



Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni
Oddělení vědy a výzkumu
Ing. Daniela Vyzrálová
Husova 3
301 00 Plzeň

V Hradci Králové 6. 6. 2019

Oponentský posudek doktorské dizertační práce (květen 2019)

Název: *Imunologické markery z krve, sputa, BALTE a plicních biopsií při posuzování aktivity a cílenosti léčby chronických zánětlivých a fibrotizujících nemocí plic a průdušek*

Autorka práce: *MUDr. Olga Růžičková Kirchnerová*

Univerzitní pracoviště: Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Klinika pneumologie a ftyzeologie, Fakultní nemocnice v Plzni

Studijní program: Vnitřní nemoci

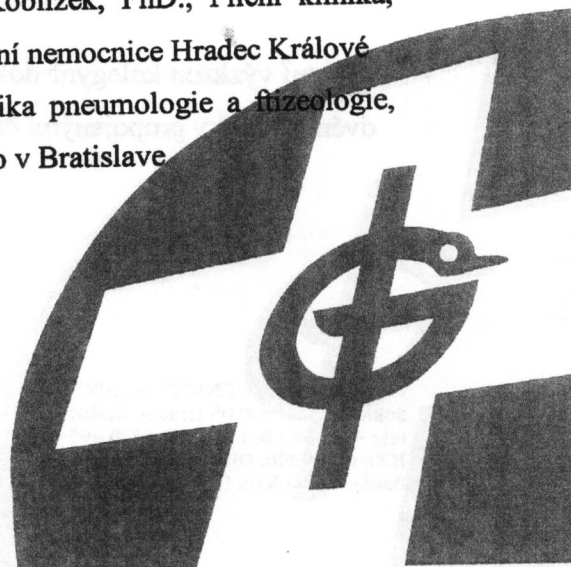
Rok odevzdání doktorské práce: 2019

Školitel: doc. MUDr. Milan Teřl, PhD., Klinika pneumologie a ftyzeologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova a Fakultní nemocnice v Plzni

Konzultant: prof. MUDr. Petr Panzner, CSc., Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova a Fakultní nemocnice v Plzni

Oponent (autor tohoto posudku): doc. MUDr. Vladimír Koblížek, PhD., Plicní klinika, Lékařská fakulta Hradec Králové, Univerzita Karlova a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Další oponent: prof. MUDr. Eva Rozborilová, DrSc., Klinika pneumologie a ftyzeologie, Jesseniova lékařská fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave





Úvod

Oponentský posudek je z formálního hlediska rozdělen na čtyři celky. V úvodním je stručně popsán **obsah obecné a následně výzkumné části** oponované dizertace. Druhý celek posudku se fakticky věnuje **silným stránkám případně limitacím** předložené práce. Ve třetím celku oponent stručně **shrnuje reálný přínos práce** na výzkumném poli respirační medicíny. Poslední čtvrtý celek posudku je věnován **konkrétním otázkám** oponenta na autorku dizertační práce (dvě na obecnou část, čtyři na výzkumnou část).

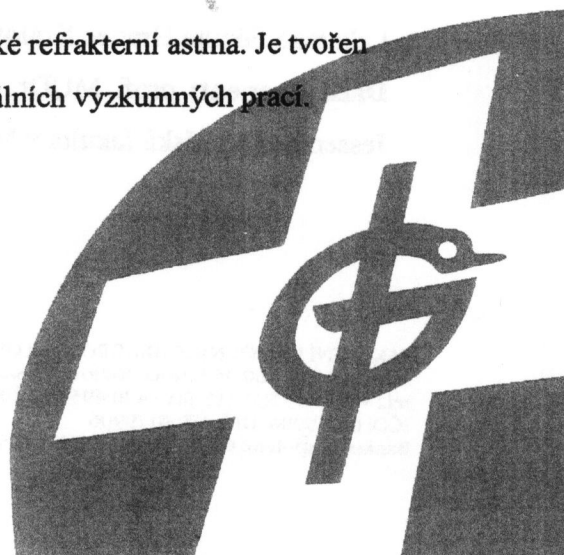
Autor oponentského posudku není v žádném konfliktu zájmů v souvislosti s autorkou dizertace (pouze jednou byli spoluautory českého článku).

Popis práce

Cíle dizertační práce zahrnují: a) vypracování přehledu biomarkerů využitelných u chronických zánětlivých respektive fibrotizujících nemocí respiračního systému (obecná část), b) posouzení klinické využitelnosti těchto markerů v reálné praxi (výzkumná část).

V **obecné části** se paní kolegyně nejprve podrobně věnuje široké skupině respiračních onemocnění: zánětlivých, fibrotizujících, postihujících dolní dýchací cesty i plicní parenchym, a to z pohledu laboratorních, funkčních, zobrazovacích a klinických biomarkerů. Paní doktorka se podrobně snaží vysvětlit potenciální A) diagnostickou, B) monitorační C) terapeutickou a D) prognostickou roli všech těchto biomarkerů tj. různě citlivých biologických indikátorů přítomných u určité podskupiny nemocných a často asociovaných se specifickou molekulárně-celulární etiopatogenetickou variantou jinak velmi heterogenních onemocnění.

