

Posudek oponenta habilitační práce

Masarykova univerzita	Lékařská fakulta MU Brno
Fakulta	Neurologie
Obor řízení	<i>MUDr. Yvonne Benešová, PhD.</i>
Uchazeč	Neurologická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta MU Brno
Pracoviště uchazeče	
Habilitační práce (název)	<i>Úloha genetické predispozice a vybraných biomarkerů v imunopatogenezi roztroušené sklerózy</i>
Oponent	Doc. MUDr. Radomír Taláb, CSc.
Pracoviště oponenta	Neurologická klinika LF UK a FN Plzeň

Text posudku

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 laboratorních markerů použitelných v klinické praxi.

Struktura

Habilitační práce má celkem 132 stran – vlastní práce 109 stran.

Práce je rozdělena na část teoretickou zahrnující přehled problematiky zahrnující definici, epidemiologii RS, geografický gradient, etiopatogenézu, environmentální a genetické faktory. Obsahuje podrobný rozbor matrix metalloproteinázy, její strukturu genů a funkci u RS. Druhou část tvoří vlastní výzkumná práce, kde na základě formulovaných hypotéz prezentuje jednotlivé části výzkumné práce a výsledky, které byly již většinou v průběhu let publikovány, a jsou prezentovány 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

Práce se opírá o výsledky studie typu case-control a genotypové fenotypové studie. Studie porovnává zařazené nemocné 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 standardních skóre používaných 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 odkazem na publikované práce k danému tématu v tuzemských a zahraničních odborných periodických s IF. Z nich je nutno ocenit zejména publikaci: Asociace polymorfismů v genu pro matrix metalloproteinázu-2 a tkáňový inhibitor metalloproteinázy-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 Scle 2009; 15(3): 316-322).

Pozornosti by neměla uniknout práce věnovaná genetickému polymorfismu: Association of IL7RA rs6897932 gene polymorphism with multiple sclerosis (European Journal of Neurology 2014; 21:(Suppl.1;686).

Z výsledků vyšetřené genetického 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 lokalizovaný 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 metalloproteináz (MMPs) a jejich inhibitorů se ukazuje být slibným biomarkerem u RS, ať už při posuzování aktivity a průběhu onemocnění nebo při monitorování léčby RS. Prezentovány jsou výsledky sérových hladin MMP-9 a MMP-2, zejména s poukazem na korelaci zvýšených 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. Byla zjištěna korelace mezi sníženou hladinou MMP-9 a MMP-2 a redukcí sytících se lézí gadoliniem 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.

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 i jejich možné využití v hodnocení účinnosti léčby IFN-beta.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

Zda je natolik známá role MMP-2 a MMP-9 v patogenezi RS aby mohla ovlivnit současné názory na pozici „off label“ intravenózních imunoglobulinů (IVIg) a dexamethasonu v léčbě RS?

Kdy by bylo vhodné vyšetřovat prezentované biomarkery, zda v průběhu prvotní diagnostiky nebo pouze v průběhu onemocnění, relapsu a léčby.

Jakou míru specifity v algoritmu diagnostiky a monitorování průběhu RS včetně účinnosti léčby, mají prezentované biomarkery.

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 26. dubna 2017