

Posudek oponenta habilitační práce

Oponent: Doc. MUDr. Petr Němec, Ph.D.

Pracoviště: II. interní klinika, FN u sv. Anny v Brně a LF MU Brno

Univerzita Karlova

Fakulta: Lékařská fakulta v Hradci Králové

Uchazeč: MUDr. Tomáš Soukup, Ph.D.

Habilitační práce: „Farmakogenetika methotrexátu v léčbě revmatoidní artritidy se zaměřením na jednonukleotidové polymorfismy genu pro metylenetetrahydrofolát reduktasu“

Předmětem habilitační práce je farmakogenetický výzkum studující vliv vybraných polymorfismů genů podílejících se na farmakodynamickém a farmakokinetickém účinku metotrexátu (MTX) v terapii revmatoidní artritidy (RA). MUDr. Tomáš Soukup, Ph.D. se uvedené problematice věnuje delší dobu a na tomto poli publikoval řadu vlastních pozorování. Jeho zájem se zaměřuje především na jednonukleotidové polymorfismy (SNP) genu pro metylenetetrahydrofolát reduktázu.

Habilitační práce je rozdělena do 8 kapitol a má zvyklé členění. V teoretickém úvodu se autor věnuje farmakologickým a farmakogenetickým aspektům MTX a dalšího ze syntetických chorobu modifikujících léků leflunomidu. V jednotlivých kapitolách jsou shrnuty základní farmakodynamické a farmakokinetické údaje o MTX, data o účinnosti a bezpečnosti léčby RA MTX, jeho postavení v současném schématu léčby RA a podrobněji jsou uvedena známá farmakogenetická data týkající obou léčiv. V této části autor uvádí přehled doposud studovaných SNP genů pro transportní molekuly MTX, polyglutamaci MTX, metabolismu folátů, syntézy pyrimidinů, metabolismus adenosinu a další.

Práce čítá 136 stran textu, 48 tabulek a 9 obrazů a grafů. Autor uvádí k vlastnímu textu habilitační práce 213 citací uvedených v pořadí výskytu reference v textu práce. Dále je uváděn seznam použitých zkratk a přílohy zahrnující 7 odborných článků, které doktor Soukup in extenso na dané téma publikoval jako hlavní autor případně spoluautor převážně v zahraničních impaktovaných odborných periodících.

Do studie bylo zařazeno 185 pacientů s RA (120 pacientů s kompletně dostupnými daty) a 70 zdravých kontrol. Soubor pacientů byl při vstupu do studie podrobně vyšetřen (demografická data, klinické vyšetření, podrobné laboratorní vyšetření). Efekt léčby MTX byl

hodnocen podle kritérií EULAR (respondéři vs. non-respondéři) a průměrnou změnou skóre DAS28 po 6-ti měsících léčby MTX. Standardizovanými metodami byla provedena detekce genotypů jednotlivých SNP. Bylo provedeno podrobné statistické hodnocení za použití adekvátně zvolených standardizovaných statistických testů a analýz.

Cíle práce jsou definovány v kapitole 2 na stranách 37, 38. Hlavním cílem práce bylo zjistit, zda studované SNP metabolických cest MTX predikují efekt perorální nízkodávkové léčby MTX u kohorty pacientů kavkazské populace s RA z Východočeského regionu. Studovány byly následující SNP: (MTHFD1 1958G>A (rs2236225), MTHFR gen 677C>T (rs1801133), 1298A>C (rs1801131), ATIC 347C>G (rs2372536), AMPD1 34C>T (rs17602729), ITPA 94C>A (rs1127354), ADORA2A: 24825511C>T (rs2298383), 4217241T>C (rs3761422), 4221164T>C (rs2267076), 4226593T>C (rs2236624), SLC01B1 T>C (rs4149056). Vedlejšími cíli práce bylo:

- porovnat distribuci jednotlivých genotypů studovaných SNP mezi sledovaným souborem pacientů s RA a kontrolní skupinou a zjistit tak případnou vnímavost studovaných genotypů pro rozvoj RA
- analyzovat vliv kombinací studovaných SNP na predikci léčebné odpovědi při nízkodávkové perorální léčbě MTX pacientů s RA
- analyzovat vztah studovaných SNP k riziku vývoje nežádoucích účinků léčby MTX
- zjistit zda vybrané SNP mohou predikovat tvorbu revmatoidních uzlů u studované kohorty RA pacientů léčených nízkodávkovou perorální léčbou MTX.

Vlastní výsledky práce jsou prezentovány v kapitole 4, jsou členěny do podkapitol podle jednotlivě vytýčených cílů habilitační práce. Výsledky jsou prezentovány textovou formou, která je doplněna četnými tabulkami a grafy.

