

Oponentský posudek

disertační práce Ing. Davida Jelínka nazvané "Cellular and physiological consequences of decreased Niemann-Pick type C1 gene expression"

Tématem předkládané disertační práce jsou experimentální studie zaměřené na charakterizaci funkcí a úlohy Niemann-Pick typ C1 (NPC1) genu, zejména v intracelulárním metabolismu lipidů. Ačkoli se jedná o práce experimentální, mají výsledky kandidáta přímý dopad na porozumění patogeneze poruch metabolismu lipidů, obzvláště aterosklerotických onemocnění a obezity.

Předložená disertační práce má 148 stran a je členěna do šesti kapitol.

Úvod do problematiky, podložený velkým počtem literárních pramenů, přesvědčivě poukazuje na detailní znalosti autora v problematice metabolismu cholesterolu.

V podkapitole Cíle práce definuje Ing. Jelínek tři hlavní úkoly disertační práce, tedy charakterizaci NPC1 genu/proteinu v intracelulárním metabolismu cholesterolu, studium funkčních interakcí mezi NPC1 proteinem a caveolinem-1 a konečně výzkum klinických dopadů snížené exprese NPC1 genu na zvířecím modelu.

Velmi detailní metodická část popisuje veliké spektrum laboratorních technik, které musel kandidát zvládnout k dosažení vytyčených cílů a dokladuje jeho široký záběr.

Výsledková část popisuje dosažené výsledky, které do sebe funkčně zapadají a poukazují na pravděpodobný velký klinický význam NPC1 genu.

Celkově práci hodnotím velmi pozitivně, význam práce je navíc objektivizován publikačními výstupy. Ing. Jelínek publikoval 7 původních prací v časopisech s velmi kvalitním IF, z nichž na 2 figuruje jako první autor, navíc je autorem či spoluautorem dalších prací publikovaných v českých časopisech.

V disertační práci, která je nesporně na velmi vysoké úrovni, je nicméně několik nepřesností.

1. Cholesterol pocházející z HDL není substrátem pro syntézu žlučových kyselin – tím je LDL cholesterol. Proto například léčba kyselinou chenodeoxycholovou vede k elevaci LDL cholesterolu a naopak léčba sekvestranty žlučových kyselin k poklesu LDL cholesterolu.
2. Žlučové kyseliny pak nejsou transportovány do žluče (nikoli zažívacího traktu) pomocí ABCG5/G8 proteinu, ale pomocí exportní pumpy žlučových kyselin (BSEP).

I přes tyto drobné nedostatky se jedná o disertační práci bezesporu velmi kvalitní, a proto ji po detailním prostudování doporučuji přijmout k obhajobě jako podklad pro udělení titulu PhD.

Otázky na autora:

1. Jaké bylo složení tuků u HF diety?
2. Jak souvisí NPC1L1 transportní protein uplatňující se resorpci cholesterolu ze střeva s proteiny NPC1 a 2 hrajícími roli v intracelulární homeostáze cholesterolu?
3. Byla u *Npc1^{+/-}* myši pozorována vyšší absorpce cholesterolu ze střeva (pokud toto bylo studováno)?
4. Existují data o biliární sekreci cholesterolu a žlučových kyselin u *Npc1^{+/-}* myši?

v Praze, dne 10.3. 2010



Prof. MUDr. Libor Vitek, PhD, MBA

IV. interní klinika a

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

Všeobecná fakultní nemocnice a

1. Lékařská fakulta UK v Praze

Peter G. Pentchev, Ph.D.
Metabolic Modeling Services, Ltd.
4217 Peterborough Rd.
West Lafayette Indiana, 47906-5680

January 30, 2010

Department of Analytic Chemistry
University of Pardubice
Studenstka 573 HB/C
CZ-53210 Pardubice
Czech Republic

RE: Ph.D. thesis of David Jelinek , M.S.

To whom it may concern.

It gives me great pleasure to write this strong letter of support on behalf of your Ph.D. candidate, David Jelinek. His thesis entitled "Cellular and physiological consequences of decreased Niemann-Pick type C1 gene expression" is outstanding and encompasses a great deal of comprehensive experimental investigation that defines important aspects of the NP-C pathway as it pertains to intracellular cholesterol trafficking. This work is comprised from three somewhat separated studies. The first part is an expansion of Dr Garver's previous work that demonstrated downregulation of NPC1 gene by LDL-derived cholesterol published in the Journal of Lipid Research in 2008. It is important to mention that David Jelinek was one of the authors for this article. The second part describes the potential protein-protein interaction between the NPC1 and caveolin-1 proteins, including the rational reason for it by describing the binding sites. The third part takes the aspect of NPC1 downregulation in regards to the two different mouse models. The Balb/c model showed that downregulation of NPC1 is associated with weight gain, while the mixed-strain BALB/cJ - C57BL/6J model confirms the weight gain in addition to metabolic features commonly associated with insulin resistance, including hepatic steatosis and impaired glucose tolerance.

The overall quality of this work is clearly indicated and his lab has addressed very germane questions of the NP-C pathway in a very rigorous and comprehensive fashion. This evaluation is largely supported by the publication of parts of his study in peer reviewed journals.

I have no major critical comments about his study that need to be addressed. As a minor comment, there is some repetition in the Introduction on page 38, and some errors in the results describing the $Npc^{+/+}$ and $Npc^{+/-}$ mice on page 119. Finally, there are a few grammatical errors throughout the thesis, which does not affect the over quality of the work.

As a part of the defense, I would like to ask few questions:

1) What was David Jelinek contribution to the first published article on downregulation of NPC1 by LDL-derived cholesterol (Garver WS, Jelinek D, Francis GA, Murphy BD. The Niemann-

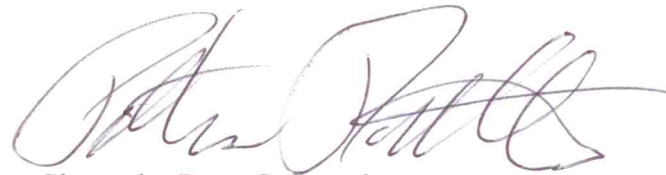
Pick C1 gene is downregulated by feedback inhibition of the SREBP pathway in human fibroblasts. J Lipid Res. 2008;49:1090-102.

2) What were the NPC1 protein levels in caveolin-1 knockdown human fibroblasts experiment? Was SREBP pathway affected by this experiment.

3) Why the mixed strain BALB/cJ - C57BL/6J mouse model was used instead using a pure C57BL/6J. Were there any unpublished result concerning the diabetes aspect from the original BALB/cJ mouse model?

In conclusion, the thesis is well written and represents a through and very useful review of much of the important aspects of the NP-C field. This is not surprising since his Ph.D. mentor, Dr. William S. Garver, is a recognized leader in NP-C research.

I most emphatically recommend that his thesis be judged as a superior representation of the high qualities that a Ph.D. degree is meant to reflect.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Peter G. Pentchev', written in a cursive style.

Sincerely, Peter G. Pentchev