

**Oponentský posudek**  
**dizertační práce Mgr. David Kolář**

**„Úloha energetického metabolismu v kardioprotekci indukované adaptaci na  
chronickou hypoxii“**

Předložená dizertační práce má celkem 120 stran a zaměřuje se na popis změn energetického metabolismu LV při adaptaci na chronickou hypoxii. Zvláštní pozornost je věnována úloze mitochondrií. Jedná se o problematiku nesmírně závažnou z hlediska klinické praxe. Morbidita a mortalita kardiovaskulárních onemocnění představuje celosvětově závažný problém současné medicíny.

V literárním přehledu je pozornost věnována metabolismu myokardu, jeho regulaci a transkripční kontrole. V další části je diskutována problematika ischemicko-reperfučního poškození a mechanismy adaptace na chronickou hypoxii. Tato část je napsána jasně a přehledně a ukazuje i veliký pedagogický potenciál pisatele. Autor využívá hluboké znalosti studované problematiky. Celá práce odkazuje na více než 400 citací. Dále je potřeba ocenit i ontogenetický pohled na danou problematiku a důraz na dynamiku metabolických procesů.

Cíle práce jsou jasně definovány do 3 bodů.

1. První část je zaměřena úlohu Akt (salvage pathway) a translokaci HK u potkanů adaptovaných na chronickou hypoxii během krátkého I/R protokolu *ex vivo* (via Langendorff).
2. Druhá část je věnována vlivu chronické hypoxie na Akt signalizační dráhu spontánně hypertenzního potkana (SHR) a konplastického kmene přechovávajícího mitochondriální genom kmene Brown Norway, SHR-mtBN.
3. Třetí část se zabývá vlivem intermitentní hypobarické hypoxie na rychlost  $\beta$ -oxidace v jednotlivých buněčných kompartmentech, expresi komplexů (CI-CV)

mitochondriálního elektron-transportního systému, míru spotřeby kyslíku u mitochondrií a náchylnost mitochondrií k  $\text{Ca}^{2+}$  přetížení.

Z experimentálních metodik práce využívá poměrně širokou škálu postupů, především RNA čipovou analýzu, WB, spektrofotometrické stanovení aktivity enzymů, respirometrii s vysokým rozlišením (Oxygraph) a imunofluorescenci. Tyto metody, které lze považovat za adekvátní, jsou popsány jasně a srozumitelně. K této části mám pouze jednu výtku, bylo by vhodné uvést koncentrace primárních a sekundárních protilátek u WB a imunofluorescence.

Výsledková část je rozdělena do 14 podkapitol. Následuje souhrnná a dobře napsaná diskuse, která vhodně zasazuje dosažená data do širších souvislostí. Získané výsledky ukazují, že srdeční rezistence k I/R poškození indukovaná adaptací na chronickou hypoxii se projevuje především změnou energetického metabolismu. I když tato problematika není zcela nová, předložená dizertační práce přináší celou řadu kvalitních originálních dat, které nemají pouze deskriptivní charakter, ale snaží se o hlubší pochopení patogenetických mechanismů.

Z mého pohledu považuji za nejdůležitější, že byl prokázán zvýšený metabolismu cukrů, což zřejmě souvisí s kombinovaným účinkem HIF-1 a Akt. Dále byl popsán útlum metabolismu mastných kyselina v mitochondriích, který je kompenzováno zvýšenou  $\beta$ -oxidací v peroxisomech. Tento posun pravděpodobně představuje mechanismus šetřící kyslík a je částečně stimulován zvýšenou rychlostí glykolýzy a změnou poměru  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ . Tyto změny mohou poskytnout základ kardioprotekce proti I/R poškození pomocí snížené generace ROS na počátku reperfuční periody, úpravou  $\text{Ca}^{2+}$  homeostázy a sníženou pravděpodobností otevírání mPTP. Tyto výsledky byly publikovány v časopisech s IF. Je důležité zdůraznit, že všechny tyto poznatky mohou navíc přispět k prevenci a léčbě I/R poškození v klinické praxi.

Po formální stránce je dizertační práce zpracována pečlivě, pouze mě zarazil způsob citací, který není zcela standardní. Práce se opírá o důkladnou znalost odborné literatury a navazuje na problematiku dlouhodobě řešenou na Fyziologickém ústavu AV ČR a Katedra fyziologie PřF UK. Dále je třeba ocenit, že celá dizertační práce je napsána v angličtině.

K práci mám následující otázky:

1. Autor v práci zmiňuje problematiku inotropního efektu inzulinu. Zajímalo by mne, jak je na úrovni současných poznatků vysvětlován pozitivně inotropní efekt glukagonu?



2. Jak se díváte na možnost využití laktátu jako markeru poškození myokardu ve vašem experimentu?
3. Jaký vidí autor smysl v použití malátu, jako jediného substrátu, a co vyvozuje ze snížení respirace aktiv M a M+ADP?
4. Jen pro upřesnění, jak si vysvětľujete pokles u SSM po přidavku sukcinátu, protože aktivita ani exprese sukcinátdehydrogenázy ovlivněna nebyla?
5. Proč byl vybrán při statistické analýze zrovna post-hoc Newman-Keul's test?
6. Zajímalo by mně, zda autor sám zvládl metodiku respirometrie s vysokým rozlišením (tj. Oxygraph)?
7. Mohl byste říci něco o možnostech farmakologické intervence, ovlivňující metabolismus myokardu, v klinické praxi?

**Závěr:**

Na základě předložené práce jsem dospěla k názoru, že Mgr. David Kolář jednoznačně prokázal schopnost samostatně a invenčně vědecky pracovat a kriticky interpretovat dosažené výsledky. Mgr. David Kolář plně splnil požadavky, které jsou kladeny na dizertační práci, a proto jednoznačně doporučuji přijmout dizertační práci v předložené formě k obhajobě.

V Hradci Králové dne 30.8.2018



Doc. MUDr. Michaela Adamcová, PhD.