

**Oponentský posudek dizertační práce**  
**MUDr Barbora Obermannová**  
**Vybraná monogenně podmíněná endokrinní onemocnění**  
**v dětském věku.**

**Tema habilitační práce a jeho aktuálnost**

Dizertační práce má dvě části: V první části se autorka věnuje deficitu transkripčního faktoru PROP1 jako nejčastější poruše embryonálního vývoje hypofýzy. Zabývá se četností mutací PROP1 v české, litevské a evropské populaci, funkčním dopadem na jeho hormonální fenotyp a vývoj velikosti hypofýzy u postižených jedinců. Samostatně provedla laboratorní molekulárně genetickou analýzu mutací, hodnocení hormonálních deficitů a hodnocení velikosti hypofýz z vyšetření magnetickou rezonancí.

V druhé části uvádí dvě kazuistiky dětí s vrozenými poruchami kalcium-sensing receptoru na podkladě mutací v CASR genu. Zde také samostatně provedla molekulárně genetické vyšetření a funkční charakterizaci mutace in vitro.

Molekulárně genetické problematice u dětí se Dr Obermannová věnuje po celou dobu svého postgraduálního studia. Za tu dobu uveřejnila 8 prací v časopisech s impact faktorem (z toho dvakrát jako první autorka), podílela se na dvou kapitolách v monografiích, v tuzemských časopisech publikovala 3 sdělení, vždy jako první autorka, sama přednášela na 5 mezinárodních a 3 domácích sjezdech a presentovala na sjezdech 7 posterů, z toho 4 v zahraničí. Impact faktor časopisů, kde publikovala, dosahoval 6,43.

O aktuálnosti a diagnostické potřebě molekulárně genetických metod ve všech lékařských oborech dnes nikdo nepochybuje. Zvláště důležité je však genetické vyšetření v pediatrii, protože umožňuje včasnou diagnostiku a dle možností i léčbu vrozených genetických poruch.

Práce první části dizertace Dr Obermannové nám pomáhají lépe diagnostikovat a klinicky posuzovat nemocné s nejčastější mutací PROP1 genu u vrozeného kombinovaného deficitu hypofyzárních hormonů. Zaměřila se na studium nejen postižených dětí v České republice, ale rovněž na mezinárodní studii v několika státech střední a východní Evropy, především Litvy. Tato studie se stala dosud největší publikovanou studií nemocných s PROP1 deficitem. Z její práce vyplývá, že genetické vyšetření PROP1 genu je u dětí s kombinovaným deficitem hypofyzárních hormonů nezbytné, kdežto u dětí s pouhým deficitem růstového hormonu není nutné. Současně prokázala bifazický průběh ve velikosti hypofýzy u postižených jedinců – postupné zvětšování, maximum velikosti ve druhé dekádě a následnou hypoplazii. Z práce vyplývá, že i když hypofýsa může dosáhnout velkých rozměrů, není nikdy příčinou nitrolební hypertenze a není indikací pro neurochirurgickou intervenci.

Práce druhé části prezentuje dětské pacienty s poruchou příštítných tělísek na podkladě změny kalcium-sensing receptoru při mutaci v CASR genu. Pomocí laboratorních studií in vitro vysvětluje mechanismus funkční poruchy receptoru a analýzou klinických projevů vysvětluje patofyziologii onemocnění. U těchto nemocných s mutací CASR genu je genetická diagnosa nutná, protože ovlivňuje terapeutický postup a prognosu a vede ke genetickému vyšetření v postižených rodinách se záchytem dalších i subklinicky postižených rodinných příslušníků.

## **Zpracování tématu habilitační práce**

Za základ pro disertační práci Dr Obermannové jsou její publikace především v časopisech s impakt faktorem.

Vlastní disertační práce má 72 stran. Obsahuje seznam zkratk, anotaci, presentaci tématu I – transkripční faktor PROP1 a téma 2 – kalcium sensing receptor. U obou témat je uveden úvod do problému, hypotéza řešeného problému, cíle práce, metodika, výsledky jednotlivých studií, diskuse a závěr. Následuje souhrn, seznam použité literatury a seznam článků a presentací autorky.

