

Oponentský posudek dizertační práce

Uchazeč:	MUDr. Janka Slatinská
Pracoviště:	Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
Dizertační práce:	Protilátkami zprostředkovaná rejekce po transplantaci ledviny
Oponent:	Doc. MUDr. Karel Krejčí, Ph.D.
Pracoviště:	III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická, FN a LF UP Olomouc

Text posudku

MUDr. Janka Slatinská se ve své dizertační práci zabývala problematikou protilátkami zprostředkovaná rejekce po transplantaci ledviny (AMR). AMR je nejvýznamnějším faktorem limitujícím dlouhodobé přežití transplantované ledviny. Předpokládá se, že aktivní forma AMR je způsobena vazbou cirkulujících preformovaných nebo de novo vzniklých donor specifických anti-HLA protilátek (DSA) na aloantigeny dárce na endotelových buňkách štěpu, což má za následek zánět, poškození buněk a v konečném důsledku dysfunkci štěpu. Aktivní AMR se může vyskytnout již časně po transplantaci. Základem její diagnostiky je právě vyšetření přítomnosti DSA a histologický průkaz tkáňového poškození s depozicí štěpného produktu komplementu C4d v peritubulárních kapilárách a/nebo validovaných transkriptů svědčících pro endoteliální poškození.

Problematika řešená v rámci dizertační práce je aktuální, s předpokládaným dopadem výstupních dat na klinickou praxi. Vlastní práce je rozdělena do 8 částí – úvod, přehled problematiky, hypotéza, cíle, dále metodika, výsledky, diskuze a závěry. V práci byly v rámci ověřování hypotéz stanoveny 4 cíle. Výsledky práce byly dosud publikovány formou 5 sdělení v časopise s impakt faktorem, kde ve 2 případech je MUDr. Janka Slatinská první autorkou. Je také první autorkou 3 prací na dané téma publikovaných v recenzovaných časopisech. Celkem má dizertační práce 148 stran textu, 14 obrázků a 1 tabulku.

V úvodu své práce se MUDr. Janka Slatinská věnuje obecným charakteristikám AMR, patofyziologii jejího vzniku a jejím jednotlivým fenotypům. Podrobněji se věnuje roli HLA protilátek v patogenezi poškození štěpu, roli komplementu a histologickým typům postižení v rámci AMR. Zmíněn je i proces akomodace, při kterém transplantát získává odolnost proti imunitnímu poškození a ztrátě funkce. Poslední kapitoly Úvodu se týkají možností prevence a terapie aktivní a chronické AMR.

V další části své práci se autorka zabývala ověřením několika hypotéz týkajících se patogeneze AMR, možností vyšetření genové exprese v diagnostice druhu a závažnosti rejekce, pro určení přesnější prognózy štěpu, dále zhodnocení možností ovlivnění efektorových a regulačních imunitních mechanismů s využitím aplikované depleční terapie. K tomu si vytyčila několik cílů v podobě ověření efektivity různých postupů v terapii protilátkami zprostředkované rejekce, zjištění role B-buněčných fenotypů v periferní krvi ve vztahu k rejekci, role solubilní CD30 molekuly a cytokinu Hepatocytárního růstového faktoru (HGF) v predikci protilátkami zprostředkované rejekce a role transkriptomu v transplantované ledvině.

Nejstarší z publikovaných výstupů se týká hodnocení zkušeností s terapií AMR pomocí plazmaferéz (PF) a intravenózních imunoglobulinů (IVIg). Autoři srovnávali léčbu jen pomocí PF a kombinací PF a IVIg. Nemocní ze skupiny PF/IVIg měli lepší výsledky přežívání štěpu rok po transplantaci v porovnání s historickou skupinou léčenou pouze PF, autoři tak ve své práci potvrdili terapeutický postup, který dnes představuje standard terapie aktivní AMR.

Také další z výstupů z dizertační práce se týkal terapeutických možností AMR a výsledků pilotní studie, zaměřené na zhodnocení účinnosti a bezpečnosti podání bortezomibu v léčbě refrakterní akutní AMR. Podávání bortezomibu v kombinaci s rituximabem a PF bylo účinné z hlediska snížení hodnot DSA-B a DSA-DR, ale nebylo dostatečně účinné ke snížení DSA-A a DSA-DQ. Vzhledem ke známé toxicitě bortezomibu je jeho použití v léčbě limitováno.

Prediktivními možnostmi solubilního CD30 (sCD30) a HGF z hlediska rozvoje AMR se zabývala další část výzkumu. Monitorace pre- a posttransplantačních sérových koncentrací solubilní sCD30 molekuly a HGF byla sledována z hlediska možnosti predikce rizika vzniku rejekce štěpu a jeho následného selhání. Autoři práce prokázali, že hodnota solubilního CD30 před a po transplantaci ledviny nekoreluje s přežíváním štěpu během sledovaného dvouletého období, nicméně při pozitivitě sCD30 spolu se současnou přítomností anti-HLA protilátek před transplantací signifikantně predikovala rozvoj AMR. Samotná HGF koncentrace nebyla asociována s incidencí AMR, nebyla také nalezena korelace mezi HGF a přežíváním štěpů. Nicméně nižší předtransplantační hodnoty HGF korelovaly s přítomností HLA protilátek II. třídy před transplantací a 6 měsíců po transplantaci. Nemocní s nízkými hodnotami HGF a vyššími hodnotami sCD30 před transplantací tak měli vysoké riziko rozvoje AMR.

