

Oponentský posudek diplomové práce Šárky Doleželové:

Vliv n-3 polynenasycených mastných kyselin v dietě na regulaci sekrece insulinu a glukózové homeostázy u myši.

Předložená diplomová práce Šárky Doleželové je příkladem dlouholeté spolupráce Katedry fyziologie Přírodovědecké fakulty UK a Oddělení biologie tukové tkáně Fyziologického ústavu AV ČR a zabývá se vlivem n-3 polynenasycených mastných kyselin (n-3 PUFA) na lipidový metabolismus a sekreci insulinu u myši na standardní a vysokotukové dietě. Vlastní spis má 79 stran (seznam použité literatury obsahuje 91 položek) a je členěn do obvyklých kapitol.

Literární přehled tvoří 27 stran a obsahuje 6 hlavních kapitol. Úvodní dvě části (kapitoly 6.1. a 6.2) jsou věnovány vysvětlení základních pojmů jako je obezita a metabolická flexibilita, tj. schopnost organismu metabolizovat rozdílné energetické substráty v závislosti na nutričním stavu. Následující kapitola 6.3 pak na 14 stranách podrobně analyzuje syntézu a fyziologický význam insulinu, hlavního hormonu glukózové homeostázy, a mechanismy vzniku insulinové resistance, jakožto jedné z hlavních složek onemocnění souhrnně označovaného jako metabolický syndrom. Komplikovaná problematika insulinové resistance je dobře doplněna o 6 přehledných schémat fyziologické i patofyziologické buněčné signalizace v různých tkáních. Kapitola 6.4 je pak věnována významu inkretinů (na glukóze dependentní insulinotropický polypeptid - GIP, glukagonu podobný peptid 1 - GLP-1) v glukózové homeostáze. Konečně poslední dvě kapitoly (6.5 a 6.6) se zabývají především hypolipidemickým a hypoglykemickým působením n-3 PUFA a jejich vlivu na sekreci inkretinů.

Celkově považuji literární přehled diplomové práce za velmi zdařilý, byť se v něm dají najít drobné formulační nepřesnosti či zjednodušení. Jako příklady uvádím: i) na str. 17 autorka píše, že aktivace sympatického nervového systému vede ke snížení sekrece insulinu, zatímco v následující legendě k obr. 4 se zmiňuje o stimulačním účinku sekrece insulinu v důsledku aktivace sympatiku. ii) Obr. 11 (str. 32) ukazuje schéma sekrece insulinu potencovaného GLP-1. Popis reakce č. 2, tj. „posun Ca^{2+} kanálu k negativnějším hodnotám usnadňuje akční potenciál“ není příliš šťastnou formulací. Zdůrazňuji však, že výše uvedené připomínky nemají podstatný vliv na jinak pozitivní hodnocení literárního přehledu, kterého se autorka úspěšně zhostila.

Použité metodiky jsou popsány adekvátním způsobem a dostatečně podrobně (12 stran). Mám pouze drobnou poznámku ke statistickému zpracování výsledků. Autorka používala testy hodnotící statistickou významnost mezi dvěma experimentálními skupinami (t-test, Mann-Whitney test). Domnívám se, že opublikování výsledků této práce v mezinárodním impaktovaném časopise bude vyžadovat statistické zpracování metodami analyzujícími 3 a více skupin, tj. analýzou variance (ANOVA) popřípadě Kruskal-Wallis testem.

Výsledková část (12 stran) je přehledně zpracována a dokumentována (16 panelů grafů a 1 tabulka). Za zásadní považuji nález významného snížení hladiny insulinu u skupiny myši na vysokotukové dietě obohacené o n-3 PUFA na rozdíl od jedinců, kteří dostávali pouze vysokotukovou dietu. Tyto změny korespondovaly s plazmatickými koncentracemi GLP-1, což napovídá o významném uplatnění inkretinů v glukózové homeostáze. K výsledkům mám několik drobných připomínek. i) V tabulce č.4 došlo u hmotnosti tkání k záměně jednotek (mg za g). ii) U většiny grafů autorka ukazuje pouze signifikantní změny v důsledku podání diety obohacené o n-3 PUFA, nicméně samotný efekt vysokotukové vůči standardní dietě nebyl ve většině grafů vyjádřen. iii) Domnívám se, že v případě grafů ploch Langerhansových ostrůvků a insulin produkujících buněk (obr. 21) nedošlo v důsledku vysokotukové diety ani k mírnému zvětšení ploch, byť to autorka v popisu grafů a diskusi (str. 66) uvádí.

Experimentálně získané poznatky jsou konfrontovány s literárními údaji na 4 stranách diskuse. Je zde podrobně analyzován vliv n-3 PUFA na různé tkáně, glukózový metabolismus a možné uplatnění inkretinů v kontextu s dosaženými výsledky. Autorka diskutuje s dostatečným

nadhledem a na podkladě dostupné literatury, což napovídá o jejím úspěšném zvládnutí vědecké práce.

Dovolil bych si ještě položit několik otázek:

1. V kapitole 6.4 je zmíněno, že působení inkretinů má pouze krátké trvání, tj vteřiny, minuty, hodiny? Na str. 30, obr. 10 uvádíte, že GLP-1 se účastní různých protektivních mechanismů. Můžete tyto mechanismy a jejich aktivaci blíže okomentovat?
2. n-3 PUFA (EPA a DHA) zvyšují expresi mitochondriálních genů a regulačních faktorů jako je PGC-1 α , které aktivují biogenezi mitochondrií a oxidaci mastných kyselin v tukové tkáni (viz str. 34). Jedná se o tkáňově specifický účinek n-3 PUFA nebo lze podobné účinky sledovat i v jiných tkáních jako je kosterní sval nebo myokard? Jak dlouho je třeba krmit laboratorní zvířata, aby se ochranný účinek n-3 PUFA projevil a existuje zde dávková závislost?

Závěr:

Šárka Doleželová ve své diplomové práci prokazuje, že zvládla úskalí experimentální práce, dobře se seznámila s dostupnou odbornou literaturou a je schopna dosažené výsledky prezentovat a kriticky hodnotit. Domnívám se, že předložená práce splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a doporučuji ji k obhajobě.

V Praze dne 23. 5. 2011

RNDr. Jan Neckář, Ph.D.