

**Posudek disertační práce MUDr. Iuliia Gurieva: Železo a regulace jeho metabolismu při zánětu a poruchách erythropoezy.**

Předložená disertační práce čítá 90 stran a je zpracována klasickým způsobem, tedy členěna na úvod, metody, výsledky, diskuzi, závěr a konečně seznam literatury čítající 155 položek. Následuje 24 stran příloh - dvě publikace, na kterých je disertace založena, v PLoS One (IF 2,806) a Blood Cells Mol Dis. (IF 1,836). U druhé jmenované publikace je předkladatelka první autorkou. Po formální stránce je práce zpracována velmi pečlivě.

Úvod na 26 stranách představuje zdařilý a čtivý popis regulace metabolismu železa a erythropoezy. Centrálním regulátorem je jaterní peptid hepcidin, jehož exprese reaguje na množství železa v organismu, na zánět a na požadavky erythropoezy. Z úvodu je zřejmé, že regulace hepcidinu železem a zánětem je probádána mnohem víc než regulace požadavky erythropoezy. Předmětem výzkumu je hierarchie mezi podněty z množství železa a z erythropoezy a především role poměrně nedávno objevených proteinů matriptázy-2 a erytroferonu v této regulaci. Zde prezentované výsledky představují významný příspěvek k řešení této nelehké problematiky, což je myslím dostatečně doloženo jejich publikováním v recenzovaných zahraničních časopisech. Jde o základní výzkum, i když disertace zmiňuje i možné praktické přínosy, např. při terapii talasemie.

Popis metod je podrobný a - pokud lze soudit - přesný. V experimentech se myším nebo potkanům podávala nízkoželezná dieta či naopak železo v různých dávkách a/nebo erythropoetin. Měřilo se množství železa v játrech a plasmě, stanovovala se exprese hepcidinu, matriptázy-2, erytroferonu a markerů aktivace BMP/Smad signální dráhy na úrovni genů (RT-PCR) i proteinů (Western immunoblotting). Z kombinovaného podávání železa a erythropoetinu jsou výsledky asi nejzajímavější, neboť umožňují usuzovat na hierarchii obou typů podnětů i na mechanismus působení erythropoetinu. Je možná škoda, že disertace nezahrnuje všechny výsledky v přiložených publikacích (např. obr. 4C z druhého článku). Předpokládám ale, že výběr výsledků odpovídá skutečnému podílu autorky disertace na přiložených publikacích.

Celkově disertační práce svým rozsahem, obsahem a úrovní zpracování dle mého názoru přesvědčivě prokazuje předpoklady autorky k vědecké práci a k udělení titulu Ph.D. Obhajoba práce by ale měla zahrnovat uspokojivá vyjádření k těmto několika připomínkám či otázkám:

- 1) Jakkoliv je úvod celkově adekvátní, chybí v něm dostatečný popis funkce proteinů Smad7 a Id1, které se v práci využívají jako markery aktivace BMP/Smad signální dráhy.
- 2) Součástí cílů i závěrů práce je srovnání výsledků u myši a u potkanů. V tomto kontextu je ale zvláštní, že jako experimentální model byly u myši zvoleny samci, zatímco u potkanů samice. Má tento rozdíl nějaký důvod? Není tím srovnání mezi oběma modely zpochybněno?
- 3) Pokles fosforylovaných Smad proteinů po erythropoetinu je popsán jako statisticky signifikantní, ale ukázán jen jako obrázek Western blotu (obr. 12D). Ani v přiložené publikaci není více.
- 4) Diskuse k výsledkům bere v úvahu různé mechanismy působení erythropoetinu. V zásadě může na expresi hepcidinu působit přes změny v množství tkáňového či plasmatického železa, anebo prostřednictvím erytroferonu. Předchozí podání železa ruší účinek erythropoetinu na expresi hepcidinu, nikoliv však na komponenty BMP/Smad signální dráhy. Mohl by erythropoetin ovlivňovat signální dráhu BMP/Smad v játrech i přímo, nejen přes erytroferon?
- 5) Jedním ze závěrů disertace je, že exprese matriptázy-2 se mění na úrovni proteinu, nikoliv genu. Nemůže jít mimo jiné o regulaci pomocí IRE/IRE-BP, jako u jiných proteinů klíčových v metabolismu železa?

V Praze dne 3.6.2019

MUDr. Jan Pláteník, PhD.