Oponentský posudek disertační práce:

Vybraná monogenně podmíněná endokrinní onemocnění v dětském věku: patofyziologické souvislosti

Práci předkládá: **MUDr. Barbora Obermannová**, postgraduální studentka 2. lékařské fakulty, Univerzity Karlovy v Praze.

Práce má 72 stran. Po krátkém úvodu, který shrnuje význam monogenních endokrinních poruchách v dětském věku, je členěna na dvě zásadní kapitoly, které se věnují transkripčnímu faktoru PROP1 a receptoru pro vápník – Calcium Sensing Receptor (CASR).

Kapitola první Transkripční faktor PROP1:

Mutace v *PROP1* genu je nejčastější příčinou kombinovaného deficitu růstového hormonu ve střední a východní Evropě. Cílem práce bylo jednak zjistit frekvenci mutací mezi českými pacienty s kombinovaným, ale i izolovaným deficitem růstového hormonu. V případě izolovaného deficitu byla sekvenace provedena jen tam, kde byla přítomna alespoň jedna mutace c.296delGA nebo c.150delA. Mutace v *PROP1* genu byla zjištěna jen u jednoho ze z 94 pacientů s izolovaným deficitem růstového hormonu. Šlo však o heterozygotní mutaci 296delGA. Z celkem 50 pacientů s kombinovaným deficitem potom nebyla, poněkud překvapivě, nalezena mutace žádná. V této souvislosti se nabízí dvě otázky:

1) Je možné, že unikly mutace, které nepatří mezi dvě nejčastější (u izolovaného deficitu)
2) Jak se lišila vstupní kriteria studie z roku 2005 (Lebl, 2005), kde bylo nalezeno v ČR 24,3% mutací a touto studií? V obou případech jde o přítomnost alespoň jednoho dalšího deficitu kromě GH.

Dále byl popsán velký soubor (dosud největší publikovaný) pacientů s prokázaným deficitem PROP1 faktoru z šesti zemí střední a východní Evropy. Bylo prokázáno, že mutace c.296delGA je zdaleka nejčastější, následovaná mutací c.150delA. Průřezově a u menšiny pacientů také prospektivně byla hodnocena velikosti hypofýzy na MRI. Velikost hypofýzy roste od ranného dětství a dosahuje maxima okolo puberty. Potom se zmenšuje do atrofie. Nebyla prokázána korelace mezi objemem hypofýzy (nebo její výškou) a endokrinním fenotypem. Opakované MRI byla ale dostupné jen u 21 z 82 pacientů. Je proto otázka zda:

3) Nebylo zmenšení hypofýzy zatíženo chybou výběru v tom smyslu, že opakované MRI bylo provedeno častěji tam, kde byl objem největší?

Ve třetí studii byla vyšetřena přítomnost mutace *PROP1* genu u 73 dětí s deficitem růstového hormonu v Kaunasu na Litvě. Z práce ani ze článku publikovaného v JCEM není jasné, zda šlo o nemocné s kombinovaným deficitem, nebo jak byly vybráni. Bylo zjištěno 47 nosičů (64,4%) bialelnických mutací *PROP1* genu. Z nich celkem 46 homozygorů pro 296delGA. Přesto, že šlo o devět sourozeneckých dvojic a dvě trojice, je prevalence neobvykle vysoká (15,8 na milion obyvatel). Autoři uvažují o efektu zakladatele u této populace, podobně jako v menší míře jinde ve střední a východní Evropě. Chlapci měli častěji retenci varlat. Rád bych se zeptal, zda:

4) Vyšší výskyt retence varlat může souviset s přítomnosti gonadotropní nedostatečnosti již v postnatálním období?
5) Proč jsou v publikaci v JCIM nižší počty pacientů?

Ve druhé části jsou popsány výsledky genetického vyšetření, ale také funkční charakteristika kalciového receptoru CASR. V úvodu je popsána struktura receptoru, jeho fyziologie a patofyziologie, tj. choroby vzniklé jeho mutacemi, které mohou funkci snižovat a působit tak hyperparatyreózu s hyperkalcémií a v těžkých případech odvápnění kostí. Mutace, které vedou ke zvýšené citlivosti receptoru způsobí vrozenou hypokalcémii.
Jsou popsány dva případy pacientů s vrozenou mutací CASR. Jedna u novorozence s těžkou primární hyperparatyreózou a mnohočetnými frakturami, vedoucími k respirační insuficienci. Stav reagoval jen přechodně na bisfosfonáty a vyžádal si totální paratyreoidektomii ve dvou dobách. Příčinou kupodivu nebyla homozygotní mutace, ale heterozygotní mutace R185Q. Autorka sama provedla genetické vyšetření včetně průkazu mutované i normální alely ve tkáni příštítných tělísek prakticky ve stejném množství. Jde otázka,

6) Proč se heterozygotní mutace projevila v tomto případě tak těžkou novorozeneckou hyperparatyrózou a u jiné rodina tatáž mutace jen jako benigní BFHH.
7) Lze použít u novorozenců cinacalcet?

Ve druhém případě byl popsán případ familiární hypokalcémie. U zkoumané pacienty a jejího otce byla zjištěna mutace receptoru del2703-2710. Tato mutace dosud nebyla popsána. Autorka prokázala, že receptor normálně vyzrává uvnitř buňky a je lokalizován v buněčné membráně. Metodou Western botu doložila, že exprese dimerů na membráně je u mutovaného receptoru vyšší, než u receptoru normálního. Charakterizovala receptor funkčně a doložila, že mutace působí aktivačně s posunem křivky závislosti hladiny kalcia na aktivaci receptoru doleva.

Předložená disertační práce má vysokou úroveň. Autorka se podílela významnou měrou a v případě CASR výhradně na genetických vyšetřeních a charakterizaci receptorů. Byla schopna data zpracovat a diskutovat s nejnovějšími poznatky světového písemnictví. Dokládá to přijetí jejích prací do osmi časopisů se známým IF, kdy ve dvou případech je posuzovaná prvním autorem. V jednom případě šlo o nejprestižnější endokrinologický časopis JCEM. Doporučuji pro jednoznačně disertační práci v předložené formě přijmout. Práce prokázala předpoklady autora k samostatné vědecké tvořivé práci a k udělení titulu „Ph.D." za jménem.

V Hradci Králové dne 27.2.2014 prof. MUDr. Jan Čáp, CSc.