MUNI

Příloha č. 11 směrnice MU Habilitační řízení a řízení ke jmenování profesorem

POSUDEK OPONENTA HABILITAČNÍ PRÁCE

Masarykova univerzita	
Uchazeč	RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.
Habilitační práce	Immunogenetics of complex oral diseases
Oponent	Doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.
Pracoviště oponenta, instituce	Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR

Předložená habilitační práce se zabývá studiem genetických faktorů, které hrají významnou roli v etiopatogenezi řady onemocnění v oblasti dutiny ústní. Analýzy zahrnuté v této se soustředily zejména na recidivující aftózní stomatitidu (RAS), zánětlivou zevní kořenovou resorpci (EARR) po ortodontické léčbě, zubní kaz a chronickou parodontitidu u pacientů s/bez diabetem mellitus. Tato vybraná témata představují velmi aktuální problematiku související s nejčastěji se vyskytujícími potížemi u pacientů, s kterými se potýká současná stomatologie, přičemž studium imunoregulačních faktorů je zcela nezbytné pro identifikace dědičných komponent těchto poruch a jejich asociace s patologickými procesy.

Předložená habilitační práce má standardní členění vědecké práce a je koncipovaná jako komentovaný soubor 10 vědeckých prací autorky, z nichž 7 je prvoautorských. Dále je k práci přiloženo dalších 13 odborných článků zaměřených na související problematiku v českých i zahraničních časopisech, z nichž 10 je prvoaoutorských. Co se týká rozsahu práce, je psána klasickou formou – obsahuje 156 stran textu, včetně seznamu literatury, následovaných 118 stran příloh. Většina publikací již prošla oponentním řízením a byla přijata do tisku v impaktovaných či českých recenzovaných časopisech.

Hlavním cílem této práce bylo determinovat rizikové a protektivní varianty kandidátních genů kódujících zejména imunoregulační faktory a určit jejich vztah ke zvoleným chorobám v orální dutině a tak přispět k objasnění jejich etiopatogeneze.

Práce kombinuje klasické molekulární přístupy pro studium kandidátních molekul s kombinací biochemických či mikrobiologických technik. Metodicky byla genetická analýza postavena zejména na principu polymerázové řetězové reakce (RFLP-PCR) nebo TaqMan PCR pro analýzu jednonukleotidových polymorfizmů. Bakteriální kolonizace byla sledována s využitím DNA microarray detekčního kitu, množství interleukinů v plazmě pak s využitím metody ELISA.

Pokud jde o samotné výsledky, první část práce se soustředí na recidivující aftózní stomatitidu (RAS), která představuje multifaktoriální onemocnění ovlivněné zejména imunologickými a genetickými faktory. Analyzovány byly polymorfizmy v *IL-2*, *IL-4*, *IL-10* a *IL-13* genech a jejich potenciální asociace s RAS, přičemž signifikantně vyšší riziko bylo nalezeno jen v případě *IL-10*. Dále byl analyzován potenciální vztah mezi RAS a *IL-1A*, *IL-1B*, *IL-1RN* a *IL-6*. V případě těchto genů nebylo nalezeno zvýšené riziko pro vznik RAS a tedy nemohou být zvoleny jako potenciální asociační markery pro českou populaci. Následně byla provedena analýza NOD-like receptor 3 (*NLRP3*) a u tohoto genu byla zjištěna asociace mezi nalezenou variabilitou v polymorfizmech a vznikem RAS.

Druhá část práce se zaměřuje na determinaci asociace výskytu polymorfizmů *IL-17A*, *P2RX7*, *SPP1* a *TNFRSF11B* u pacientů se zánětlivou zevní kořenovou resorpcí (EARR). Ačkoliv, nebyly nalezeny signifikantní změny ve frekvenci alel nebo genotypů analyzovaných kandidátních genů, specifický haplotyp *P2RX7* variant byl charakteristický pro modifikaci rizika vzniku EARR.