Dalším potenciálním prediktorem rozvoje AMR se zabývala práce hodnotící sérové hladiny solubilního B-buňky aktivujícího cytokinu (BAFF). Cílem autorů v této studii bylo porovnat sérové hodnoty BAFF mezi pacienty ve vysokém imunologickém riziku a s diagnostikovanou AMR a kontrolní skupinou bez rejekce, a zjistit, zda BAFF může být diagnostickým markerem v predikci AMR. AMR byla diagnostikována do 2. měsíce po transplantaci ledviny, pacienti byli sledováni 1 rok po transplantaci. V potransplantačním průběhu byly potvrzeny statisticky vyšší hodnoty BAFF u příjemců bez rejekce. Naproti tomu hodnoty BAFF po transplantaci byly statisticky nižší u nemocných s kombinovanou AMR a akutní celulární rejekcí. Autoři nepozorovali korelaci mezi hodnotami BAFF a produkcí DSA při AMR. Autoři tak uzavírají, že solubilní BAFF může být pomocným markerem probíhající AMR, zejména při současně přítomné akutní celulární rejekci.

Poslední z předkládaných výstupů se týkal hodnocení transkriptomu u akomodace a subklinické protilátkami zprostředkované rejekce u inkompatibilních transplantací ledvin. Cílem studie bylo zjistit, jaký je rozdíl mezi biopsiemi, kde je C4d depozice vyvolána přítomností hemaglutininů, a biopsiemi, kde je depozice C4d vyvolána přítomností DSA. Pomocí microarray čipové analýzy autoři porovnali transkripční profil tříměsíčních protokolárních biopsií u tří skupin pacientů. První představovali pacienti s C4d pozitivitou v rámci ABOi transplantace a stabilní funkcí štěpu, druhou nemocní s C4d pozitivitou po HLAi transplantaci s přítomností DSA a diagnózou subklinické AMR, třetí pak jedinci s C4d negativními biopsiemi po HLA kompatibilní transplantaci s normálním histologickým nálezem a stabilní funkcí štěpu. Autoři prokázali, že subklinická AMR u HLAi a akomodace u ABOi transplantací sdílí podobnou dráhu imunoaktivace jako u C4 negativních kontrol. U HLAi v porovnání s ABOi zjistili zvýšenou expresi metalotioneinů a transkriptů z rodiny solubilních transportérů, což by mohlo být reakcí na výraznější tkáňové poškození u této jednotky.

Výsledky práce MUDr. Janky Slatinské přispívají k prohloubení poznatků o v současné době intenzivně studované problematice protilátkami zprostředkované rejekce, kdy zejména její chronická varianta představuje hlavní příčinu limitovaného dlouhodobého přežívání ledvinných štěpů. Ve své práci

autorka poukázala na možnosti terapie akutní AMR, na využití některých biomarkerů v predikci rozvoje AMR štěpu a zhodnocení rizika jeho selhání a na vztah mezi autory sledovanými biomarkery a formací anti-HLA protilátek. Významným příspěvkem autorky a jejích spolupracovníků k porozumění principů imunotolerance je práce zabývající se analýzou transkripce genů u nemocných po ABO a HLA inkompatibilní transplantaci ledviny.

Dotazy oponenta k obhajobě dizertační práce

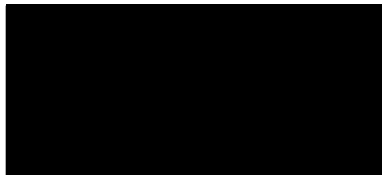
1. Část práce zabývající se hodnocením sérového solubilního BAFF cytokinu se týkala aktivní protilátkami zprostředkované rejekce s rozvojem v prvních týdnech až měsících po transplantaci ledviny. Jsou nějaké poznatky o využití solubilního BAFF případně jeho receptorů v diagnostice chronické aktivní protilátkami zprostředkované rejekce?

Závěr

Dizertační práce MUDr. Janky Slatinské je výsledkem systematické klinické a výzkumné práce autorky na poli transplantací ledvin a studia protilátkami zprostředkované rejekce. Práci hodnotím jako velice kvalitní. Po stránce formální je mimo drobné překlepy dizertační práce dobře zpracována, dokumentována adekvátní publikační aktivitou a prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci. Doporučuji proto přijmout dizertační práci v předložené formě a na jejím základě doporučuji udělit MUDr. Jance Slatinské vědecký titul Ph.D.

V Olomouci dne 13.10. 2021

doc. MUDr. Karel Krejčí, Ph.D.
III. interní klinika-NRE
FN a LF UP Olomouc
I.P. Pavlova 6, 779 00, Olomouc



doc. MUDr. Karel Krejčí, Ph.D.
18816