U prvního tématu úvod do problému obsahuje podrobný popis fyziologie hypofýzy a její molekulární podstatu a úlohu PROP1 genu a klinické důsledky jeho mutací. V části Hypotéza uvádí cíle řešené problematiky a její dopady na naše znalosti a klinickou důležitost.

Autorka si položila cíle, které řešila ve třech studiích. Prvá studie se zaměřila na studium mutací v PROP1 genu ve skupině českých pacientů s kombinovaným i izolovaným deficitem růstového hormonu. Studie měla posoudit výtěžnost rutinního vyšetřování mutací s následným doporučením, kde je nezbytné provádět toto vyšetření v běžné klinické praxi. Druhá studie byla multicentrická – ze zemí střední a východní Evropy. Kromě početního zastoupení jednotlivých mutovaných alel v PROP1 genu měla druhá studie posoudit vývoj velikosti a morfologie hypofýzy v průběhu života.

Třetí studie se týkala vyšetření nemocných s kombinovaným deficitem hypofyzárních hormonů ve skupině litevských pacientů ve smyslu stanovení prevalence mutací PROP1 genu a jejich fenotypová charakterizace podle fenotypického dotazníku.

U druhého tématu popisuje autorka nejprve podrobně strukturu a fyziologii kalcium-sensing receptoru v příštítých tělíscích a dále si všímá patologie tohoto receptoru a jejich vztah k mutacím v genu pro tento receptor (CASR). Autorka provedla samostatně molekulárně genetické vyšetření CASR genu u dvou dětských nemocných s podezřením na dysfunkci kalcium-sensing receptoru a funkční charakterizaci mutace in vitro. U druhého z pacientů byla nově nalezena mutace, na jejímž stanovení se autorka podílela při své stáži na McGill University v Montréalu. U tohoto pacienta prezentuje funkční analýzu nově zjištěné mutace. Dále popisuje vztah zjištěných mutací k fenotypu vyšetřovaných a všímá si jejich léčby.

## **Vyjádření ke zvoleným vědeckým metodám zpracování tématu.**

Z výčtu použitých metod je patrné, že autorka pracuje s moderními molekulárně genetickými metodami, které její pracoviště staví na úroveň moderních světových laboratoří zabývajících se molekulární genetikou v endokrinologii.

## **Úroveň publikací, které jsou součástí disertační práce.**

Molekulárně genetické problematice u dětí se Dr Obermannová věnuje po celou dobu svého postgraduálního studia. Za tu dobu uveřejnila 8 prací v časopisech s impact faktorem (z toho dvakrát jako první autorka), podílela se na dvou kapitolách v monografiích, v tuzemských časopisech publikovala 3 sdělení, vždy jako první autorka, sama přednášela na 5 mezinárodních a 3 domácích sjezdech a prezentovala na sjezdech 7 posterů, z toho 4 v zahraničí. Impact faktor časopisů, kde publikovala, dosahoval 6,43. Publikace považuji za velmi kvalitní a objevné.

## **Hlavní dosažené výsledky a jejich význam pro aplikaci v praxi.**

Práce první části dizertace Dr Obermannové nám pomáhají lépe diagnostikovat a klinicky posuzovat nemocné s nejčastější mutací PROP1 genu u vrozeného kombinovaného deficitu

hypofyzárních hormonů. Zaměřila se na studium nejen postižených dětí v České republice, ale rovněž na mezinárodní studii v několika státech střední a východní Evropy, především Litvy. Tato studie se stala dosud největší publikovanou multicentrická mezinárodní studií nemocných s PROP1 deficitem.