Vlastní výzkum kolegyně doktorandky směřuje pouze na těžké refrakterní astma. Je tvořen dvěma logicky propojenými částmi vycházejícími ze 7 originálních výzkumných prací.

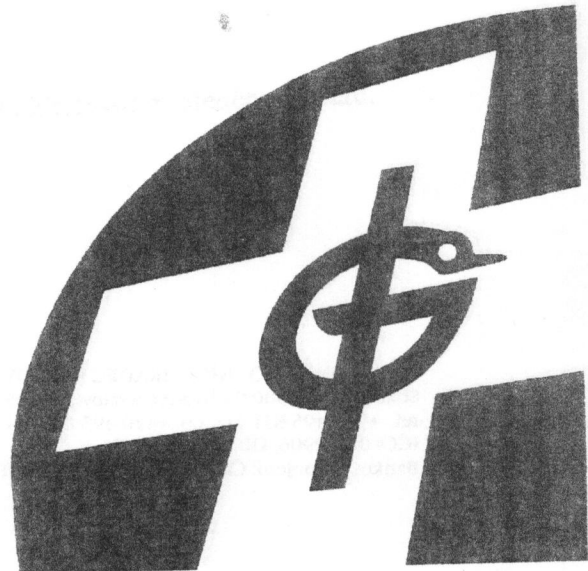




První část výzkumných prací kolegyně Růžičkové Kirchnerové se zabývá nemocnými s těžkým refrakterním astmatem (TRA) a analyzuje u nich využitelnost konkrétních imunologických parametrů (biomarkerů) v oblasti diagnostiky. Tato problematika využívá výsledků tří originálních prací. Jejich společným jmenovatelem je hledání optimálních diagnostických biomarkerů a nejlepší lokality jejich odběru, případně posouzení, co s nimi udělá inhalační, respektive systémová, kortikoterapie.

První dvě práce této části tvoří podrobná *prospektivní analýza* 30 TRA pacientů (tedy pacientů s těžkým refrakterním astmatem léčených vysokými dávkami inhalačních kortikosteroidů s inhalačními dlouhodobě působícími β_2 -mimetiky případně dalšími léky) provedená v letech 2006–2008 na pracovišti autorky dizertace. V práci označené autorkou jako 4.1.1.1 byl porovnáván přínos analýzy buněčného typu zánětu pomocí průtokové cytometrie (automatizované, relativně rychle proveditelné metody) versus klasického cytologického/imunocytochemického vyšetření indukovaného sputa (IS) a tekutiny získané bronchoalveolární laváží (BALTE). Druhá práce (4.1.1.2) se u stejných pacientů zabývala korelací zánětu v horních (nosní biopsie – dále jen NB) a dolních dýchacích cestách (IS a BALTE). Oba dílčí projekty se věnovaly i vlivu systémových kortikosteroidů (40mg/den po dobu 1 měsíce) na výše uvedené biomarkery.

Výsledky těchto projektů (4.1.1.1 a 4.1.1.2) prezentované na více jak 20 grafech různé velikosti se dají shrnout následovně: Analýza buněčné populace biologických vzorků (IS a BALTE) astmatiků pomocí **průtokové cytometrie není plně srovnatelná se zlatým standardem** tedy s kombinací cytologického a imunocytochemického vyšetření. Průtoková cytometrie nenahradí výše uvedená klasická vyšetření. Existuje **úzká spojitost mezi eosinofilním zánětem v oblasti nosní sliznice (dolní nosní skořepky) a sliznice dolních dýchacích cest (IS a BALTE).**





Třetí práce (4.1.2) využila retrospektivní hodnocení 128 nemocných (2004–2011) s různou tíží onemocnění všech tří v České republice uznávaných fenotypů (eosinofilní alergický, eosinofilní nealergická, neeosinofilní), u kterých byl sledován výskyt nosních polypů a intenzita eozinofilie v bronších.

Výsledek této retrospektivně provedené práce přinesl (ve dvou tabulkách a sedmi grafech) zjištění, že **nosní polypóza je asociována zejména s eosinofilním nealergickým astmatem. Eosinofilní zánět nosní sliznice současně dobře koreluje s přítomností nosních polypů.** Čím těžší nasální postižení polypy, tím více eosinofilního zánětu je přítomno v nosní sliznici. Tíže nosní polypózy koreluje s tíží průduškového astmatu. Intolerance nesteroidních antirevmatik provází stejný fenotyp astmatu jako nosní polypy (eosinofilní nealergický).

Druhá část prezentovaného výzkumu se dotýká využití výše zmíněných biomarkerů při personalizované, na fenotypy cílené, léčbě pacientů s těžkým refrakterním astmatem. Tato druhá polovina výzkumu je představována dílčími 4 projekty autorky.

První projekt druhé části doktorandského výzkumu vyhodnocuje česká data multicentrického, mezinárodního observačního registru nemocných léčených omalizumabem pacientů s těžkým eosinofilním alergickým astmatem (4.2.1.1). Jednalo se tedy o post-hoc analýzu výše uvedeného mezinárodního projektu (eXperience).

