

Posudek doktorské dizertační práce

Autor: MUDr. Markéta Bloomfield

Název: Monogenic susceptibility to infectious pathogens

Doktorský studijní program: Biologie a patologie buňky

Pracoviště: Ústav imunologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy

Školitelka: Prof. MUDr. Anna Šedivá, Dsc.

Konzultantka: RNDr. Zuzana Paračková, Ph.D.

Dizertační práce paní MUDr. Markéty Bloomfield je zaměřena na relativně vzácná onemocnění - vrozené poruchy imunity (IEI), v nich na monozygotně podmíněnou skupinu onemocnění charakterizovaných vysokou vnímavostí ke konkrétním patogenům. Jedná se o poměrně nedávno definovanou (cca od počátku tohoto tisíciletí) podskupinu chorob, počet takto definovaných onemocnění se ale postupně rozrůstá a mění nejen náš pohled na některé závažné infekční komplikace, ale pomáhá nám i pochopit principy obranyschopnosti proti různým patogenům za fyziologických okolností. V některých případech známý genetický defekt umožňuje i cílenou léčbu těžce postižených pacientů. Jedná se o téma mimořádně aktuální, jak z hlediska klinické medicíny, tak i preklinického a částečně i teoretického výzkumu.

Celou práci paní Dr Bloomfield je možno rozdělit do tří částí:

První je obecný úvod k problematice. Velmi stručně jsou probrána základní fakta o vrozených poruchách imunity a jejich klasifikaci. Jsou probrány nejdůležitější nebo nejznámější skupiny monogenně podmíněných onemocnění se sklonem k infekcím konkrétními patogeny. Pozornost je věnována poměrně velmi řídkým onemocněním - epidermodysplasia verruciformis, genetické náchylnosti k encefalitidě způsobené virem herpes simplex, sklonu ke komplikovanému průběhu chřipky, náchylnosti k těžkým pyogenním infekcím, rekurentním /závažným stafylokovým infekcím, poruchám komplementu vedoucím k meningokokovým infekcím, Whippleově chorobě, jsou podány

informace o výzkumu náchylnosti k těžkému průběhu Covid. Podrobněji je probrána skupina onemocnění označovaných jako náchylnost k mykobakteriálním infekcím dědicí se podle principů Mendelovské genetiky (Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases - MSMD) a skupina onemocnění označovaných jako mukokutánní kandidiáza.

U všech onemocnění jsou velmi pěkně a instruktivně probrány mechanismy imunitní odpovědi na uvedené patogeny, klinická manifestace onemocnění a především genetický podklad uvedených chorob s rozбором patogeneze onemocnění. Tento text má 35 (hustě popsaných) stran, je doplněn 20 obrázky a 3 tabulkami. Sám o sobě by si zasloužil publikování jako velmi instruktivní review.

Druhá část se týká vlastní výzkumné práce autorky. Byly vytyčeny hlavní cíle dizertační práce:

1. Klinické, imunologické, genetické a potenciální terapeutické aspekty chronické mukokutánní kandidiázy způsobené gain-of-function mutací genu STAT-1.
2. Obdobná charakteristika nemocných s onemocněním označovaným jako Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases (MSMD).
3. Výzkum, zda-li za závažné onemocnění Stafylokokem aureum mohou stát protilátky proti IL-6.
4. Výzkum klinických i patogenetických aspektů onemocnění PIMS-TS (označované též MIS-C).

Při řešení těchto cílů bylo publikováno celkem 10 publikací u 6 je paní Dr. Bloomfield první autorkou. Z výsledků lze vybrat:

Ad 1. Byl vyzkoušen efekt JAK inhibitoru ruxolitinibu u pacienta s chronickou mukokutánní kandidiázou způsobenou (doposud nepopsanou) mutací c.6217T>C, přičemž byl popsán mechanismus účinku toho inhibitoru. Po 8-týdenním podávání bylo zaznamenáno výrazné zlepšení klinického stavu pacienta, vysazení léčby ale vedlo k relapsu klinických příznaků. Na základě svých výsledků se Dr. Bloomfield aktivně účastnila sepsání přehledného článku o využití JAK inhibitorů u nemocných s gain-of-function (GOF) STAT1 mutací. Ve velmi kvalitní časopise J. Clin. Immunol. (Q1) byly publikovány výsledky imunizace 7 nemocných s GOF STAT1 mutací které proběhla bez komplikací, byla měřena protilátková i T-buněčná odpověď. V této publikaci byly popsány i 2 nové mutace STAT1 genu.

