

Diplomová práce **Bc. Izabely Toman** ve studijním programu Biologie, studijním oboru Antropologie a genetika člověka v rámci Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy byla zpracována pod vedením Mgr. Josefa Včeláka a byla komisi předložena v dubnu 2022. Název této práce je „**Stanovení mutačního spektra a frekvenčního zastoupení variant u genů zapojených v signalizační kaskádě melanokortinového receptoru 4. typu (MC4R)**“.

Práce má celkem 94 stránek včetně čtyř stránek příloh zahrnující popis použitých primerů a 15 stránek seznamu literatury. Text diplomové práce je rozdělen na úvodní část o 28 stránkách, 14 stránek je věnováno metodice, oproti tomu jsou výsledky a diskuze shrnuty na 16 stránkách. Cílem práce byla identifikace mutací ve vybraných genech centrálního nervového systému, které mají vliv na energetickou bilanci. Byly studovány geny pro MC4R, POMC, SIM1 a BDNF. Kromě mutací genu pro MC4R se v ostatních případech jedná o raritní případy monogenně podmíněné obezity. Cíle práce byly jasně definovány a byly splněny.

Úvodní část práce velmi podrobně popisuje energetickou bilanci na úrovni centrálního nervového systému. Některé její části jsou velmi podrobné oproti např. velmi krátkému odstavci o dvou větách o kaskádě MC4R (str. 17). Není zcela pravdivé, že monogenní formy obezity jsou spojeny s deficitem růstového hormonu, jak uvádí autorka na straně 26. Zároveň není korektní tvrzení, že donedávna bariatrické výkony byly jedinou dlouhodobou léčbou morbidní obezity u monogenních forem obezity. Bariatrické výkony díky často přítomné hyperfagie jsou u těchto pacientů kontraindikované (str. 26). Jedinci s mutací POMC genu nemusí vždy být rusovlasí, jelikož záleží na lokalizaci mutace v tomto genu (str. 27).

V rámci úvodu v kapitole 5 týkající se možnosti léčby není zcela jasné, zda se autorka chtěla zaměřit jen na monogenní formy obezity, či i na polygenní/běžnou formu obezity. Jelikož je uváděn liraglutid, tedy lék pro běžnou obezitu, pak by bylo vhodné uvést i základní terapeutický přístup, což je ovlivnění životního stylu obézního pacienta a rodiny. U liraglutidu autorka uvádí, že užívání u dětí je kontraindikováno, ale k upřesnění by bylo korektní zmínit, že tento lék je schválený k užívání od věku 12 let. Do možnosti léčby byla opomenuta léčba leptinem u mutace genu pro leptin. Dále jsou k dispozici další antiobezitika kromě uvedeného liraglutidu (např. topimarát). V odstavci o setmelanotidu, jako léku schváleného pro léčbu obezity u jedinců s mutací genů pro POMC, LEPR či PCSK1, není zmínka o příznivému vlivu na tělesnou hmotnost a skóre hladu a dále jeho nežádoucí účinek, jakým je hyperpigmentace kůže a vlasů. V kapitole 6.1. o prevalenci mutací genu pro MC4R není citována studie na české kohortě dětí s časně vzniklou obezitou, kdy prevalence dosahovala 2,4 % (Hainerová et al. 2007).

Metodika je popsána jasně a je doplněná o názorné obrázky a tabulky. V metodické části se mj. autorka věnuje možným přístupům, jak odhalit u genové varianty, zda se jedná o kauzální variantu, či jen běžně vyskytující se variantu. Jsou prezentovány histogramy směrodatných odchylek BMI ze souboru COPAT. Není jasné, jaká byla průměrná hodnota z-skóre BMI u kohorty tzv. extrémně obézních pacientů z FN Olomouc. Odkazy na literaturu a seznam použité literatury je v pořádku.

Výsledky práce jsou prezentovány formou devíti tabulek na celkem šesti stránkách (str. 56-62). Bylo identifikováno 8 mutací genu pro MC4R, dvě mutace genu pro POMC a dvě mutace v genu SIM1, z čehož dvě varianty byly doposud v literatuře nepopsané. Pro názornost by bylo vhodnější všechny informace a výsledky k jednomu genu vždy dát do jedné tabulky. Výsledky a diskuze by mohly být více rozvinuty. Diskuze prezentuje jednotlivé

kazuistiky jednotlivých variant genů a je doplněna o percentilové grafy jednotlivých probandů. Nalezená heterozygotní varianta Gly181Asp MC4R genu byla již dříve nalezena v homozygotní formě u jednoho českého adolescenta (Hainerová et al. 2007), u kterého oba rodiče byli heterozygotní nositelé a vykazovali BMI 35 kg/m². Je známo, že heterozygotní nositelé mohou vykazovat nadměrnou tělesnou, avšak nižší než homozygotní nositelé mutace.

