Oponentský posudek

na dizertační práci

Imunopatogenetické mechanismy u myasthenia gravis a vliv thymektomie.

Posuzovaná disertační práce MUDr. M. Jakubíkové je věnována závažnému autoimunitnímu onemocnění myasthenia gravis, onemocnění nervového a imunitního systému, jejíž etiopatogeneze a léčbě je oprávněně věnována velká pozornost a úsilí výzkumníků i klinických pracovníků po celém světě.

Doktorandka ve své práci vycházela z aktuálních poznatků základního biomedicínského i neurovědního výzkumu, na jejichž základě analyzuje původní klinická a laboratorní data získaná pod vedením školitelky prof. MUDr. S. Nevšímalové, DrSc. při dlouhodobém sledování početné skupiny pacientů s generalizovanou myastenií léčených v renomovaném Centru pro diagnostiku a terapii myasthenia gravis neurologické kliniky 1. LF University Karlovy v Praze.

Disertační práce se zabývá imunopatogenezou myasthenia gravis (MG) a jejích jednotlivých podtypů, hledáním klinických ukazatelů- prediktorů hodnocením a výsledků thymektomie, standardních i nově zaváděných léčebných postupů MG .

Cílem práce je zpřesnit klinické ukazatele umožňující jak volbu účinné a racionální léčby, tak individualizovanou péči o myastenické pacienty. To významně může přispět ke zlepšení prognózy a kvality života thymomatózních a nonthymomatózních pacientů s MG .

Jedná se nepochybně o **aktuální a důležité téma**, což souvisí jak s prevalencí MG, tak s biologickou léčbou a dalšími moderními léčebnými metodami využívanými podstatně déle u pacientů trpících jinými závažnými autoimunitními, případně nádorovými chorobami pro léčbu pacientů s MG.

Doktorandská práce má 95 stran textu, 13 stran citované literatury a dvě přílohy. Práce je členěna přehledně, kultivovaným jazykem i stylem. Přináší důležité základní i recentní poznatky, jež jsou významné pro porozumění imunopatogenezi MG, tak pro vlastní práci a interpretaci výsledků.

V souladu s řadu desetiletí trvající tradicí pražské „myastenické“ školy, která se zasloužila rozvoj komplexní péče o pacienty s MG doktorandka vycházela ze spolupráce neurologů,

imunologů, radiologů a chirurgů. Předkládá původní poznatky o léčebném přínosu thymektomie (TE) u pacientů jak thymomatózních, tak nonthymomatózních a analyzuje je v kontextu s nejnovějšími poznatky neuroimunologie a neuroimunofarmakologie.

Úvodní část, mající 30 stran, přináší přehled základních etiopatogenetických, klinických poznatků o MG se zaměřením zejména na imunopatogenezu. Dále se věnuje diagnostickým metodám – jak klinickým postupům, tak elektrofyziologickým metodám, vyšetření autoprotilátek a zobrazovacím metodám, na jejichž podkladě byla stanovena diagnostická kritéria MG. Následuje stručný, ale zasvěcený přehled léčebných metod a péče o pacienty s MG. Je dokladem velmi dobrých a komplexních znalostí doktorandky o MG.

Cíle posuzované práce jsou vymezeny tři cíle - jasně, stručně a přehledně. Vycházejí ze zkušeností získaných doktorandkou během práce ve špičkovém týmu klinických a laboratorních pracovníků v období 2010-2013. Data získala na dostatečně početném souboru pacientů i na základě zpracování laboratorních vyšetření analyzujících lymfocytární subpopulace a tvorbu intracelulárních cytosinů. Připojená kasuistika pacienta trpícího vzácnou Castelmannovou chorobou se zabývá analýzou komorbidity několika autoimunitních chorob. Je podnětná a vhodně disertační práci doplňuje.

Hypotézy –bylo formulováno celkem 8 hypotéz, vycházejících z cílů disertační práce i z pokusu o analýzu uvedené kasuistiky.

Soubor pacientů s generalizovanou MG je dostatečný (n 62) a kritéria pro zařazení do dlouhodobého sledování a do dvou hlavních skupin byla stanovena v souladu s doporučenou praxí a současnými poznatky. Pacienti s thymomem léčených kortikosteroidy (KS) a azathioprinem (AZA) (n 16) a pacienti bez prokázaného thymomu (n 46), z nich část nebyla léčena imunosupresivy (n 12) a část byla léčena KS (n 13) nebo kombinací KS a AZA (n 21), byli vyšetřováni a sledováni podle zvoleného protokolu. Sledová probíhalo po čtyři roky.

Zvolená metodika byla doktorandkou vybrána v souladu se zaměřením a cíli studie. Jednalo se o standardizované neurologické vyšetření, prováděné neurology, věnujícími se pacientům s MG - bylo měřeno kvantitativní skóre (QMGS) a sledována i kompletní stabilní remise (KSR). Z laboratorních metod byla využívána průtoková cytometrie , radioreceptorová analýza a nepřímá imunofluorescence. K statickému zpracování laboratorních výsledků byl použit lineární smíšený model s náhodným efektem na pacienta, dále test poměru věrohodnosti, metoda mnohonásobného srovnávání a Fisherův exaktní test.