Ad 2. Byla popsána kazuistika a byla provedena velmi podrobná imunologická a molekulárně biologická charakteristika u 17-leté pacientky se 2 mutacemi – jednak IFNG1 (asociováno s MSMD) a NOD2 (asociováno s Blauovým syndromem). Důležitý je klinický článek o kožních manifestacích 5 českých a slovenských nemocných s MSMD. Zajímavá je kazuistika 42-leté ženy, které byla až v uvedeném věku diagnostikována MSMD ukazující na to, že v případě lehčích variant mohou být i závažně vrozené poruchy imunity diagnostikována ve středním věku.

Ad 3. je popsána imunologická studie u 20-měsíční holčičky u níž se vyvinul septický šok, způsobený zřejmě *St. aureum*. U této pacientky nedošlo k výraznějšímu vzestupu IL-6 ani CRP. Vysvětlením by mohla být přítomnost autoprotilátek namířených proti IL-6 a tudíž blokujiících rozvoj zánětlivé odpovědi.

Ad 4. Velmi důležitá je celonárodní observační studie celkem 207 českých dětí, které onemocněly PIMS-TS syndromem. Pokud se týká patogeneze PIMS -TS se Dr. Bloomfield spolupodílela na výzkumu významu B-lymfocytů a jejich jednotlivých subpopulací a zejména faktoru BAFF u těchto nemocných. Na základě svých publikovaných prací byla paní Dr. Bloomfield přijata do mezinárodního autorského kolektivu vytvořeného na bázi EAACI popisujícího patogenezi PIMS-TS a jeho imunologickou léčbu, včetně nastínění 4 hypotéz o imunopatogenezi uvedené choroby.

Je možné konstatovat, že použité metody odpovídají zadanému tématu a jsou adekvátní. Zpracování výsledků je na vysoké úrovni, což je vyjádřeno i přejetím článků ve vysoce renomovaných časopisech.

Kromě uvedených 10 publikací paní Dr. Bloomfield dokládá dalších 14 mezinárodních publikací na různá imunologická témata publikovaných ve velmi kvalitních a vysoce impaktovaných časopisech. Jejich téma ale neodpovídá na otázky nastolené v cílech dizertační práce.

Třetí část dizertační práce jsou kopie uvedených 10 publikací odpovídajících na vytyčené hlavní body práce.

Celkově je možno konstatovat že práce naprosto naplnila stanovené cíle.

Práci je velmi obtížné něco vytknout, všechny články, z nichž práce vychází, prošly přísným recesním řízením. Pokud bych měl hledat něco, co bych očekával, tak je to trochu širší souhrnná diskuse, která by z uvedeného velkého množství informací vytvořila určitý „příběh“.

K autorce mám tyto dotazy:

V práci je popsáno 20 měsíční dítě se závažnou sepsí, na kterou nereagovalo zvýšením hladiny CRP a IL-6. Mám dotaz, jestli i u této holčičky byla provedena genetická analýza k vyloučení možné IEI (v příslušném článku jsem o tom nenašel žádnou zmínku). Článek vyšel v roce 2019. Má autorka nějaké další zprávy o osudu této pacientky, zejména ve vztahu k zánětlivé reakci?

Asi nebude překvapivý dotaz na další osud pacienta léčeného ruxolitinibem. Dostal další dávky této terapie? Nebo byla zvolena nějaká jiná léčba?

Vrozené poruchy imunity vedoucí ke specifickým infekčním komplikacím jsou choroby vzácné, jejich problémem je také fakt, že rutinní imunologická vyšetření obvykle nenacházejí žádnou výraznou abnormalitu. I když se jistě jedná o extrémní případ, kazuistika pacientky u níž byla MSMD prokázána ve 40 letech ukazuje na výrazné diagnostické zpoždění které může nastat. Vyšetření NGS je jistě vysoce výtěžné, ale zatím drahé a výrazně pojišťovnou limitované. Byla by autorka schopna navrhnout nějaké screeningové vyšetření dostupné, dejme tomu, většině laboratoří na úrovni fakultních nemocnic, které by (jistě kromě anamnézy), mohlo předcházet u konkrétního pacienta smysluplnému vyšetření vzácných IEI pomocí panelů NGS?

Po důkladném prostudování disertační práce MUDr. Markéty Bloomfield jsem došel k závěru, že splňuje podmínky podle §47 VŠ zákona 111/98 Sb. Autorka plně prokázala svoji schopnost samostatné vědecké práce. Doporučuji tuto práci k obhajobě vedoucí k udělení titulu PhD.

V Brně 10. 12. 2022

Prof. MUDr. Jiří Litzman, CSc.
Ústav klinické imunologie a alergologie
LF MU a FN u sv. Anny v Brně