

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Ing. Martina Špryncová: „Analýza mastných kyselin u diabetických komplikací a jejich diagnostická aplikace“

Školící pracoviště: Katedra biologických a biochemických věd,
Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

Školitel: prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.

Školitel specialista: MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.

Oponentka: prim. MUDr. Anna Loskotová, Ph.D.

Incidence onemocnění *diabetes mellitus* neustále stoupá, proto je zvolené téma velmi aktuální. V České republice je v odborné literatuře statisticky uváděn 1 milion léčících se pacientů z celkového počtu 10,7 milionů obyvatel. Toto číslo je zvětšeno ještě faktem, že se *diabetes mellitus* ještě objevuje jako druhotné onemocnění. Výskyt stoupá nejen ve starší populaci, ale i ve středních věkových skupinách. Dalším aspektem je velmi ekonomicky nákladná léčba.

1. Obecná charakteristika práce

Disertační práce je napsána v českém jazyce. Obsahuje 163 stran textu a je členěna standardním způsobem na následující kapitoly: souhrn, teoretická část, cíle práce, experimentální část, výsledky a diskuse, závěr, literatura a přílohy. Práce je logicky a přehledně napsána, výsledky jsou prezentovány v podobě řady názorných a dobře popsaných tabulek, obrázků a grafů a vyhodnoceny pomocí moderních statistických metod.

Po **obsahové stránce** má disertační práce dobrou úroveň. Je psána přehledným způsobem, neobsahuje nedoložená tvrzení a spekulace. Neobsahuje překlepy ani hrubé gramatické chyby.

Po **formální stránce** doktorandka prokázala dostatečné zkušenosti při práci s programy Microsoft Word, Excel, Statistica. Je zde dobrá forma a jednotnost obrázků, tabulek a grafů.

2. Aktuálnost tématu

Počty diabetiků, nemocných metabolickým syndromem, jaterní steatózou a nemocných s kardiovaskulárními nálezy se v České republice trvale zvyšují a náklady na jejich léčbu a následnou zdravotní péči jsou již velmi vysoké. Následky těchto nemocí vedou často k pracovní neschopnosti a následně velmi často přecházejí do částečné, nebo trvalé invalidity, existuje zde i nezbytnost transplantačních zákroků a dlouhodobé regenerační a rehabilitační léčby. Včasná a přesná diagnostika těchto nemocí je nezbytná pro jejich cílenou léčbu pomocí účinné farmakoterapie.

V rámci preventivního vyšetřování je povinné i laboratorní vyšetření hladiny cukru v krvi. Současné neinvazivní i invazivní diagnostické metody jsou založeny na prokazování patologických změn v organismu nemocných a v podstatě odhalují již následky probíhajících onemocnění. Mezi nutričně velmi důležité látky patří i fyziologické mastné kyseliny, které realizují významné energetické, metabolické, imunochemické a enzymatické pochody. Jejich význam pro lidské zdraví byl již rozsáhle popsán, a změny v jejich plazmatických a orgánových koncentracích mají negativní vliv na průběh výše uvedených onemocnění. Zcela prokázáný je vliv obezity na vznik a progresi insulinové rezistence tukové i jaterní

tkáň, která způsobuje následné patologické změny v jejich metabolismu a vznik širokého spektra proinfekčních, hepato- a kardio-toxických metabolitů. Je proto nezbytné analyzovat metabolické změny mastných kyselin u uvedených onemocnění a výsledky využít pro jejich diferenciální diagnostiku.

3. Splnění stanovených cílů disertační práce

Všechny tyto skutečnosti popsané v části 2 jsou promítnuty do cílů této práce.

a) Cíle

Cíle předkládané disertační práce byly směřovány do oboru analytické chemie, klinické analýzy a diagnostiky, konkrétně na stanovení koncentrací fyziologických mastných kyselin v lipoproteinových frakcích plazmy, charakteristických pro tukovou tkáň, játra a svaly. Dále autorka studovala aktivity lipogenních enzymů, jejichž aktivita byla ovlivněna insulinovou rezistencí uvedených orgánů.

b) Teoretická část

Obsahuje popis studovaných onemocnění s důrazem na charakterizaci jednotlivých komplikací diabetu typu 2 včetně popisu fyziologických a klinických příznaků využívaných pro diagnostiku těchto onemocnění. Dále autorka popisuje chemické, fyzikální a fyziologické vlastnosti mastných kyselin, včetně jejich působení na lidský organismus a jejich fyziologický význam. Podrobně se věnuje i popisu metabolických transformací mastných kyselin, účinku lipogenních enzymů a fyziologickým následkům metabolických poruch. Autorka shromáždila recentní odborné informace nezbytné pro charakterizaci patologického vlivu nadbytku mastných kyselin v krevní cirkulaci i v postižených orgánech.

c) Experimentální část

Popisuje metodiku měření koncentrací mastných kyselin v plazmatických lipoproteinech, která byla provedena validovaným analytickým postupem charakterizovaným obvyklými analytickými parametry.

Vyhodnocení získaných dat a jejich statistická analýza byly opět provedeny standardním postupem a koncentrace mastných kyselin v jednotlivých frakcích byly tabelovány u všech provedených experimentů (str. 80 – 85) a použity k názorné grafické prezentaci výsledků (str. 86 – 96).

d) Výsledky a jejich diskuse

Stěžejní přínosy práce nalezneme v kapitolách:

4.5 Funkce *cis*-palmitové kyseliny jako lipokinu tukové tkáně

Podle publikovaných výsledků Song Z. a kol. se na aktivaci účinku insulinu v organismu významně podílí *cis*-palmitová kyselina, produkovaná v procesu *de novo* lipogeneze. Autorka navazuje na tuto studii a uvádí, že v případě insulinové rezistence adipocytů je pokles koncentrace palmitooleátu v lipoproteinových frakcích plazmy spojen s poklesem aktivity stearyl-CoA-desaturázy, což může být využito při včasné diagnostice.