Shrnuji nejdůležitější poznatky práce:

- *Nebyla zjištěna spojitost mezi SNP genu pro MTHFR a efektem léčby MTX (respondéři vs. non-respondéři podle kritérií EULAR) v kohortě pacientů s RA při hodnocení tzv. dominantním, recesivním a ko-dominantním modelem. Bylo zjištěno, že genotyp 677CT a 1298 AC je spojen s horší odpovědí na léčbu MTX (hodnoceno Δ DAS28 po 6-ti měsících léčby), ale pouze ve skupině léčené monoterapií MTX. Současně byl pozorován synergický efekt genotypů 677CT a 1298AC na horší odpověď na léčbu MTX. Naopak dvojitě mutovaní homozygoti (677CC-1298CC a 577TT-1298AA) měli lepší odpověď na terapii MTX.*

- *Nebyl shledán statisticky významný rozdíl v efektu léčby MTX (vyjádřeným Δ DAS28) mezi jednotlivými genotypy SNP ADORA2A, AMPD1, ATIC, ITPA, MTHFD1 a SLC01B1.*
- *Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v distribuci genotypů všech studovaných SNP mezi skupinou RA pacientů a kontrolním souborem. Distribuce genotypů byla ve sledovaném souboru srovnatelná s nálezy publikovanými z jiných regionů Evropy.*
- *Byl prokázán vztah mezi kombinacemi SNP (haplotypy) a efektem terapie MTX (vyjádřeným Δ DAS28). Byl prokázán vzájemný vztah (linkage disequilibrium) SNP pro MTHFR (C677T a 1298A) a adenosinový receptor (zejména rs3761422, rs2267076 a rs2236624) a dále vztah mezi SNP adenosinové cesty: ADORA2A rs2236624 + AMPD1 a MTHFD1 + ITPA.*
- *Prokázána vyšší prevalence genotypu 677CC (gen MTHFR) u ACPA pozitivních pacientů léčených monoterapií MTX. V případě genotypů 677CC a 677CT došlo u monoterapie MTX k poklesu frekvence ACPA positivity během léčby.*
- *Prokázáno 2,5x vyšší riziko ukončení léčby MTX z důvodu dyspepsie u pacientů s genotypem ITPACC v celém souboru pacientů a statisticky významné zvýšení rizika předčasného ukončení léčby MTX z důvodu infekcí u pacientů s genotypem ADORA2 rs2236624 CC u pacientů léčených MTX + glukokortikoidy.*
- *Pacienti s genotypem MTHFR 1298AA (vs. CC+AC) měli statisticky významně častěji přítomny revmatoidní uzly a statisticky významně častěji docházelo k jejich tvorbě v průběhu léčby MTX ($P=0,018$ (OR=3,08; 95% CI (1,20-7,69) resp. $P=0,013$ (OR=3,55 95% CI (1,22-10,32)). Navíc u nosičů alely C (CT+CC vs.TT) SNP ADORA2A rs2298383 docházelo statisticky významně častěji k tvorbě uzlů při léčbě MTX ($P=0,043$ (OR=3,5; 95%CI (0,08-1,10))).*

Výsledky výzkumu jsou předmětem diskuze v 5. kapitole předložené habilitační práce. V 6. kapitole formuluje doktor Soukup odpovědi na jednotlivé dílčí cíle habilitační práce. V závěru své práce uchazeč předkládá závěry své práce ve vztahu ke klinické praxi a formuluje východiska pro další výzkum.

Hodnocení habilitační práce vychází z rozboru jednotlivých kapitol. Jedná se o klinicky orientovaný výzkum na poli molekulární genetiky. Pracovní hypotéza předpokládá roli studovaných SNP v predikci odpovědi na léčbu pacientů s RA metotrexátem. Dílčí cíle jsou definovány touto pracovní hypotézou. Doktor Soukup postuluje jasně cíle své práce a jejich platnost prověřuje pomocí genové analýzy a jejího srovnání s parametry účinnosti a

bezpečnosti léčby MTX a s vybranými fenotypovými znaky onemocnění. Sledovaná skupina nemocných je dostatečně velká pro daný typ výzkumu, sestává z pacientů s RA a z kontrolní skupiny. Jasně a přehledně jsou prezentovány výsledky měření jak v samotném textu, tak v tabulkách a grafech. Získaná data a informace habilitant kriticky rozebírá v diskuzi a jednoznačně formuluje závěry. Práce je psána pěkným, plynulým a čtivým jazykem. Literatura je citována konzistentně dle přijímané konvence.

Dotazy na uchazeče

- a) Jaká vyšetření doporučuje habilitant provádět před zahájením léčby metotrexátem. Mohla by být součástí těchto vyšetření i genetická analýza? Pokud ano, vyšetření jakých polymorfismů by mělo být součástí takového vyšetření?
- b) Hodlá se habilitant zabývat ve svém dalším výzkumu i vlivem mikroRNA na regulaci genů a jejich exprese, u kterých se předpokládá, že ovlivňují farmakodynamiku a farmakokinetiku metotrexátu?

Závěr: Habilitační práce MUDr. Tomáše Soukupa, Ph.D. je kvalitní práce na poli farmakogenetiky zabývající se farmakoterapií RA metotrexátem. Obsahuje řadu zajímavých poznatků, které ač v praxi zatím nepoužité, obohacují naše znalosti týkající se genetických faktorů ovlivňujících farmakokinetiku a farmakodynamiku metotrexátu. Autor přispívá tvůrčím způsobem k poznatkům ve zpracované oblasti výzkumu. Práce prokazuje jeho vynikající teoretické znalosti zkoumané problematiky, díky kterým dokáže jasně formulovat cíle výzkumu a s použitím adekvátních metod a statistického zpracování na ně hledat odpovědi. Doporučuji přijmout tuto práci v předložené formě vědeckou radou a po projednání a úspěšném absolvování oponentského řízení a splnění zákonných podmínek udělit titul docenta pro obor vnitřní nemoci. Habilitační práce splňuje požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru vnitřní nemoci.

doc. MUDr. Petr Němec, Ph.D.

II. interní klinika

FN u sv. Anny v Brně a LF MU Brno

Kontakt: petr.nemec@fnusa.cz

V Brně dne 31.7.2017