

Oponentský posudek disertační práce

v oboru Fyziologie a patofyziologie člověka

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

Autorka: MUDr. Tereza Doušová

Pracoviště: Pediatrická klinika, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Školitel: prof. MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.

Konzultant: doc. MUDr. Libor Fila, Ph.D.

Oponentka: MUDr. Marcela Kreslová, Ph.D.

Autorka předkládá k obhajobě disertační práci s názvem „Nové přístupy vedoucí ke stanovení patofyziologických změn u pacientů s cystickou fibrózou“.

Hodnocení předložené disertační práce dle následujících kritérií:

1. Aktuálnost řešeného problému

Disertační práce MUDr. Terezy Doušové se jako první v ČR zabývá možností zkoumání patofyziologických změn u nemocných s cystickou fibrózou (CF) na úrovni CFTR proteinu využitím rektálních biopsií a intestinálních organoidů ke zhodnocení individuální míry funkce CFTR proteinu a k určení *ex vivo* predikce odpovědi na léčbu dostupnými modulátory CFTR proteinu. Zvolené téma je aktuální s přesahem do klinické praxe, v souladu se snahou o personalizovaný přístup k terapii nemocných s CF.

Predikci možné individuální léčebné odpovědi na modulátory CFTR proteinu s identifikací možných responderů vnímám jako důležitý klinický výstup, vzhledem k tomu, že objevení a zavedení modulátorů CFTR proteinu do klinické praxe představuje mezník v léčebném přístupu k nemocným s CF.

2. Základní scientometrická analýza

Z formálního hlediska je disertační práce vypracována na celkem 84 stranách ve standardním formátu. Je rozdělena do 13 kapitol s odkazem na 85 citovaných literárních zdrojů. Součástí práce je bohatá obrazová dokumentace, kterou tvoří 3 tabulky, 31 grafů a v úvodní teoretické části 7 doprovodných obrázků.

Autorka rozčlenila disertační práci do standardních kapitol. Úvod do problematiky je názorný, autorka popisuje klinické projevy onemocnění i současné možnosti diagnostiky, podrobně se zaměřuje na patofyziologii onemocnění s následným rozбором funkční klasifikace mutací CFTR genu a na léčebné možnosti CF s výčtem aktuálně schválených modulátorů CFTR proteinu. Klade důraz na theranostiku, využití vlastní tkáně nemocného k určení predikce individuální odpovědi na dostupné léčebné molekuly. V další části úvodní kapitoly se autorka zaměřuje na možnosti *ex vivo* diagnostiky CF, a to měření rozdílu elektrického napětí na vzorcích rektální biopsie v Ussingově komůrce (ICM, intestinal current measurement) a využití intestinálních organoidů s kvantifikací jejich bobtnání po stimulaci forskolinem (FIS, Forskolin induced swelling assay). Hodnotí metody s ohledem na stanovení míry funkce CFTR proteinu a predikce individuální odpovědi na modulátory CFTR proteinu.

3. Cíle a hypotézy disertační práce

Pracovní hypotéza a cíle předkládané práce jsou adekvátně definovány.

4. Použité metody a postupy

Metodika měření rozdílu elektrického napětí na rektální biopsii v Ussingově komůrce a kvantifikace bobtnání organoidu pomocí fluorescenčního mikroskopu je dobře zvolená a umožňuje získat předpokládané výsledky. Práce neobsahuje etické problémy. Studie byla schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice v Motole, číslo schválení studie není uvedeno.

5. Zpracování výsledků

Autorka analyzovala vzorky odebrané od 14 pacientů ve věku 3 až 40 let s 9 různými mutacemi CFTR genu (2 pacienti s klasickou formou onemocnění, 2 pacienti s velmi vzácnými mutacemi CFTR genu a 10 nemocných s atypickou formou CF).

Klinická data jsou znázorněna z hlediska pohlaví, věku, genotypu, exokrinní funkce pankreatu, plicních funkcí, hladiny chloridů v potu i ev. příbuzenského vztahu k ostatním nemocným v daném souboru. Autorka uvádí ucelený souhrn provedených analýz na rektálních biopsiích a intestinálních organoidech s vyjádřením míry funkce CFTR proteinu měřené na rektálních biopsiích, míry záchrany funkce CFTR proteinu na intestinálních organoidech, zároveň určuje možné respondery a non-respondery na dostupné modulátory CFTR proteinu (Orkambi[®], Symkevi[®]). Výsledky jsou přehledně zpracovány. Statistické rozdíly byly stanoveny metodou analýzy rozptylu (ANOVA). V první skupině pacientů s klasickou formou onemocnění autorka prokázala minimální reziduální funkce CFTR proteinu s interindividuální variabilitou. V druhé skupině nemocných s mutacemi s klinicky variabilním fenotypem byla prokázána různá míra reziduální funkce CFTR proteinu a u pacienta ve třetí skupině byla funkčně charakterizována dosud nepopsaná mutace CFTR genu. Z celkového počtu 14 vyšetřovaných byli identifikováni potenciální respondery v 8 případech a non-respondery v 5 případech.

