenetických mechanismech inzulínové rezistence a naznačuje jeho apokrinní účinky v tukové tkáni.

Výsledky, získané při řešení práce dokumentují splnění cílů disertační práce, a že autorka práce získala při řešení studovaných problémů nové poznatky.

**Diskuze** získaných výsledků je obsáhlá a autorka práce v ní prokázala hlubokou znalost studovaných problémů.

**K práci mám několik připomínek a otázek:**

- 1) Na str. 3 – Tabulka 1 - Definice metabolického syndromu pro evropskou populaci doporučená Mezinárodní diabetologickou společností (IDF). Z tabulky nevyplývá přesně princip klasifikace metabolického syndromu podle této definice, tj. že v prvním řádku uvedená abdominální obezita je základním kritériem, a že metabolický syndrom je diagnostikován tehdy, když vedle abdominální obezity jsou přítomny alespoň 2 z dále uvedených komponent. Abdominální obezita je vyjadřována obvodem pasu, nikoliv objemem
- 2) V posledních letech přibývají nálezy, které ukazují, že k metabolickým poruchám, spojeným s metabolickým syndromem, patří zvýšená akumulace lipidů v játrech. Zvýšený obsah triglyceridů v játrech jste pozorovali i v práci u hypertriglyceridemických potkanů. Uplatňuje se v patogenezi této poruchy některá z isoform PKC ?
- 3) Ve většině studií uvedených v dizertaci autoři používají pro zvýšení inzulínové rezistence podávání diety s vysokým obsahem sacharózy nebo fruktózy po dobu 14 dní. Z jakých důvodů jste zvolili tuto délku podávání?
- 4) Produkce rezistinu a adiponektinu při inzulínové rezistenci je většinou studována u obézních experimentálních modelů. Jaké jsou hladiny těchto adipokinů u neobézního modelu inzulínové rezistence, u hereditární hypertriglyceridemických potkanů v porovnání s normotriglyceridemickými kontrolami?

**Závěr:**

Problematika, která byla v předložené disertační práci řešena, je velmi aktuální a významná. Získaných výsledků bylo dosaženo na pracovišti, kde výzkum mechanismů inzulínové rezistence již dlouhodobě probíhá na nejvyšší úrovni. Tomu odpovídá i kvalita použitých metod, které sledují současné trendy v této výzkumné oblasti. Autorka pečlivě shrnula současné znalosti

předmětu svého výzkumu, v disertační práci podrobně popsala použité metody a dobře interpretovala získané výsledky. Dokázala tak, že je výborně seznámena s danou problematikou, a že je schopna dále rozvíjet vědecké přístupy v dané oblasti. Disertační práce je kvalitní i po formální stránce a je psána hezkým jazykem.

**Posuzovaná dizertační práce splňuje požadavky kladené na disertační práci, a proto doporučuji přijetí práce k obhajobě a kladné vyřízení žádosti o přiznání akademického titulu „philosophiae doctor“ (“Ph.D.”)**

V Praze dne 10.6. 2010

Doc. MUDr. Miroslav Zeman, CSc.  
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN, Univerzita Karlova, Praha