

## Oponentský posudek doktorské dizertační práce Mgr. Dany Dlouhé

### Role genu pro FTO v genetické determinaci „civilizačních“ onemocnění

Předložená dizertace se zabývá genem FTO jako možným genetickým přispěvatelem k rozvoji řady závažných onemocnění. Konkrétně se jedná o vztah mezi polymorfismy genu FTO a BMI, poklesem BMI po intervenci zahrnující změnu životního stylu, akutním koronární syndromem, koncového stádia renálního selhávání, kolorektální rakovinou, vznikem závislosti na kouření a alkoholu a počtem krevních destiček u různých subpopulací. Jelikož je část experimentální část práce věnována genetickým analýzám na specifických souborech nemocných, výsledky práce by případně mohly být v budoucnu uplatněny při prevenci či personalizaci léčby těchto onemocnění s ohledem na zjištěný genotyp. Práce je založená na obdivuhodném počtu publikací 10 původních publikací, celkově je autorka spoluautorkou 14 publikací s úctyhodným kumulativním IF 32,97, což svědčí o nadprůměrné vědecké produktivitě. Jedna z publikací byla již citována v časopisech s vysokým IF (Nature Review: Endocrinology a Nature Genetics). Mgr. Dana Dlouhá je první autorkou tří publikací a ve třech případech je druhou autorkou. Publikace jsou doplněny společným úvodem, souhrnem analyzovaných populací, popisem metod, komentářem výsledků a jejich diskuzí, závěrem a seznamem citací.

Práce je předkládána v češtině.

Publikace jsou převážně založeny na analýze výskytu polymorfismů v genu FTO (pomocí PCR a restriční analýzy) v rozsáhlých populacích. Není tedy sporu, že podkladem dizertace je usilovná práce nejen v rámci vlastních experimentů, ale i v rámci následných analýz. Proto je velká škoda, že autorka nevěnovala dostatek pozornosti formální úpravě práce a v práci se objevily i chyby faktické.

Abstrakt popisuje zaměření práce, chybí mu však závěr. Abstrakt v dizertaci se navíc výrazně odlišuje od abstraktu v autoreferátu. Důvod této odlišnosti mi není jasný. Cíle nebyly samostatně vymezeny. Objevují se pouze v abstraktu (a to ještě dost nešikovným způsobem) a dále jsou zmíněny ve výsledkové části. Překvapivě, v autoreferátu jim samostatná kapitola věnována byla. Literární úvod seznamuje čtenáře s charakteristikami genu FTO, s fenotypickými projevy jeho mutací či ztráty, a s dosud popsanými asociacemi variant tohoto genu s BMI a různými onemocněními. Přehled publikovaných asociačních analýz zaměřených na vztah variant FTO s BMI byl zpracován do formy tabulky. Úvod je až překvapivě stručný (10 normostran) a bohužel nepokrývá oblast řešenou ve čtvrté části výsledků (ta je věnována metylacím a stárnutí). Neškodilo by doplnit i nejnovější informace ohledně funkce FTO a regulace jeho exprese (řada z nich vyšla před prosincem 2013, kdy byla dizertační práce odevzdána). Grafická úprava Úvodu, ale vlastně i celé práce je na základní úrovni a její zlepšení by napomohlo lepší orientaci v samotném textu.

Po úvodu následuje seznam a popis analyzovaných populací a sekce věnovaná metodice (izolace DNA, analýza FTO genotypu a mRNA exprese, analýza délky telomer a celkové metylace DNA).

Kapitola Komentáře k výsledkům a diskuze je spíše jen komentářem výsledků, které nejsou v pravém slova smyslu příliš rozsáhle diskutovány. Svědčí o tom i fakt, že je v této kapitole uvedeno relativně málo odkazů na související práce. Z komentáře navíc ne vždy dokáže čtenář pochopit základní myšlenku, proč byla ta která studie dělána (resp. proč se autoři zaměřovali na asociace s tím daným fenotypem), ačkoliv hypotézy jsou v originálních publikacích celkem jasně stanoveny.