6. Nové poznatky disertační práce a jejich klinický dopad

Práci považuji za aktuální vzhledem k současné moderní léčbě modulátory CFTR proteinu. Individuální hodnocení funkce CFTR proteinu a možnost identifikace potenciálních responderů na modulátory CFTR proteinu je v souladu s aktuálními principy personalisované péče o nemocné s CF. Poznatky předkládané práce lze považovat za dobrý základ a náměty pro další studium této problematiky, před tím, než bude možné stanovit souhrnné závěry vyplývající z cílů a dalších získaných výsledků ve studované problematice.

7. Publikace ve vztahu k disertační práci

Uchazečka ve vztahu k tématu disertační práce je spoluautorkou tří publikací v časopisech s IF.

8. Připomínky k hodnocené práci

Uvedené připomínky jsou formálního i obsahového charakteru. V textu jsou menší stylistické a jazykové nedostatky. Názvy bakteriálních patogenů píšeme kurzívou (*Haemophilus influenzae*, str. 63). Koncentraci chloridů v potu 30-59 mmol/l označujeme jako hraniční (str. 63). U pacienta CF1 se liší věk uvedený v textu na str. 53 a v tabulce Tab. 6.1.

Grafy prezentované v kapitole 6. jsou popsány částečně v anglickém jazyce. Je-li práce psána v českém jazyce, je standardem, že i veškerá dokumentace včetně obrázků a grafů je uvedena v českém jazyce. Legendy většiny grafů jsou nestandardně obsažné, a tím hůře přehledné, výsledky v nich uvedené je vhodnější začlenit do textu. Pořadí legendy Obr. 2.10 neodpovídá pořadí obrázků.

V kapitole 5.1.1.1. je v textu uvedena referenční zdravá skupina ($-217.45 \mu\text{A}/\text{cm}^2$), která není v práci blíže specifikována. Kapitola 5.2. Statistická analýza je příliš stručná, chybí specifikace použitých statistických metod. Formálně můžeme předkládanou disertační práci považovat za kompaktní a tématicky homogenní z hlediska klinického výzkumu prováděného na souborech pacientů se stejnou diagnózou CF. Soubor vyšetřovaných pacientů je však početně malý, z hlediska věku heterogenní. Logicky malý soubor ovlivňuje statistické hodnocení a výpovědní hodnotu výsledků, závěry a podrobnější analýzu. Práci by jednoznačně prospělo podrobnější zkoumání a porovnání responderů a non-responderů z různých aspektů, což bohužel počet studovaných probandů nedovoluje ($n=14$), ale na druhé straně poskytuje náměty pro další vědecko-výzkumné aktivity.

Místo poměrně deskriptivní diskuze s převahou popisu jednotlivých případů dle genotypu bych upřednostnila konkrétní diskuzi získaných výsledků v konfrontaci se současnou literaturou s ohledem na respondery a non-respondery a hodnocení responderů a non-responderů ve vztahu ke genotypu. Závěr bych volila koncizní, shrnující pouze výsledky vlastní práce s dopady do praxe.

V disertační práci bych uvítala větší důraz na možnou implementaci, potenciální dopad a uplatnitelnost závěrů a aplikace do klinické praxe. Uvedené připomínky a náměty však zásadně nesnižují celkovou úroveň disertační práce a její přínos.

Závěrečné hodnocení:

Disertační práce MUDr. Terezy Doušové je první studií v ČR zabývající se hodnocením míry funkce CFTR proteinu využitím experimentálních metod (ICM, FIS assay) a určením predikce individuální odpovědi na léčbu dostupnými modulátory CFTR proteinu. Zvolené téma je aktuální s přesahem do klinické praxe a přináší nové patofyziologické poznatky aplikované v souladu s principy theranostiky. Autorka prokázala dobrou orientaci v řešené problematice a předpoklady pro další samostatnou vědeckou práci. I přes zmíněné připomínky doporučuji disertační práci k obhajobě dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. a po úspěšné obhajobě udělení akademického titulu Ph.D.

Otázky pro autorku MUDr. Terezu Doušovou:

1. Jaký je praktický klinický výstup pro skupinu non-responderů a jaký další léčebný postup v této skupině autorka navrhuje?
2. Čím si autorka vysvětluje zlepšení plicních funkcí (FEV_1 71...83 % NH po 9 měsících léčby Symkevi[®]) u non-respondera CF6?
3. Jaký bude mít tato metoda dopad do klinické praxe z hlediska predikce a principů personalizované medicíny?
4. Plánuje autorka pokračovat v práci na studované téma, pokud ano, jaké jsou další cíle výzkumu?

V Plzni 26. 1. 2022

MUDr. Marcela Kreslová, Ph.D.

Univerzita Karlova, Lékařská Fakulta v Plzni

Dětská klinika, Fakultní nemocnice Plzeň

Alej Svobody 80

304 00 Plzeň

