

**Oponentský posudek****Molekulární patologie vybraných dědičných hyperbilirubinemií****Disertační práce****Postgraduální doktorský studijní program:  
„Biochemie a patobiochemie“****Mgr. Lenka Šlachtová****Školitel:****Prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc***Universita Karlova v Praze,**1. lékařská fakulta**Klinika dětského a dorostového lékařství***Téma práce**

Doktorská práce Mgr. Lenky Šlachtové řeší důležitou problematiku spojenou s geneticky podmíněnými defekty v metabolismu bilirubinu, koncového produktu degradace hemu u člověka. Nejčastěji se tyto poruchy projevují jako žloutenky. Tato onemocnění představují významný zdravotnický a sociální problém a jejich systematické studium je proto velmi přínosné. Hlavním tématem práce jsou genetické poruchy genů zapojených do degradace hemu, jejichž produkty pak následně způsobují hromadění bilirubinu. Práce je zaměřena na enzym UGT1A1, který konjuguje bilirubin se zbytkem kyseliny glukuronové a tím zvyšuje jeho rozpustnost a vyloučení z organismu. Dále je to na transportní transmembránový protein ABCC2, u něhož byla rozpoznána jeho role při transportu bilirubinu.

**Zpracování disertační práce**

Po obsahové i formální stránce má předložená diplomová práce Lenky Šlachtové solidní úroveň. Práce má 110 stran, je logicky a přehledně členěna. Literární úvod poskytuje dostatečný přehled o problematice dědičných hyperbilirubinemií. Použité metodické přístupy a studované soubory jsou popsány stručně, ale v dostatečné míře. Následné kapitoly obsahující výsledky, diskusi a závěry jsou relevantní. Publikační aktivita autorky zmiňuje rovněž práce nesouvisející s tématem disertace a jejich citační ohlas a abstrakta sdělení z různých tuzemských a mezinárodních konferencí.

### **Cíle a výsledky práce**

Cíle práce jsou jednoznačně formulovány do čtyř bodů vycházejících z pracovních hypotéz, které se autorce podařilo naplnit. Zabývají se vlivem insercí v promotorové oblasti genu UGT1A1 na hladinu sérového bilirubinu, charakterizaci genetické podstaty hyperbilirubinémie způsobené Dubin – Johnsonovým syndromem a popisu molekulární patologie duální žloutenky v důsledku kombinace hyperbilirubinémie Gilbertova typu a hyperbilirubinémie způsobené Dubin – Johnsonovým syndromem. Je rovněž řešen jejich vztah k defektu v ABCC2. Práce v podstatě shrnuje výsledky dvou prvoautorských prací, které autorka publikovala v impaktovaných časopisech Cell Mol Biol (IF 1,23) a Eur J Hum Genet (IF 4,349). Každý cíl je samostatně diskutován.

Jako cenný výstup práce považuji doporučení autorky pro klinickou praxi.

### **Celkové shrnutí a otázky**

Disertační práce Mgr. Lenky Šlachtové potvrzuje schopnost autorky pro vědeckou práci, což dokládá jednak její orientace v problematice, tak její experimentální dovednosti a prezentační schopnosti výsledků. Dále o tom svědčí i 2 prvoautorové publikace a četné prezentace na mezinárodních vědeckých fórech. Celkově je práce poměrně zdařile a většinou srozumitelně sepsána, k výsledkové části nemám závažnější připomínky.

Práci je však možné vytknout některé formální nedostatečnosti, jako jsou formulační nepřesnosti a nejasnosti

Např. „Most of these hyperbilirubinemias are inherited autosomal recessively“ by měla být spíše „are inherited as autosomal recessive disorders“, nebo „inherited in autosomal recessive patterns“

V práci a zejména v autoreferátu, kterému nebyla věnována patřičná pozornost, jsou překlepy, občas chybí shoda podmětu s přísudkem, v seznamu zkratk chybí některé zkratky jako např. SNPs, cBi. V autoreferátu jsou použity četné zkratky, aniž by bylo při jejich prvním použití uvedeno celé znění, a tím se stává značně nesrozumitelným.

Pro neoborníka je trochu matoucí, že v úvodu je na str. 15 podkapitola I. II.I/4, která je věnována transportu bilirubinu, kde je uveden transportní protein pouze pod názvem MRP2 bez recentního označení ABCC2, který je pak dále v textu používán, viz strana 26 a dále. Může pak dojít k mylnému úsudku, že se jde o 2 rozdílné proteiny, pokud není hned při prvním popisu jasně řečeno, že jde o alternativní označení téhož.

V podkapitole I.III.I. str. 21 je nesprávně uvedena hodnota pro doporučenou terapii světlem, místo mikro W jsou uvedeny mW (zřejmě chyba vznikla nesprávným fontem).

Na straně 83, druhý řádek shora chybí odkaz na konkrétní tabulku...

## Otázky

V posledních letech se diskutuje role bilirubinu jako významného antioxidantního agens. Jsou práce, které dávají do souvislosti nižší výskyt kardiovaskulárních poruch u mírných hyperbilirubinemií. Některé práce to však nepotvrdily. Mohla by disertantka přehledovým způsobem seznámit se situací, protože hyperbilirubinémie jsou jejím tématem? Při jaké výši bilirubinu lze zřejmě hledat hranici mezi bilirubinem jako ochráncem a bilirubinem jako škůdcem?

Jaká je regulace exprese ABCC2 a UGT1A1 na transkripční a postranskripční úrovni? Co je známo o epigenetické regulaci?

Jaké poznatky vyplývají se studia zvířecích knockout modelů?

Jaké další poruchy kromě hlavně sledovaných poruch v transportu a konjugaci bilirubinu mohou vézt ke vniku jaundice?

## Závěr

**Z výše uvedených důvodů doporučuji práci přijmout v předkládané podobě jako podklad k udělení titulu PhD za jménem**

[Redacted signature]

V Praze 30.8. 2015

RNDr. Jarmila Králová, CSc.

Ústav molekulární genetiky AVČR, v.v.i.

Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4