

Posudek oponenta habilitační práce

Masarykova univerzita

Fakulta

Obor řízení

Uchazeč

Pracoviště uchazeče

Habilitační práce (název)

Oponent

Pracoviště oponenta

Lékařská fakulta MU Brno

Neurologie

MUDr. Yvonne Benešová, PhD.

Neurologická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta MU Brno

Úloha genetické predispozice a vybraných biomarkerů v imunopatogenezi roztroušené sklerózy

Doc. MUDr. Radomír Taláb, CSc.

Neurologická klinika LF UK a FN Plzeň

MASARYKOVA UNIVERZITA	
Lékařská fakulta- podatelna	
Č.j./E.č.:
Datum/Čas	- 4 -12- 2018 /.....
Počet listů dokumentu:	3
Počet příl. a listů/sv.:	1 /.....
Počet a druh nelist.příloh:	1 /.....

Téma

Tématem habilitační práce je pokusit se zhodnotit význam vybraných genetických markerů v imunopatogenezi roztroušené sklerózy. Zejména pak hodnocením genetických polymorfismů, které se mohou podílet na zvýšené vnímavosti k roztroušené skleróze (RS) v české populaci, analyzovat jejich vliv na progresi choroby a hledání rozdílů mezi pohlavími vzhledem k tomu, že RS podobně jako řada dalších autoimunitních onemocnění se vyskytuje častěji u žen.

V obecné teoretické části práce je shrnuta současná úroveň informací o RS se soustředěným zájmem o rizikové faktory ovlivňující prevalenci a incidenci RS ve vztahu k etnickým a demografickým faktorům. Podrobně se věnuje práce environmentálním faktorům.

Speciální část teoretické části je věnována logicky genetickým faktorům, kde práce prokazuje velkou snahu pochopit význam genetických polymorfismů u RS a jejich vliv na pozici v patofyziologii RS s odkazem na klinické aspekty.

Volba tématu nemohla být lepší. Aplikace genetických markerů RS v klinické praxi je stále jen v úrovni teoretické a každá práce, která se pokouší diferencovat specifické genetické markery odhalující patofyziologii korelující s klinickým stavem RS je obohacující a pro klinickou praxi významná.

Cíl

Ověřit individuální genetickou predispozici k rozvoji RS, další progresi onemocnění RS a odpověď na cílenou terapii za pomoci získaných výsledků laboratorních markerů použitelných v klinické praxi.

V genetické studii je to zejména analýza genetických polymorfismů v kandidátních genech, stanovení frekvence alel a genotypové distribuce ve studovaném souboru. Ve studii enzymů potom stanovení hladin enzymů MMP-9, MMP-2 a jejich tkáňových inhibitorů TIMP-1 a TIMP-2 v séru a jejich vztah ke klinickému průběhu, stupni postižení a tíži onemocnění RS.

Struktura

Habilitační práce má celkem 140 stran – vlastní práce 117 stran.

Práce je rozdělena na část teoretickou zahrnující přehled problematiky zahrnující definici, epidemiologii RS, geografický gradient, etiopatogenezu, environmentální a genetické faktory. Dále obsahuje podrobný rozbor matrix metalloproteinázy, její strukturu genů a funkci u RS.



Druhou část tvoří vlastní výzkumná práce, která na základě formulovaných hypotéz prezentuje jednotlivé kapitoly výzkumné práce a výsledky, které byly již většinou v průběhu let publikovány, formou kompilace jednotlivých článků s komentářem a vyhodnocením v diskusi.

Seznam použité literatury zahrnuje 296 citací.

Text je přesný a srozumitelný, obrázky jej vhodně doplňují, volba literatury odpovídá tématu a její šíře je dostatečná.

Metodika a výsledky

Základem práce jsou studie typu case-control a genotypové fenotypové studie. Studie porovnává zařazené nemocné do souboru s dg. RS podle diagnostických kritérií McDonalda z roku 2001 s kontrolním souborem zdravých jedinců. K hodnocení klinického stavu u skupiny s RS bylo použito standardní skóre používané v běžné klinické praxi – EDSS (Expanded Disability Status Scale) a MSSS (Multiple Sclerosis Severity Score). Metodou genetické analýzy byla zvolena metoda polymerázové řetězové reakce (PCR) a restriční analýza. K detekci polymorfismů byla použita PCR se specifickými primery a následné restriční analýzy specifickými endonukleázami. Ke stanovení a kvantifikaci hladin enzymů MMP-2, MMP-9, TIMP-2 a TIMP-1 metodou ELISA byly použity komerční kity výrobce Amersham Biosciences UK (Buckinghamshire, UK).

Výsledky práce jsou prezentovány jednotlivými publikovanými pracemi k danému tématu v tuzemských a zahraničních odborných periodických s IF. Z nich je nutno zejména citovat publikaci: Asociace polymorfismů v genu pro matrix metaloproteinázu-2 a tkáňový inhibitor metaloproteinázy-2 s roztroušenou sklerózou (Cesk Slov Neurol N 2012;75/3:314-19) a Matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-2 as biomarkers of various courses in multiple sclerosis (Mult Scler 2009; 15(3): 316-322). Aktuální je potom poslední publikace zkoumající polymorfismus receptorů vitamínu D v kontextu s diagnózou a progresí RS: The Impact of Five VDR Polymorphisms on Multiple Sclerosis Risk and Progression: a Case-Control and Genotype-Phenotype Study (Journal of Molecular Neuroscience 28-Mar-2018; <http://doi.org/10.1007/s12031-018-1034-1>).