Třetí část práce analyzuje faktory podílející se na vzniku zubního kazu. Zubní kaz je rovněž multifaktoriální onemocnění tvrdých zubních tkání, které je v české populaci velmi rozšířené. Kaz vzniká demineralizací zubní skloviny, a to především v přítomnosti kariogenních baktérií v zubním plaku, které přeměňují sacharidy na organické kyseliny následně demineralizující sklovinu. Vzhledem k nespornému významu genetické predispozice je nezbytné se zaměřit nejen na analýzu jednonukleotidových polymorfizmů v genech, které ovlivňují morfologii zubu, ale rovněž imunitní odpověď organizmu či chuťové preference postižených jedinců. Při studiu genetické determinace vzniku zubního kazu byl prokázán signifikantní rozdíl ve frekvenci genotypu a alel metalopeptidázy *ACE* mezi skupinou pacientů

s vysokým výskytem zubních kazů a dětí bez zubních kazů a to zejména u stálé dentice u dívek. Dále byla analyzována distribuce *VDR TaqI* alely a genotypu u dětských pacientů s mírným či vysokým výskytem zubních kazů a případnou asociací tohoto polymorfizmu na náchylnost ke gingivitidě. Zatímco nebyla nalezena spojitost *VDR TaqI* polymorfizmu u dětí se zubními kazy, byla naopak prokázána při porovnání zdravých kontrol a pacientů s gingivitidou.

Poslední čtvrtá kapitola hlavních výsledků je pak zaměřena na studium asociací polymorfizmů kandidátních genů a výskytu chronické parodontitidy (CP). Parodontitida představuje zánětlivé onemocnění závěsného aparátu zubů, které je v poslední době často diskutovanou problematikou zejména ve vztahu ke vzniku a rozvoji diabetických komplikací. Právě u těchto pacientů s těžkou parodontitidou byla prokázána vyšší úmrtnost na ischemickou chorobu srdeční. Tedy studium procesů spojených se vznikem chronické parodontitidy u diabetických pacientů a nalezení možností útlumu jejich projevů je klíčovou otázkou dnešní stomatologie. Při analýze polymorfizmů v *IL-1* genovém klasteru byla nalezena asociace některých haplotypů s diabetem mellitus a snížením rizika vzniku chronické parodontitidy. Dále některé haplotypy v genu pro *IL-8* se ukázaly být protektivní vůči rozvoji chronické parodontitidy. Signifikantní rozdíl v úrovni *IL-8* v krevní plazmě byl nalezen mezi kontrolami a DM pacienty s paradontitidou. SNP v tomto genu ovlivňovaly výskyt konkrétních bakterií v subgingivální oblasti u zdravých kontrol a v parodontálních chobotech u pacientů s agresivní parodontitidou nebo u pacientů s CP. Dále byly analyzovány SNP pro chemokinový receptor *CXCR2* u pacientů s chronickou parodontitidou a jejich souvislost s výskytem specifických parodontálních baktérií u těchto pacientů. Studie neprokázala signifikantní asociaci alel, genotypů nebo haplotypů vybraných SNP v *CXCR2* genu u pacientů s CP, ale prokázala jejich asociaci se subgingivální přítomností gram-negativních baktérií u mužů s chronickou parodontitidou. Analýza polymorfizmů v genu *IL-17A* prokázala asociaci *IL-17A-197A* alely s vyšším výskytem T1DM. Produkce *IL17* byla dále asociována s *IL-17A-197A* polymorfizmem v nestimulovaných mononukleárnách leukocytech získaných z CP pacientů i zdravých kontrol jako i se zvýšeným počtem některých druhů baktérií u pacientů s chronickou parodontitidou.

Na základě výše uvedeného shrnutí hlavních výsledků lze celkově konstatovat, že předložená práce řeší aktuální problematiku a přináší zcela nové poznatky o asociacích polymorfizmů v kandidátních genech s komplexními chorobami dutiny ústní. Předložená práce tedy splňuje všechny formální požadavky kladené na habilitační práci. Aplikantka jasně prokázala schopnost samostatné vědecké práce, její publikace představují významný přínos na poli imunogenetiky se zaměřením na stomatologii, prokázala vztah některých polymorfizmů v genech pro imunoregulační faktory k vybraným onemocněním dutiny ústní v české populaci a na tyto nálezy bude moci její skupina navazovat v budoucnosti dalšími experimentálními studiemi. Na závěr velice oceňuji kvalitu získaných výsledků, rozsah studované problematiky a plně doporučuji postoupení této habilitační práce k dalšímu řízení.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

Asociační studie jsou zpravidla prvním krokem během studia vlivu jednotlivých polymorfizmů na výskyt jednotlivých nemocí v orální dutině. Jakými experimenty plánujete pokračovat pro prokázání jejich přímého zapojení do vzniku či průběhu sledovaných onemocnění? Je možné využít zvířecí modely pro takovéto studie? Případně, jak jinak byste navrhovala jejich funkční význam prokázat?

Závěr

Habilitační práce Petry Bořilové Linhartové na téma „Immunogenetics of complex oral diseases“ ***splňuje*** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Lékařská biologie.

Brno, dne 30. 8. 2019

…….

podpis