

Posudek na disertační práci Mgr. Veroniky Pražienkové nazvanou  
NOVÉ ANALOGY ANOREXIGENNÍCH NEUROPEPTIDŮ OVLIVŇUJÍCÍCH PŘÍJEM  
POTRAVY

Předložená disertační práce Mgr. Pražienkové zabývající se studiem anorexigenních peptidů byla vypracována na základě výsledků práce získaných v průběhu jejího doktorandského studia na I.LF UK v Praze. Vlastní experimentální práce byla prováděna především na Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR. Výsledky výzkumu, které se staly podkladem pro vypracování disertační práce, byly publikovány ve čtyřech prestižních mezinárodních časopisech a kopie příslušných článků jsou součástí vlastní disertační práce. Mgr. Pražienková je první autorkou u dvou těchto publikací a kromě toho je spoluautorkou dalších šesti publikací, které se k tématu disertace přímo nevztahují.

Téma disertační práce souvisí s problematikou obezity, tedy oblastí, která je v současné západní společnosti velice aktuální a významná, neboť obezitou je postižena podstatná část lidské populace, a to s sebou pro dotčené osoby přináší řadu závažných zdravotních rizik. Vlastní práce je logicky a přehledně rozčleněna do osmi hlavních kapitol, což umožňuje výbornou orientaci v celém textu. Celý text je po formální i obsahové stránce zpracován velmi pečlivě a lze v něm nalézt pouze ojedinělé drobné překlepy. Teoretická část poskytuje dobře srozumitelný a zasvěcený úvod do problematiky regulace příjmu potravy a úlohy klíčových hormonů zapojených v této regulaci. Kromě informací o jednotlivých regulačních neuropeptidech jsou na konci teoretické části uvedeny také základní údaje týkající se zvířecích modelů používaných pro studium obezity. Cíle práce jsou jasně stanoveny a metodické přístupy k jejich dosažení dobře popsány.

Výsledky práce prošly před jejich publikováním v odborných časopisech přísným recenzním řízením, což zaručuje jejich vysokou úroveň. V rámci vlastní disertační práce autorka přehledně rozdělila základní získané výsledky i jejich diskusi do dvou částí, tj. výsledky týkající se studia peptidu CART a lipidovaných analogů PrRP. Význam všech získaných poznatků je stručně shrnut v závěrečné kapitole.

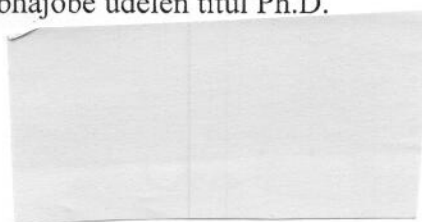
Celkově lze říci, že se autorce podařilo splnit vytčené cíle a její práce přináší řadu nových údajů týkajících se vlastností peptidu CART a lipidovaných analogů PrRP. Bylo zjištěno, že aplikace peptidu CART vede ke snížení příjmu potravy u myší, a že přitom dochází k aktivaci c-Jun v oblastech mozku souvisejících s regulací příjmu potravy. V in vitro experimentech byla působením tohoto peptidu prokázána také aktivace dráhy SAPK/JNK a následně c-Jun. Vazebné pokusy s analogy PrRP s mastnými kyselinami napomohly ke zjištění, že tyto látky se vážou s vysokou afinitou k receptoru GPR10 a také NFF2. Analogy palm-PrRP31, myr-PrRP20 a analog 6 byly úspěšně testovány při dlouhodobém podávání DHO myším a výsledky těchto experimentů naznačily velký potenciální význam uvedených látek pro léčbu obezity. Další studie zaměřené na tento typ látek jsou tedy velmi žádoucí.

### Otázky:

1. V teoretické části práce (str. 18) se uvádí, že PVN integruje signály z neuronů obsahujících NPY/AgRP a POMC/CART, a že stimulace PVN vede ke snížení příjmu potravy a léze v této oblasti k hyperfagii a obezitě. V témže odstavci se uvádí, že v PVN se nacházejí receptory NPY (Y1 a Y5) a MC3R/MC4R. Jsou oba typy receptorů přítomné na stejných neuronech nebo se jedná o různé populace neuronů? Jakým způsobem dochází ke stimulaci neuronů této oblasti. Může změna aktivity neuronů PVN ovlivnit aktivitu jiných oblastí CNS?
2. V popisu metody pro sledování signálních drah v PC12 buňkách ovlivněných působením peptidu CART (str. 49) se uvádí, že před pokusem bylo kultivační medium vyměněno za bezsérové 20 hodin před pokusem. Z jakého důvodu bylo použito bezsérové medium v těchto experimentech? Mimochodem, název příslušné kapitoly (5.3.2) „Stanovení signalizačních drah pomocí imunoblotu“ není příliš dobře zvolený. Pomocí imunoblotingu je možné stanovit relativní změny v expresi proteinů a nikoliv „stanovit“ signální dráhu.
3. Mohla byste prosím vysvětlit, co se rozumí rezistencí vůči dietě (str. 53)? Znamená to, že zvířata dietu nepřijímají, nebo ji přijímají v menším množství, nebo na ně nemá očekávaný účinek? Jak je možné takovou rezistenci vysvětlit? Je obvyklé, že asi 5% zvířat vykazuje rezistenci vůči HF dietě? Může podíl rezistentních jedinců v populaci záviset na druhu/kmeni zvířat? Bylo by případně možné tento poznatek nějak využít ve výzkumu obezity (nebo spíše pro získání nových informací potenciálně užitečných pro prevenci/léčbu obesity)?
4. Z popisu obr. 13 (str. 63) není zřejmé, co vyjadřují sloupcové grafy na tomto obrázku. Jedná se o relativní expresi nefosforylovaných nebo fosforylovaných forem proteinů nebo jejich poměry? Na první pohled sloupcové grafy neodpovídají ani změnám v relativní expresi nefosforylovaných nebo fosforylovaných forem proteinů na příslušných imunoblotech ani změnám jejich poměrů. Bylo by potřeba to jednoznačně vysvětlit. Byla pro kvantitativní vyhodnocení imunoblotů použita nějaká normalizace výsledků jednotlivých pokusů?

Závěrem lze shrnout, že předložená práce má velmi vysokou úroveň po stránce odborné i formální a splňuje veškeré požadavky kladené na doktorskou disertační práci. Autorka vypracováním této práce prokázala nejen široké teoretické znalosti a praktické technické dovednosti, ale také výbornou schopnost zpracovávat a prezentovat získané výsledky svého výzkumu, což je důležité pro samostatnou vědeckou práci. Na základě těchto skutečností doporučuji, aby disertační práce byla předložena k závěrečné obhajobě, a aby Mgr. Pražienkové byl po úspěšné obhajobě udělen titul Ph.D.

Praha, 1.8.2016



doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.  
Katedra fyziologie  
Přírodovědecká fakulta UK v Praze