Z výsledků vyšetřené genetické polymorfismu rs3135388 v genu HLA-DRB1*1501 byl prokázán rizikový faktor vnímavosti k rozvoji RS v české populaci ve shodě s citovanými výzkumnými projekty. Bylo dále prokázáno, že rs3135388 polymorfismus je funkční a alela A koreluje se zvýšenou expresí DRB1, DRB5 a DQB1 genů u bělochů. Vysoká korelace tohoto polymorfismu s alelou HLA DRB1*1501 a rizikem rozvoje onemocnění je prezentována jako důkaz pro využití tohoto biomarkeru v klinické praxi.

Ukazuje se, že i geny mimo oblast HLA se mohou podílet na rozvoji a progresi RS. Zkoumaný gen IL7RA kóduje povrchový znak CD 127 receptoru IL-7. Významnou měrou se podílí na patogenezi a progresi zánětlivého procesu v RS plakách. Výzkum genetického polymorfismu rs6897932 lokalizovaná v exonu genu IL7RA v definovaných souborech neprokázal asociace mezi skupinou nemocných a zdravých jedinců ve vyšetřené polymorfismu. Byla nalezena hraniční asociace polymorfismu rs6897932 v genu IL7RA s vyšším rizikem rozvoje RS u mužů. Polymorfismus rs6897932 však obecně není rizikovým faktorem vnímavosti k RS v české populaci.

Stanovení hladin matrix metaloproteináz (MMPs) a jejich inhibitorů se ukazuje jako možný biomarker u RS, ať již při hodnocení aktivity a průběhu onemocnění nebo při monitorování léčby RS. Prezentovány jsou výsledky sérových hladin MMP-9 s její hladinou v likvoru a klinickou aktivitou objektivizovanou na magnetické rezonanci (MR). MMP-2 byla prokázána v séru nemocných s primárně/progresivní formou RS. Zvýšená exprese MMP-2 pravděpodobně reflektuje tkáňovou destrukci nervové tkáně v chronických lézích, ve kterých hraje zásadní roli B-lymfocytární subpiální infiltrace a spolupodílí se na zvýšené sérové hladině MMP-2. Obě MMP-9 a MMP-2 mají význam. Prezentované výsledky ukazují korelace mezi sníženou hladinou MMP-9 a MMP-2 a redukcí sytících se lézí gadolinem u pacientů s R/R formou RS. Účinnost léčby IFN-beta je pravděpodobně ovlivněna inhibicí exprese MMP-2 a MMP-9 v astrocytech a MMP-9 v mikroglii. Výzkumy v této oblasti

podporují hypotézu vývoje specifických endogenních a syntetických inhibitorů MMPs s uplatněním v léčbě nejenom RS, ale i ostatních neurodegenerativních onemocnění.

V neposlední řadě je nutno upozornit na zjištěné asociace polymorfismů (rs4516035, rs731236, rs7975232, rs1544410) v genu pro receptor vitamínu D s vyšším rizikem rozvoje RS u mužů. Dále byla nalezena asociace polymorfismu (rs7975232) v genu pro receptor vitamínu D s vyšším rizikem rozvoje RS u žen. Také byla nalezena asociace polymorfismu (rs4516035) v genu pro receptor vitamínu D s vyšším rizikem rozvoje primárně/progresivní RS u žen.

Význam pro praxi

Habilitační práce prezentovanými výsledky prokázala nejenom význam vybraných genetických biomarkerů v patogenezi RS, ale i jejich možnost použití v klinické praxi. Ocenit je nutno snahu definovat biomarkery použitelné v klinické praxi, zejména stanovení sérové hladiny MMP-2 a MMP-9. Také jejich prezentace možného využití při monitorování v průběhu léčby RS (IFN-beta).

V neposlední řadě je to prezentace polymorfismů v genu pro receptor vitamínu D by mohl být markerem rizika rozvoje RS, zejména u žen, bez ohledu na formu RS.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

1. Zda je natolik objasněná role MMP-2 a MMP-9 v patogenezi RS, aby mohla změnit současnou pozici „off label“ intravenózních imunoglobulinů (IVIg) a dexamethasonu v léčbě RS?
2. Kdy by bylo vhodné vyšetřovat prezentované biomarkery, zda v průběhu prvotní diagnostiky RS a nebo pouze v průběhu onemocnění, relapsu a léčby?
3. Jakou míru specifity v algoritmu diagnostiky a monitorování průběhu RS včetně účinnosti léčby, mají prezentované biomarkery?
4. Které ze studovaných a prezentovaných biomarkerů by byly doporučeny pro klinickou praxi?
5. Existují pro vyšetřování těchto biomarkerů kódy zdravotních výkonů a tedy jejich úhrada ze zdravotního pojištění?

Závěr

Habilitační práce MUDr. Yvonne Benešové, Ph.D. „**Úloha genetické predispozice a vybraných biomarkerů v imunopatogenezi roztroušené sklerózy**“ splňuje požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Neurologie.

V Plzni dne 30.11.2018

.....
podpis