

## Oponentský posudek disertační práce

Disertační práce ing. Lenky Steiner-Mrázové „Molekulární analýza vybraných dědičně podmíněných onemocnění“ je věnována aktuální problematice molekulární diagnostiky dědičných poruch metabolismu organických kyselin, diagnostice syndromů vyvolaných rozsáhlými delecemi v chromosomu X a identifikaci genu pro mukopolysacharidózu typ IIIC.

Práce je napsána formou komentovaného souboru pěti prací publikovaných ve čtyřech recenzovaných odborných časopisech s impakt faktorem a v jednom recenzovaném odborném časopise bez impakt faktoru. Z toho je ing. Steiner – Mrázová první autorkou jedné práce v časopise s impakt faktorem a druhou autorkou tří publikací. K disertaci je přiložen seznam 7 publikací v recenzovaných časopisech, jejichž je ing. Steiner-Mrázová autorkou či spoluautorkou. Dvě z těchto prací nejsou součástí disertace.

Disertace je rozčleněna do pěti částí. V úvodu do problematiky podává autorka stručný a výstižný přehled základů lékařské genetiky a technik užívaných k molekulární diagnostice dědičných chorob. Následující tři kapitoly jsou členěny vždy na úvod ke specifické skupině metabolických onemocnění a komentář, který doplňuje a rozšiřuje výsledky publikované v přiložených pracech.

Kapitola 1 (komentář k publikacím č. 1 až 3) je věnována diagnostice poruch metabolismu ketonových látek a metylmalonové acidémie. Praktickým přínosem této části disertace je vypracování komplexního systému diagnostiky a diferenciální diagnostiky poruch těchto chorob, ke kterému autorka zásadním způsobem přispěla zavedením metod mutační analýzy pěti genů na úrovni gDNA a mRNA. Vědeckým přínosem kapitoly je záchyt 9 nových mutací a detailní analýza patogenity všech zachycených mutací.

Kapitola 2 (komentář k publikaci č. 4) popisuje postup detekce rozsáhlých delecí v chromosomu X založený na autorkou vypracované jednoduché metodě PCR prób a jeho úspěšné použití u 6 nemocných s agamaglobulinémií Brutonova typu kombinovanou s Mohr-Tranebjaergovým syndromem.

Třetí kapitola je věnována identifikaci genu odpovědného za mukopolysacharidózu IIIC. Úspěšná identifikace genu pro heparan acetyl-CoA: alfa-glukosaminid N-acetyltransferázu jako genu odpovědného za mukopolysacharidózu IIIC představuje zásadní příspěvek k poznání molekulární podstaty této choroby. Práce má i nemalý praktický význam, neboť umožnila zavedení diagnostiky choroby na molekulární úrovni. Výsledky byly publikovány v prestižním časopise *Am J Hum Genet*, ing. Steiner-Mrázová je druhou autorkou této práce.

Závěr disertace shrnuje cíle a dokládá jejich splnění.

Disertační práce je napsána čtivou a srozumitelnou formou s minimem chyb a překlepů. Rozsah (141 citací) i obsah citované literatury, která zahrnuje i elektronické zdroje, dokumentuje výbornou orientaci autorky v problematice, přispívá ke srozumitelnosti textu a umožňuje kritické zhodnocení výsledků vědecké práce autorky v kontextu světového písemnictví.

Z obsahového hlediska lze vytknout jen několik drobností:

1. Na str. 11, řádek 11, uvádí autorka ne zcela přesné tvrzení, že SNP jsou pouze bialelické. Existují však i tri- a tetraalelické SNP.
2. Koenzym A se uvolňuje při syntéze AcAcCoA z AcCoA, tj. v metabolickém schématu na obr. 7 vlevo nahoře při reakci zprava doleva a nikoliv zleva doprava.
3. Na str. 18 a 19 není uvedeno, zda mitochondriální a peroxisomální HmgCoA lyáza je kódována jedním společným genem nebo dvěma různými geny.

Rovněž k formální stránce práce mám pouze následující drobné připomínky:

1. Při citování prací uvedením prvního autora (např. Bobik a kol.) zařazuje autorka odkazy na citace na konec věty. Takový způsob odkazování je sice možný, avšak pro řazení citací podle jejich prvního výskytu není vhodný, neboť zhoršuje orientaci čtenáře a má za následek i to, že u některých citací je odkaz na publikaci opomenut (např. ve větě „Studie Korotkové a kol. se zabývala ...“ na str. 28, řádky 25 a 26).
2. Citace v legendě k některým obrázkům (např. k obr. 1, 6, 9, 12) jsou neúplné.
3. Na straně 16 užívá autorka jiných zkratk enzymů (HMGS a HMGL) než ve schématu na str. 17 a v dalším textu od str. 18 (mHS a HL), což zhoršuje srozumitelnost podkapitoly 3.1
4. Seznam použitých zkratk na str. 62 není úplný.

Z předložené disertace a příloh je zřejmé, že autorka se dokonale orientuje ve své výzkumné problematice, ovládá velmi širokou škálu technik molekulární genetiky a je schopná prezentovat a publikovat výsledky své vědecké práce na špičkové odborné úrovni. Ing. Steiner-Mrázová svou disertací i celou dosavadní vědeckou činností významně přispěla k molekulární diagnostice několika dědičných onemocnění a k poznání molekulární podstaty poruch metabolismu mukopolysacharidů u člověka. Disertace prokazuje výborné schopnosti autorky k samostatné tvořivé vědecké práci. Udělení titulu „Ph.D.“ za jménem je v případě ing. Steiner-Mrázové plně opodstatněné.

Dotazy:

- 1) Jak se vysvětluje skutečnost, že i kompletní deficit HMG koenzym A lyázy je u dospělých zcela bez příznaků?
- 2) Byla testována funkce a lokalizace kratšího transkriptu genu *HGSNAT*? Má prvních 28 aminokyselin delšího transkriptu funkční význam?

V Praze dne 27.8.2008



MUDr. Mgr. Milan Jirsa, CSc.

Laboratoř hepatologie ÚKBLD 1.LFUK

U nemocnice 2, 128 08 Praha 2

a

Laboratoř exp. hepatologie PEM IKEM

Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha 4 - Krč

tel. 261362773, fax 241721666

e-mail: milan.jirsa@ikem.cz