Z její práce vyplývá, že genetické vyšetření PROP1 genu je u dětí s kombinovaným deficitem hypofyzárních hormonů nezbytné, kdežto u dětí s pouhým deficitem růstového hormonu není nutné. Současně prokázala bifazický průběh ve velikosti hypofýzy u postižených jedinců – postupné zvětšování velikosti hypofýzy do maxima velikosti ve druhé životní dekádě a následný vývoj hypofyzární hypoplazii. Podmínkou zjištění jsou ovšem pravidelná opakovaná vyšetření pomocí MRI. Pokud chybějí, může se zdát, že se hypofýza od prvního roku do dospělosti zmenšuje. Z práce vyplývá, že i když hypofýza může dosáhnout velkých rozměrů, není nikdy příčinou nitrolební hypertenze a není indikací pro neurochirurgickou intervenci. V litevské studii zjistila největší prevalenci deficitu PROP1 genu na světě (64% vyšetřovaných). Etnicky a geneticky homogenní skupina litevských pacientů umožnila precizní fenotypovou analýzu. Zjistila, že heterozygotní rodiče mají normální dospělou výšku a heterozygotie mutace PROP1 tedy nepostihuje lineární růst. Porodní hmotnost i výška u všech pacientů s PROP1 mutací je normální, to vylučuje účinek mutace PROP1 genu v intrauterinním období. Pozorování autorky rovněž ukázalo, že pacienti s vyššími rodiči a tedy i vyšší předpokládanou výškou bývají méně růstově opožděni a mohou být tedy později diagnostikováni. Studie autorky rovněž prokazuje relativně častý, ale pozdní výskyt deficitu ACTH u postižených jedinců. Zanedbání opakovaného vyšetření tohoto deficitu může tak vést k nepoznání diagnózy centrálního hypokortikalismu a vede tak u postižených jedinců k riziku hypokortikálních krizí, případně i náhlých smrtí při stresu.

Práce druhé části prezentuje dětské pacienty s poruchou příštítných tělísek na podkladě změny kalcium-sensing receptoru při mutaci v CASR genu. Pomocí laboratorních studií in vitro vysvětluje mechanismus funkční poruchy receptoru a analýzou klinických projevů vysvětluje patofyziologii onemocnění. U těchto nemocných s mutací CASR genu je genetická diagnosa nutná, protože ovlivňuje terapeutický postup a prognosu a vede ke genetickému vyšetření v postižených rodinách se záchytem dalších i subklinicky postižených rodinných příslušníků. U jedné z popisovaných pacientek (a u jejího otce) diagnostikovala autorka dosud nepopsanou delecí (del2703-2710) v genu CASR. Delece je aktivační a u probandky se projevila autozomálně dominantní hypokalcemií. Autorka vyvodila mechanismus zvýšené funkce mutovaného receptoru, která vede k hyperkalcemii, a následně vyvodila též správnou léčbu probandky. Dr. Obermannová tak ukazuje, že poznání genové podstaty chorob pomáhá pochopit jejich patofyziologii a nemoci dříve považované za „idiopatické“ se stávají patofyziologicky vysvětlitelnými.

### **Otázky autorce**

- 1) U PROP 1 bialelických mutací byly zjištěny deficity růstového hormonu a TSH u všech nemocných, deficity ACTH a gonadotropinů pouze zhruba jen u poloviny z nich. Je možno vysvětlit tuto diferenci?
- 2) Je znám patofyziologický podklad hyperplasie hypofýzy jako vývojového stadia hypofýzy u nemocných s PROP1 deficitem?
- 3) Je možno vysvětlit, proč měla heterozygotní mutace v CASR genu u probanda z kasuistiky č. 1 tak závažný klinický obraz? Jaká byla léčba tohoto pacienta a reakce na ní?
- 4) Je možno patofyziologicky vyvodit, jaký efekt by mělo u nemocné s autozomálně dominantní hypokalcemií použití rekombinantních derivátů parathormonu

## CELKOVÉ HODNOCENÍ

**Disertační práci MUDr Barbory Obermannové považuji za mimořádně hodnotnou a svědčící u autorky o vysokých profesionálních kvalitách a precizních znalostech a praktických dovednostech zejména v oblasti molekulární genetiky. Svoje znalosti v oblasti molekulární genetiky dovede využívat pro vysvětlování patofysiologických mechanismů onemocnění a z nich plynoucí terapie. Dizertační práce jednoznačně prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci. Doporučuji proto práci přijmout v předložené formě a na jejím základě udělit MUDr Barboře Obermannové titul PhD.**

V Praze dne 8. 4. 2014

Prof. MUDr Josef Marek, DrSc