4.7.1 Hladiny celkových mastných kyselin v plazmě

Je uveden nový poznatek o poklesu koncentrace *cis*-palmitoolejové kyseliny o 23 % u nemocných MS a o 51 % u JS, což vysvětluje inzulínová rezistence jater a tukové tkáně u JS.

4.7.2-4.7.6 Koncentrace mastných kyselin ve frakci PL, DG, VMK, TG, ECH

V těchto kapitolách jsou detailně popsány koncentrace mastných kyselin v jednotlivých frakcích, z čehož jednoznačně vyplývá, že z diagnostického hlediska je nejvýznamnější frakce TG, kde je umožněno rozlišení jednotlivých skupin pacientů.

e) Závěr

Získané výsledky jsou velmi kvalitní, což značí o přijetí článků v několika publikacích, z čehož nejdůležitější jsou publikace v časopisech *Physiological Research* (IF 1,59; Q4) a *International Journal of Diabetes in Developing Countries* (IF 0,269; Q4). Autorka všechny své hodnoty porovnává s literárními údaji, pokud byly publikovány. Prokázala ve většině studovaných plazmatických frakcích zvýšené koncentrace mastných kyselin, a to hlavně palmitové a stearové, které jsou prokazatelně lipotoxické. U skupiny kardiaků analyzovala ve frakci esterů cholesterolu zvýšené koncentrace ω -6 mastných kyselin, které dále studovala v publikované studii. Diagnostické využití mají hlavně frakce volných mastných kyselin a frakce triacylglycerolů, které jsou tvořeny v tukové tkáni, resp. v játrech, tedy v orgánech nejvíce zasažených insulinovou rezistencí. Projevem insulinové rezistence je i pokles koncentrace *cis*-palmitooleátu, který autorka prokázala a zdůvodnila. Rovněž nalezený významný pokles aktivity 9-desaturázy u metabolického syndromu, jaterní steatózy a diabetu je způsoben jaterní insulinovou rezistencí a je diagnosticky využitelný.

Zadané cíle práce byly prostudovány na současné odborné úrovni pomocí mezinárodně aplikovaných experimentálních metod. Naměřené hodnoty byly statisticky vyhodnoceny a prezentovány jako průměr s výběrovou směrodatnou odchylkou. Tato metodika stanovování mastných kyselin přináší konkrétní výsledky výzkumu a jejich aplikaci ve zdravotnictví.

4. Výsledky disertační práce

Výsledkem disertační práce je stanovení fyziologických intervalů koncentrací mastných kyselin v lipidových frakcích. Autorka porovnává skupiny nemocných pacientů a kontrolní skupiny sledované populace. Včasným laboratorním vyšetřením kombinace MK v lipidových frakcích je možno diagnostikovat již počáteční patologické změny a tím předcházet rozvoji *diabetes mellitus* a komplikacím kardiovaskulárním nemocem, jaterní steatóze. Diagnostické využití analýzy orgánově specifických mastných kyselin je předmětem mnoha odborných publikací a autorka ve své disertační práci na tyto publikované studie navazuje. Širšímu rozšíření tohoto diagnostického postupu do rutinní analýzy sice brání poměrně komplikovaná instrumentace preparativní a plynové chromatografie, ale pro výzkumné a studijní účely je tato metodika široce využívána, a to i celosvětově.

5. Celkové zhodnocení práce

V hodnocené disertační práci jsem nenalezla žádné vážné nedostatky či chyby. Dotazy uvedené v závěru posudku reagují na informace nalezené v textu práce a považuji za nutné je krátce vysvětlit a prodiskutovat. Jedná se pouze o doplňující odborné údaje, které nemají vliv na celkově velmi kvalitní disertační práci, která splňuje všechny požadavky kladené na její odbornou a vědeckou úroveň.

6. ZÁVĚR oponentského posudku

Disertační práci bych navrhovala prezentovat na pravidelně se pořádajícím celostátním kongresu s mezinárodní účastí na téma: mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů, který spolupořádá Univerzita Pardubice a je určen lékařům a všeobecným zdravotním sestřám. Na této konferenci je celý jeden blok věnovaný onemocnění *diabetes mellitus* a prezentace této práce by byly obohacením komplexní diagnostiky a terapie *diabetes mellitus*.

Předložená disertační práce Ing. Martiny Špryncové splňuje všechny požadavky uvedené v § 47 vysokoškolského zákona č. 111/98 Sb. Jsem přesvědčena, že doktorandka prokázala způsobilost k samostatné vědecké práci. Publikační činnost doktorandky je dostatečná a svědčí o aktuálnosti tématu disertační práce, vhodnosti zvolených analytických metod a odborně aplikovatelných výsledcích.


Disertační práci Ing. Martiny Špryncové doporučuji k obhajobě.

Na základě úspěšné obhajoby pak navrhuji udělení akademického titulu Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Dotazy:

- 1) Jak se projevuje nadbytek mastných kyselin třídy omega-6 na vzniku a progresi kardiovaskulárních nálezů a zda lze těmto komplikacím předcházet?

Vysoké Mýto 9. 3. 2022


MUDr. Anna Loskotová, Ph.D.
SALVE centrum, s.r.o.
Jiráskova 177, 566 01 Vysoké Mýto