Závěr se sepsán stručně a jasně.

V dizertaci se objevila i řada faktických chyb, které se objevovaly zejména ve čtvrté části výsledků. Ty nejvýznamnější uvádím:

Na str. 33 je uveden obrázek 2 znázorňující srovnání globální úrovně metylace DNA u studovaných jedinců během periody 20 let. Z obrázku je jasně patrné, že po 20 letech dochází ke zvýšení metylace, autorka

v textu dizertace ale tento výsledek komentuje opačně. U těchto analýz navíc není jasné, proč byla do výsledkové části zařazena, když nevykazují žádný vztah ke genu FTO. Na str. 37 je uvedeno, že u kuřáků s genotypem GG v jednom z polymorfismů genu FTO byla nalezena nižší DNA metylace. P hodnota je přitom na hodnotě 0,869, což o významném rozdílu nenasvědčuje. Tento rozpor mezi výsledkem a jeho interpretací se na stejné straně objevuje ještě několikrát. Domnívám se, že přidání zmiňovaných výsledků, dizertační práci spíše ublížilo.

Na str. 25 je uvedeno: „Výsledky naší práce potvrdil nálezný Doney a kol (2009)“. Z tohoto vyjádření jsem usoudila, že práce Doney et al byla publikována později. Uváděný článek Doney et al přitom vyšel o rok dříve než práce Mgr. Dlouhé a dalších autorů (Hubacek et al, 2010: A FTO variant and risk of acute coronary syndrome). Hubacek et al, 2010, v diskuzi přímo uvádí „Our results extend findings of Doney et al.“

Na str. 19 je v Metodách popsáno, že bylo použito 13 gDNA vzorků k určení exprese FTO. Zjevně mělo jít o RNA vzorky.

K práci mám několik dotazů:

1. Polymorfismus FTO genu v oblasti intronu 1 byl u lidí prokazatelně spojen s BMI. Mutace v kódující oblasti FTO přitom nesou jak štíhlí, tak obézní jedinci. Jak by bylo možné vysvětlit efekty polymorfismů FTO v nekódujících oblastech, když heterozygotní ztráta funkce proteinu tak významný efekt pravděpodobně nemá?
2. Byl proveden follow up u skupiny 107 žen (které podstoupily redukční dietu spojenou se zvýšením pohybové aktivity), který by mohl ukázat, zda má určitá alela FTO vliv na schopnost udržet novou sníženou hmotnost?
3. Z obrázku 1 v Publikaci II je patrné, že nositelky genotypu GG (v rámci polymorfismu rs17817449) se lišily v iničiálním BMI od nositelek genotypu TT. Byl tento rozdíl statisticky odlišný?
4. Jak si vysvětlujete nepřítomnost vztahu mezi genotypem FTO a BMI poklesem u obézních žen podstupujících dietní intervenci, jestliže tento vztah byl prokázán u obézních dětí?

Závěr:

Mgr. Dlouhá prokázala, že zvládla řadu molekulárně biologických metod, nutných k provedení popsaných a publikovaných analýz. Předložené výsledky rozvíjejí dosavadní úroveň poznání role genu FTO v rozvoji obezity a různých závažných onemocnění a mohou být i podkladem pro nové strategie vedoucí k prevenci či personalizované léčbě daných onemocnění. Práce ovšem v sobě nese řadu nedostatků (nedefinované cíle, nedostatečný literární úvod a diskuzi výsledků, některé faktické chyby v interpretaci výsledků).

**Přes uvedené, dle mého názoru mnohdy i závažné nedostatky, práci založenou na úctyhodném počtu publikací doporučuji k obhajobě.**

Lenka Rossmeislová, PhD.

V Praze 5.2.2014

Ústav tělovýchovného lékařství

3. LF UK v Praze