

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Jméno a příjmení: Bc. Petra Šeflová
Osobní číslo: C10936
Studijní program: N3912 Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Analýza biologických materiálů
Název tématu: Stanovení aktivit desaturáz a elongáz v EDTA plazmě diabetiků
Zadávací katedra: Katedra biologických a biochemických věd

Posudek oponenta

Za cíl své diplomové práce si studentka zvolila stanovit obsah nasycených a nenasycených mastných kyselin ve všech třídách plazmatických lipidů. Jednalo se o fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu. Pro svou práci použila plynovou chromatografii. Vlastním výzkumným cílem práce byl výpočet aktivity desaturáz a elongáz ve všech třídách lipidů a vyhodnocení jejich závislosti na klasických biochemických parametrech. V závěru práce mělo být statistické vyhodnocení výsledků a posouzení jejich případné použitelnosti pro diagnostické účely.

V teoretické části autorka dosti široce podala charakteristiku lipidů. Zdůraznila důležitost frakcí lipidů, zabývala se syntézou i odbouráváním mastných kyselin, problematikou lipoproteinů. Pak následovaly kapitoly o inzulínu – biochemie, účinky. Nastínila biochemickou problematiku desaturáz a elongáz, jejich úlohu za fyziologických podmínek i v metabolismu diabetika. Podala stručný přehled o diabetu, jednotlivých typech, o inzulínové rezistenci, vztah inzulínu i frakcí lipoproteinů k rezistenci.

Další kapitoly byly věnovány chromatografii, principu, rozdělení na jednotlivé metody (kapalinová, plynová), typy separací, popis jednotlivých metod – jejich předností i různých náročností. Pro spolehlivé výsledky je nutno vybrat i přiměřený detektor. Z pracovních technik plynové chromatografie uvedla tyto metody: eluční, frontální, vytěšňovací.

Studentka vyšetřila 19 anonymních vzorků plazmy diabetiků (Tübingen, Německo) a 18 zdravých dobrovolníků (Pardubice). Pomocí plynové chromatografie provedla stanovení lipidů, frakcí, volných mastných kyselin, desaturáz, elongáz a dalších hodnot spektra lipidů. Pak v grafech i číselně v tabulkách uvedla výsledky a jejich statistickou charakteristiku.

V diskusi (3 strany) vyhodnocuje své výsledky s literárními údaji. Diabetes je nejen charakterizován poruchou metabolismu glukózy, ale je spojen i s poruchou lipidového metabolismu. Inzulínová rezistence vede k výraznému uvolnění mastných kyselin. Po kompenzaci diabetu dochází ke snížení hladiny mastných kyselin (až o 20%). Na podkladě svých výsledků pak autorka dotvrďuje hypotézu, že obsah esenciálních mastných kyselin v esterech cholesterolu je nižší o 50% u diabetiků, a to snížením lecitin-cholesterolacyltransferázy. Tento enzym může podláhat glykaci, a tím se snižuje jeho aktivita. Dále autorka prokázala snížení aktivity enolázy a desaturáz u dekompenzovaných diabetiků, což může být ve vztahu ke zvýšenému obsahu nasycených mastných kyselin produkovaných tukovou tkání. Autorka prokázala vysoké hladiny diacylglycerolů v plazmě obou typů diabetiků, což sama spojuje s poruchou inzulínového signálu, aktivací ceramidových drah a touto cestou i s aktivací apoptózy.

V závěru autorka zdůrazňuje svou metodiku, zpracování výsledků pomocí vícerozměrných průzkumových technik a mnohem širší enzymové poruchy způsobené diabetem (nejen elongázy a desaturázy, ale i lecitin-cholesterolacyltransferázu, hormon-senzitivní lipázu či lipoproteinovou lipázu jednotlivých orgánů).

V seznamu použité literatury je 41 citací, z nich je 8 recentních (v posledních 3 letech).

1. Práce splnila stanovené cíle zadání.
2. Přehled literatury je obsáhlý, citovány jsou četné české práce.
3. Obsahová i formální stránka je velmi dobrá. Anglický abstrakt vyhovující.
4. Studentka přistoupila zodpovědně k experimentální práci. Zvolila si obtížnou metodiku, stanovení mnoha parametrů. Hodnotím jak preciznost práce, tak rovněž výstižná grafická zobrazení.
5. Práce je kvalitní, odpovídá kritériím pro diplomovou práci. Jako určitý nedostatek se mi jeví poměrně rychlá tvorba hypotéz a odvozování možných patomechanismů (viz vlastní závěr), a to na podkladě pouze vlastních výsledků (19 diabetiků a 18 zdravých kontrol). V seznamu zkratk nejsou uvedeny všechny zkratky (např. ECH).

Práci hodnotím známkou : dvě (2) *(velmi dobře) Ehler*

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě.

Pardubice, 2012-05-11

doc. MUDr. Edvard Ehler
neurologická klinika PKN, a.s. a FZS UPce



Doc. MUDr. Edvard Ehler CSc.
65 001 066

PARDUBICKÁ KRAJSKÁ NEMOCNICE, a.s.
Neurologická klinika
Kyjevská 44, 532 03 Pardubice
tel.: 466 011 111