

OPONENTSKÝ POSUDEK

dizertační práce autorky MUDr. Terezy Doušové

Studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka

2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Název práce:

Nové přístupy vedoucí ke stanovení patofyziologických změn u pacientů s cystickou fibrózou

Hodnocení předložené disertační práce sleduje následující oponentská kritéria:

Aktuálnost zvoleného tématu

Práce byla vypracována na Pediatrické klinice 2. LF UK a FN v Motole pod odborným vedením Prof. MUDr. Pavla Dřevínka, PhD. a v laboratořích BioISI Institutu Univerzity v Lisabonu pod vedením přední evropské specialistky Prof. Margaridy Amaral.

Autorka se věnovala vysoce aktuální problematice. Předložená práce přispívá k rozvoji diagnostiky a personalizované terapie vzácného onemocnění cystická fibróza (dále CF). Z tohoto úhlu pohledu nebyla problematika u nás dosud analyzována. V posledních letech je výzkum v oblasti CF zaměřen zejména na vývoj nových léků směřujících k záchraně poškozené nebo ztracené funkce CFTR proteinu. Zahájení léčby zmíněnými inovativními molekulami je podmíněno co nejpřesnějším stanovením diagnózy CF a přítomností specifických patogenních variant CFTR genu. Existuje však určitá skupina pacientů, u kterých je diagnostika onemocnění a současně i predikce možného léčebného potenciálu dostupných modulátorů CFTR proteinu stále nejasná a zůstává tak velkou výzvou. Proto se jako alternativa ke klasickým klinickým studiím objevují přístupy, které využívají buněčné modely odvozené z tkáně pacienta. Tento přístup by mohl vytvořit součást komplexu diagnostických postupů pro maximálně efektivní, personalizovanou léčbu co nejširší skupiny pacientů s CF a využití výsledků výzkumu v klinické praxi.

Formální část disertační práce

Předložená disertační práce má celkem 84 stran včetně seznamu literatury a příloh, které obsahují seznam publikací autorky. Práce je standardně členěná. Seznam literatury obsahuje 85 titulů, které komplexně mapují studovanou problematiku. Disertační práce je napsána věcně, bez stylistických chyb, s minimem drobných překlepů. Úvod do zvolené problematiky je informativní a optimálně zasazuje výzkum uchazeče do

domácího a mezinárodního, „state-of-the-art“, kontextu.

Dizertační práce má jasně formulované cíle a hypotézy. Základním předmětem zájmu autorky je využití nových přístupů, díky kterým je možné prohloubit znalosti o patofyziologických změnách u pacientů s cystickou fibrózou. Jedná se o analýzu funkce CFTR proteinu pomocí experimentálních *ex vivo* modelů:

- 1) měření na rektálních biopsiích v Ussingově komůrce
 - 2) analýzu funkce CFTR proteinu s využitím kultur intestinálních organoidů a na nich provedené FIS assay
- Celkově byly studovány vzorky 14 pacientů s CF, z toho se 4x jednalo o sourozenecké dvojice.

V experimentální části byly ověřeny dvě základní hypotézy:

- a) využitelnost experimentálních *ex vivo* metod k individuálnímu zhodnocení míry funkce CFTR proteinu u pacientů klasickou formou CF, u pacientů s atypickou formou CF a u pacientů s nejasnou diagnózou CF dle výsledků DNA analýzy
- b) využitelnost FIS assay na intestinálních organoidech k *ex vivo* identifikaci responderů na dostupné modulátory CFTR proteinu

V kapitole Materiál a metody je stručně popsán postup a metody experimentů.

Výsledky dizertace s uvedením nových poznatků a významu pro společenskou praxi

Výsledkový materiál je pečlivě zpracovaný a doplněný vhodnou obrazovou dokumentací, tabulkami a grafy.

Výsledky práce byly postupně publikovány ve třech zahraničních publikacích s odpovídajícím impakt faktorem (IF) pro klinické obory. Uvedený publikační výčet svědčí o velmi dobré kvalitě odborné práce autorky a jistě splňuje publikační kritéria pro disertační práce na 2. lékařské fakultě University Karlovy.

S využitím nativní tkáně pacienta a z ní odvozených kultur intestinálních organoidů byla v práci prokázána různá míra reziduální funkce CFTR proteinu u celkem 14 pacientů s CF (0-39,7 % funkce zdravé kontroly). Byla charakterizována jedna doposud nepopsaná varianta CFTR genu u pacienta, jehož diagnóza CF nebyla na základě standardních diagnostických metod jednoznačná.

Na základě *ex vivo* predikce byli identifikováni v 8 případech potenciální responderi a v 5 případech non-responderi na dostupné modulátory CFTR proteinu. V celkem 5 případech byla léčba modulátory CFTR proteinu zahájena v souladu s indikačními kritérii, v jednom případě byl podpůrným argumentem k zahájení léčby výsledek FIS assay na intestinálních organoidech, který ukazuje na možný vysoký klinický benefit pro pacienta. K potvrzení *ex vivo* predikce bude zapotřebí delší prospektivní sledování pacientů po nasazení modulátorové léčby.

Výsledky předložené práce se mohou stát výchozími pro diagnostiku a personalizovanou léčbu pacientů s CF.

Připomínky a dotazy

1. Označení „mutace“ by v textu, jakým je předložená disertační práce, již nemělo být použito bez odkazu na

nyní doporučené termíny sekvenční varianta – patogenní, pravděpodobně patogenní, nejasného významu, benigní nebo pravděpodobně benigní (dle ACMG-AMP doporučení).

2. Genotyp pacientů a jednotlivé popisované patogenní varianty CFTR genu jsou v textu označovány tzv. tradičním označením bez odkazu na aktuální nomenklaturu.

3. Je známo, které geny by mohly významněji modifikovat klinický obraz pacientů s CF a které by bylo možno zařadit do studií pro další upřesnění diagnostiky CF a personalizaci terapie CF pacientů?

4. Jak dlouhý je doporučený interval pro posouzení efektu nových preparátů pro terapii CF – potenciátorů a modulátorů?

5. Jaké jsou možné komplikace rektální biopsie u CF pacientů? Setkali jste se s komplikací?

6. Jak je vysoké riziko poškození tkáně při biopsii, které by bylo překážkou dosažení správného výsledku?

7. Jak se posouvá průměrný věk CF pacientů v posledních cca 10 -15 letech, kdy do terapie vstupují nejen nové léky, ale i nové diagnostické postupy i časná diagnostika díky zavedení novorozeneckého screeningu CF?

Závěr:

Předloženou práci hodnotím jako práci s velmi dobrou odbornou úrovní. Předložené výsledky prošly kritickým hodnocením v impaktovaných časopisech, což jednoznačně svědčí pro velmi dobré a rozsáhlé znalosti autorky o studované problematice.

Na předložené disertační práci jsem nenašla žádné zásadní formální a formulační nedostatky.

Dizertační práci autorky doporučuji k obhajobě podle § 48 VŠ zákona 111/98 Sb.

Disertační práce prokazuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci.

Doporučuji udělení titulu „Ph.D“ za jménem.

V Brně, dne 25. ledna 2022

MUDr. Renata Gaillyová, Ph.D.

Ústav lékařské genetiky a genomiky Fakultní nemocnice Brno