

**Oponentský posudek doktorské disertační práce: Mgr. Miroslav  
Kovařík „Metabolismus proteinů a aminokyselin u proteokatabolických  
stavů-vliv metabolitů leucinu“**

Předložená disertační práce Mgr. Miroslava Kovaříka je v rozsahu 122 stran, obsahuje 9 kapitol. Hlavním cílem této disertační práce bylo: studium vlivu endotoxinu na metabolismus bílkovin a aminokyselin u různých typů kosterního svalu a dávkové závislosti těchto změn; a dále posouzení vlivu vybraných metabolitů leucinu (KIC [kyselina  $\alpha$ -ketisokapronová] a HMB [ $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrát]) na metabolismus bílkovin a aminokyselin – u rozličných kosterních svalů za podmínek *in vitro* a *in vivo*; u zdravých potkanů a v proteokatabolických pomínkách.

Teoretická část obsahuje shrnutí nejnovějšího literárního přehledu o daném studijním tématu. Pak následují hlavní cíle této disertační práce, různé experimentální metody, výsledky a nakonec je uvedena část diskusí a závěrečná, následovaná 153 citacemi. Chtěl bych zdůraznit, že vlastní výsledky disertace byly publikovány ve formě 7 původních prací v odborných vědeckých časopisech, a v jednom přehledném článku, z nichž ve dvou publikacích je uveden Mgr. Miroslav Kovařík jako první autor. Takže celková jeho publikační činnost představuje 8 publikací, dodatkem jsou ještě mnohé prezentace ve formě abstraktů.

Téma disertace je nanejvýš aktuální, uvážíme-li, že proteokatabolismus a ztráta svalové hmoty jsou základními rysy charakterizujícími komplexní metabolický syndrom, nazývaný kachexie, jenž je velmi vážnou komplikací mnoha onemocnění, na jejichž patogenezi se často podílí systémová zánětová odpověď a endotoxemie.

K řešení zadaných úkolů autor použil adekvátní metodické postupy odpovídající současným požadavkům, což velmi dobře popsal na více nežli 15 stranách. Autor

použil dva typy kosterních svalů potkanů kmene Wistar k posouzení rozdílů v účincích na svaly lišící se ve složení svalových vláken, a to m. soleus (SOL – vlákna typu I - pomalá, červená) a m. extensor digitorum longus (EDL – vlákna typu II - rychlá, bílá). Jako parametry metabolismu bílkoviny byla sledována celková a myofibrilární proteolýza, proteosyntéza, oxidace leucinu, proteolytická aktivita proteazomu či katepsinů B a L a exprese  $\alpha$ -podjednotek proteazomu.

#### **K výsledkům disertační práce.**

Autor v uvedených experimentálních podmínkách vyvolal indukci proteokatabolismu v kosterním svalu po endotoxemii vlivem zvýšené proteolýzy zapříčiněné stimulací proteolytické aktivity proteazomu. Zjistil, že vůči účinku endotoxinu byl více senzitivní EDL než SOL. Autor také zjistil nejvhodnější dávku endotoxinu v těchto proteokatabolických studiích, což je podle mne velice důležitá část výsledků. Důležitým přínosem této vědecké práce je zjištění příznivého vlivu HMB ( $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrát) na metabolismus bílkovin kosterního svalu potkana ve stavu indukovaném aplikací endotoxinu.

Práce Mgr. Miroslava Kovaříka je precizní a dobře zdokumentovaná. Kvalita této vědecké práce byla zdůrazněna již autorovými publikacemi.

#### **K předložené práci mám tyto následující dotazy:**

- Metabolit leucinu beta-hydroxy-beta-methylbutyrát (HMB) byl intenzivně používán jako ergogenní prostředek; nedávno bylo publikováno, že tato látka se s oblibou užívá jak u kulturistů, tak u atletů střední a silné kategorie k představení ukázky cvičení s hypertrofií kosterního svalu a používá se i přes rozdílnost věku, pohlaví a tréninkových zkušeností. HMB je nejvíce diskutován jako prekursor enzymu HMG-koenzym A reduktázy limitující syntézu cholesterolu. Moje otázka k vašim výsledkům a ke prostudované literatuře - existuje nějaká interakce s potravou při použití např. statinů, což jsou inhibitory HMG-koenzym A reduktázy, které se používají rutinně u různých typů hypercholesterolemií a HMB?
- Plasmatické metabolické profily mohou být odrazem glukózové homeostázy u metabolické nemoci jako je Diabetes mellitus typ 2. Specifické

metabolity byly statisticky významně zvýšeny u jedinců T2DM včetně určitých aminokyselin a jejich derivátů (např. leucin, valin atd). Koncentrace leucinu a valinu rostla se zvyšujícím se HbA1c. Rád bych se zeptal na zařazení takových potravních doplňků u T2DM a jsou-li indikovány nebo kontraindikovány.

- Léčba Clofibrátem podporuje katabolismus rozvětvených aminokyselin a snižuje stav fosforylace v játrech experimentálních zvířat. Jak byste se vyjádřil ke společnému užívání derivátů clofibrátové kyseliny (užívané také v lékařských přípravcích pro hyperlipoproteinemii) a potravních doplňků s metabolitem leucinu beta-hydroxy-beta-methylbutyrát (HMB)?
- Jaké je obecné doporučení na užívání zmíněných potravních doplňků u různých typů kancerogenních pacientů?

Formální připomínky k práci žádné nemám.

#### **Závěr:**

Práce řeší závažné téma, které má nejen teoretickou, ale i praktickou důležitost. Zaměření práce, výběr metod i interpretace výsledků jsou na velmi dobré odborné úrovni.

Závěrem konstatuji, že Mgr. Miroslav Kovařík prokázal, že si osvojil základy samostatné vědecké práce a předložený spis splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci, a proto komisi jednoznačně

**d o p o r u č u j i,**

aby byla práce předložena k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby byl uchazeči udělen titul Ph.D.

V Praze dne 23. 3. 2011.

**H. Farghali**