Výsledky získané pomocí klinických vyšetření a laboratorních testů jsou uváděny v přehledné a srozumitelné podobě v komentovaných tabulkách a grafech, dovolujících jednoznačnou interpretaci nezbytnou pro testování jednotlivých hypotéz.

Analýzou výsledků neurologického vyšetření a skórování (QMGS,KSR) nebyla potvrzena hypotéza horším pooperačním průběhu u pacientů s thymomem prodělavších thymektomii (TE) oproti pacientům bez thymomu. Právě tak nebyla potvrzena hypotéza o korelaci délky trvání MG u pacientů bez thymomu a horším výsledkem TE.

Naproti tomu byla potvrzena hypotéza o předoperační léčbě kortikosteroidy, jež je dobrým prediktorem příznivého efektu TE. Byla také potvrzena hypotéze, že není rozdílu mezi přínosem TE u séropozitivních a séronegativních pacientů.

Analýzou výsledků laboratorních vyšetření sledujících lymfocytární subpopulace, specifické protilátky a intracelulární cytosiny potvrdila prvou část hypotézy E u cíle č. 2 o efektu konkomitantní imunoterapie na podíl Treg u pacientů bez thymomu rok po TE.

Naproti tomu nebyla potvrzena část hypotézy o vztahu mezi TE a počtem T reg.

Dále byla potvrzena hypotéza F u č. 2 o vlivu TE a současné imunoterapie na pokles autoreaktivity T – buněk. U pacientů s thymomem byla prokázána korelace s výskytem ScMAb v souladu s hypotézou G u cíle č. 2.

Analýza laboratorních a klinických dat získaných u pacientů s Castelmannovým syndromem vedla k závěru, že hypotéza H u cíle č. 3 je validní a čtyři heterogenní autoimunitní jednotky mají společný imunopatogenetický původ.

Diskuse, která navazuje, kvalifikovaně a zasvěceně objasňuje původní poznatky získané vyšetřováním a sledováním početné skupiny pacientů s thymomem a bez thymomu, přičemž dokládá, že obě skupiny profitující obdobně z TE. Interpretuje výsledky je s ohledem na jednotlivé hypotézy. Získané poznatky uvádí doktorandka do širších klinických i výzkumných souvislostí. Vyvozuje závěry důležité jak pro klinickou praxi, tak pro efektivnější péči o pacienty s MG, která, jak doktorandka dokládá, musí být založena na kombinaci včas započaté imunosupresivní léčby, správně a bez průtahů indikované thymektomie a navazující imunoterapie. Práce je nepochybně cenná též pro další výzkum zaměřený jak na studium imunopatogenze, tak na analýzu přínosu biologické léčby a hledání dalších moderních léčebných postupů.

Význam disertační práce je podle názoru oponenta nepochybný. Práce přináší původní poznatky rozšiřující znalosti o MG jak v oblasti základního a klinického výzkumu. Přispěje ke zlepšení kvality péče o pacienty trpící MG.

Publikované práce týkající se tématu, jsou kvalitní a čtyři z nich vyšly v prestižních zahraničních periodicích. Doktorandka byla dvakrát prvou autorkou - IF 2.474 a 2.311, dvakrát pak se jednalo o multiklinické mezinárodní studie publikované v periodiku s IF 2.467. Další tři práce, kdy byla dvakrát prvou autorkou, publikovala v českém periodiku s IF 0.17-0.366. Jednoznačně tedy splila podmínky Oborové rady pro udělení titulu Ph.D.

Oponent na základě výše uvedených skutečností konstatuje, že **posuzovaná dizertační práce je kvalitní a jednoznačně splňuje nároky kladené na dizertační práci v oblasti biomedicíny.**

Doktorandka prokázala svou publikační a výzkumnou činností předpoklady k samostatné vědecké práci, a proto oponent doporučuje udělit titul Ph.D. .

prof. MUDr. M. Bojar, CSc.

15. 4. 2016

Oponent by rád znal odpověď na následující otázky:

1) Jak se bude dále vyvíjet přístup ke skupině séronegativních a dvojitě séronegativních pacientů bez prokázaného thymomu, když i u více než 50% pacientů byly v „normálním“ thymu prokázány zánětlivé změny. Považuje doktorandka za opodstatněné zkrátit interval mezi stanovením diagnózy MG a thymektomií i u pacientů nonthymomatózních?

2) Očekává doktorandka, že v dohledné době budou dostupné metody stanovující hladiny nízkoafinitních protilátek proti AchR? Změnilo by to přístup k „nonthymomatózním“ pacientům s MG?

3) Získané výsledky jednoznačně potvrzují účinnost imunosupresivní léčby, která je nezbytná i u pacientů po TE. Kombinovaná léčba kortikosteroidy a azathioprinem vykazuje větší účinnost než samotné kortikosteroidy. Proč je u jiných autoimunitních chorob tato imunosupresivní léčba považována za málo účinnou a za obsolentní?

4) Jaký vývoj v oblasti imunoterapie, využívání dalších léčebných metod včetně biologické léčby u pacientů s MG lze očekávat?