V závěru práce postrádám určitý nástin vize do budoucnosti s ohledem na vyšetření monogenních forem obezity, příp. laboratorní techniky těchto vyšetření.

Minoritní komentář k textu diplomové práce

V abstraktu by bylo vhodné konkretizovat vzorek dětí a dospívajících (tj. reprezentativní, či obézních pacientů apod.). Seznamy zkratk nejsou sjednocené a bylo by lepší je uvádět i v anglickém jazyce, jelikož se jedná často o výrazy, které vycházejí z anglické terminologie. Ve vysvětlivkách je chybně uveden ACTH jako acetylcholin místo adrenokortikotropního hormonu.

V textu se vyskytuje řada formálních nedokonalostí a nepřesností. Formát tabulek s popisky je poněkud nestandardní, kdy nadpis je kurzívou pod tabulkou velmi malými písmeny. V textu práce by někdy bylo vhodné volit některá vyjádření opatrněji (např. str. 11 – minimální efekt některých léčebných přístupů u monogenních obezit není zcela pravda, jelikož i nositelé mutace v genu pro MC4R při redukčním režimu byli schopni snížit tělesnou hmotnost, tak i po některých bariatrických výkonech). Na straně 12 výrok „bylo objeveno mnoho genů, které obezitu mohou ovlivňovat nebo ji přímo způsobují“ není zcela korektní. Z dosavadních znalostí je známo, že genetika ze 40-70 % ovlivňuje tělesnou hmotnost, a že existují nejen orexigenní geny, ale i protektivní varianty, které naopak chrání proti nárůstu tělesné hmotnosti. Obdobná nepřesnost je i na straně 13, kdy je uvedeno, že CNS hraje klíčovou úlohu v rozvoji i prevenci obezity – jedná se opět spíše o regulaci energetické bilance a tělesné hmotnosti.

Opakovaně jsou nepřesně uvedeny názvy některých peptidů (např. AgRP – aguti, single minded homolog apod.) – některé je vhodnější ponechat v anglickém znění (BDNF), či jiných termínů (např. místo sekrece je užito „vypouštění“ na str. 23, místo „doby hladu“ užít hladomor na str. 34). Opakovaně termín nucleus je autorkou psán s „k“ (např. str. 14, 15, 16, 23, 29, apod.). Na str. 14 je lepší termín hypothyreóza než hypothyroidismus a místo neplodnost uvést hypogonadismus ve fenotypickém projevu nositelů mutace genu pro leptin. Centrum potravní není zcela běžně užívaný termín – lépe volit centrum hladu (str. 15). Pokud je užít termín gen, pak daný gen se nepíše kurzívou. V textu se vyskytují překlepy a formální nepřesnosti (např. str. 8: homeostaza →homeostáza, hematoencefalickou barierou na str. 15, melanocortinový na str. 17, psaní g proteinu na str. 28 a další).

Závěrem si dovoluji tuto diplomovou práci doporučit k obhajobě a navrhuji tuto práci klasifikovat známkou: 2.

Doplňující otázky

- 1) Byla by kolegyně tak laskavá a popsala nám, jakých laboratorních úkonů se přímo účastnila a sama prováděla?

- 2) Mutace studovaných genů byly nalezeny u 15 dívek a 5 chlapců. Máte nějaké vysvětlení pro skutečnost, že mutace byly více zastoupeny u dívek?
- 3) Pro klinika – pediatra, či dětského endokrinologa – jaká klinická kritéria byste ke genetickému skríninku na monogenní formy obezity navrhovala?
- 4) V některých případech, jak sama uvádíte, je složité určit kauzalitu určité varianty genu vzhledem k určitému fenotypu – v těchto nejasných případech o jakých dalších vyšetřeních/postupech byste uvažovala?
- 5) Na závěr mi dovoluete dotaz týkající se důvodu skríninku genů týkající se monogeních, tedy nejtěžších forem obezit, v reprezentativním vzorku dětské populace.

V Praze dne 25. května 2022

Doc. MUDr. Irena Aldhoon Hainerová, Ph.D.