

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci

## **Důležitost systemické inzulinové rezistence pro imunitní odpověď**

Bc. Lukáš Strych

Předložená diplomová práce o rozsahu 55 stran (včetně příloh) má zcela standardní členění do kapitol a po formální a grafické stránce je téměř perfektní. Práce je napsána česky a stylistická úroveň textu je velmi dobrá. Ačkoli text je místy mírně neobratný, celkově je velmi srozumitelný a jasný. Pokud do formální stránky zahrneme i překlepy, přehmaty a gramatické chyby, tak i těch je přijatelné množství a jen málokde mění smysl textu (výjimky jsou asi dvě: str. 7, řádek 7: uvedeno *aerobní* namísto *anaerobní*; strana 8, řádek 16: uvedeno *trehalózy* namísto *trehalázy*).

Anglická anotace je v zásadě v pořádku. Pro příště snad doporučuji více se zaměřit na to, *co bylo zjištěno*, nežli na to *co a jak se dělalo*.

Úvod má celkem 14 stran a je velmi přehledný. Zejména oceňuji výborné logické uspořádání textu a dobrou práci s četnými literárními zdroji. Obojí prozrazuje, že se uchazeč opravdu dobře zorientoval v širším kontextu velmi složitěho tématu práce, kterým je molekulární propojení metabolických a imunitních odpovědí hmyzího organismu na parazitaci. Jedna výtka by mohla směřovat k samotné první části Úvodu (kap. 1, půl strany), která je až příliš stručná. Ideální by bylo doplnit ji o formulace a informace uvedené v úvodu k Diskusi (strana 36). Druhá výtka: v celém textu Úvodu (a vlastně v celé práci) chybí jakákoli obecná definice nebo bližší charakterizace pojmu "inzulinová rezistence". Přitom toto je centrální pojem celé práce, součást nadpisu práce.

Cíle práce jsou formulovány velmi konkrétně a přitom je lze považovat za ambiciózní a originální.

Po metodické stránce je experimentální část práce na vynikající úrovni. Jádrem metodiky je využití genetického systému křížení Gal4/UAS linií octomilek, který umožňuje tkáňově-specificky manipulovat expresi vybraného genu. Navíc byl využit konstrukt obsahující teplotně-senzitivní protein Gal80, který umožnil časově cílenou regulaci exprese. Larvy octomilek byly parazitovány vosičkou *Leptopilina boulardi*. Pro ověření fenotypu křížených linií octomilek byly použity metody kvantifikace mRNA transkriptů (qRT-PCR), proteinů (Western), a počítání hemocytů.

Výsledky experimentů jsou velmi přehledně prezentovány. Názvy podkapitol 4.1 až 4.4 jsou stručné, jasné a popisné, jak to velí současný publikační trend. Otázky k vybraným výsledkům:

### **Míra fosforylace protein kinázy B (Akt) jako měřítko potlačení inzulinové signalizace po parazitaci.**

1. Autor upřednostnil absolutní kvantifikaci proteinů Akt a pAkt na Western blotech (Obr. 3 a 4) před relativní kvantifikací normalizovanou na protein alfa-katenin (Obr. P1 a P2). Důvody autor přijatelně vysvětluje v Diskusi na straně 37. Normalizovaná kvantifikace (Obr. P) však lépe

ukazuje některé trendy, které nejsou tak dobře viditelné bez normalizace. Zdá se například, že existuje systematický vliv infekce na celkový Akt, jak v tuku (Obr. P2C), tak ve svalu (Obr. P1C). Výsledná změna poměru pAkt/Akt může tedy být způsobena jednak poklesem pAkt po infekci, nebo ne-nárůstem pAkt po infekci, nebo nárůstem celkového Akt po infekci, nebo kombinacemi. Mají tyto alternativy interpretace nějaké biologické vysvětlení a, popřípadě vliv na celkovou interpretaci výsledku?

2. Fosforylace Akt může být pod kontrolou dalších signálních drah (kromě IS). Může se autor (třeba za pomoci Obr. 1 nebo 2) k tomuto vrátit a vysvětlit, jaké jiné regulační alternativy se nabízejí pro fosforylaci Akt (kromě IS)?

### **Míra exprese genu *4E-BP* jako měřítko potlačení inzulínové signalizace po parazitaci.**

3. Výrazný nárůst mRNA transkriptů genu *4E-BP* (represoru translace) ve svalech i tuku po infekci je v jasném souladu s hypotézou metabolického přesmyku. Nabízí se otázka, zda-li parazitace, kromě přesměrování toku energie od růstu a aktivity periférií do podpory proliferace a diferenciace imunitních buněk, rovněž zastavuje (zpomaluje) vývoj – jako další energeticky náročný proces. Patrně ovlivněním signalizačních drah vývojových hormonů a TOR? Někjaká data nebo spekulace na toto téma?

Diskuse na sedmi stranách je opět nadstandardně kvalitní. Autor podrobně konfrontuje své výsledky s literárními údaji, uvádí alternativní interpretace a, co je zvláště cenné, nachází a nabízí další směry možného doplňujícího a rozšiřujícího výzkumu.

Celkově hodnotím předloženou práci jako mimořádně zdařilou. Jednoznačně doporučuji přijmout jako velmi kvalitní podklad k obhajobě.

V Českých Budějovicích  
dne 20. 4. 2021



.....  
Vladimír Košťál