Výsledek projektu 4.2.1.1 hodnotí efekt léčby omalizumabem 112 osob. Čtyři grafy a tři tabulky potvrzují **příznivý aditivní efekt anti-IgE terapie omalizumabem** na plicní funkci, kontrolu nemoci, výskyt exacerbací a redukci využití zdravotní péče u aktivně léčených nemocných.





Druhý projekt druhé části (4.2.1.2) retrospektivně posuzuje efekt přídatné léčby omalizumabem u 55 nemocných těžkých astmatiků sledovaných pracovištěm autorky mezi lety 2007 a 2017). Terapie omalizumabem byla **efektivní pro pacienty s eosinofilním alergickým typem astmatu a tento efekt trval roky** (po dobu podávání omalizumabu). Terapie omalizumabem dobře fungovala i u nemocných s aspergilovým postižením (alergickou bronchopulmonální aspergilózou či těžkým astmatem s přecitlivělostí na plísň).

Třetí projekt druhé části (4.2.1.3) dokončený v roce 2018 se týkal průřezového měření sérového periostinu u 48 nemocných s těžkým perzistujícím astmatem. Tento projekt byl vypracován v úzké spolupráci s kolegy z Fakultní nemocnice Hradec Králové (MUDr. Jakub Novosad, PhD.). Z výsledků stojí za zmínku: **Zvýšený periostin pozitivně koreluje s celkovou hodnotou IgE a s počtem eozinofilů. Omalizumab je spojen s redukovanou hladinou periostinu.** Naopak chronická rhinosinuitida s nosními polypy je naopak asociována se zvýšenou hladinou tohoto nového biomarkeru.

Posledním, čtvrtým, projektem druhé části (4.2.2.1) je pilotní prospektivní hodnocení prvních šesti astmatických pacientů léčených pomocí bronchiální termoplastiky ve VFN Praha (primář MUDr. Jiří Votruba, PhD.).

Po ošetření většiny nemocných došlo k výrazné redukci subjektivních symptomů, bylo pozorováno zlepšení plicních funkcí, omezení počtu akutních exacerbací a došlo rovněž k poklesu spotřeby úlevové medikace. **Nejlepších efektů bylo dosaženo u pacientů s výraznou pozitivitou bronchodilatačního testu a po použití vyššího počtu radiofrekvenčních pulsů během bronchiální termoplastiky.**

Silné a slabé stránky práce

Silné stránky

Na prvním místě je třeba **pochválit aktuálnost a klinickou využitelnost zvoleného tématu.**





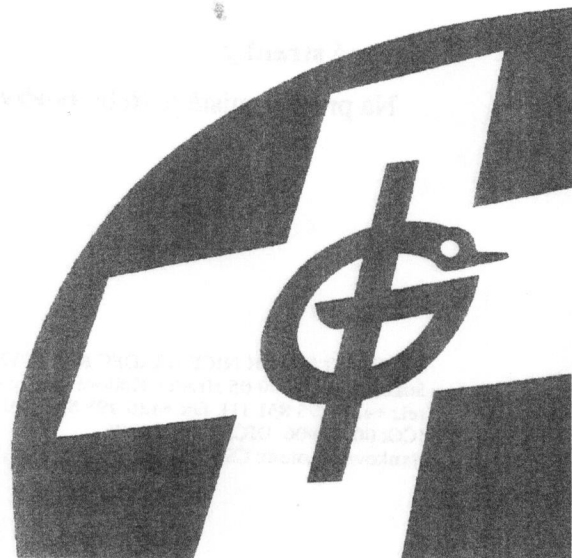
Fragmentace chorob respirační medicíny na desítky různých podtypů/variant/fenotypů je hitem většiny zahraničních kongresů posledních let. Paní kolegyně si za předmět svého zájmu vybrala těžké, k terapii refrakterní astma, se kterým má dlouholeté bohaté zkušenosti. Je to vidět i na faktickém a širokém pohledu na tuto problematiku. **Skvělá informační hodnota originální přehledové tabulky** (strana 64–65) různých typů biomarkerů na poli bronchiálního astmatu si zaslouží publikovat v kvalitním časopise. Sedm originálních projektů postupně popisovaných v rámci výzkumné části dizertace je logicky spojeno a jasně zdůvodněno.

Limitace

Informační (obsahová) i formální hutnost textu je hlavní a vlastně jedinou zjevnou slabinou této práce. Technickými drobnostmi k vytknutí je pak chybění zkratky vysvětlujících legend u většiny grafů ve výzkumné části, případně nestejná velikost a formát uváděných grafů a tabulek, případně to, že některé jsou v češtině jiné v angličtině. Tyto limitace jsou však mocně převáženy výše uvedenými silným stránkami.

Celkové hodnocení

Práce autorky jednoznačně **splňuje požadavky na kvalitní postgraduální dizertační práci**. Je doslova nabytá faktickými informacemi, ilustrovanými mnoha přílohami a 190 recentními citacemi. Ze 126 stránek textu vyznačuje vynikající přehled a nezpochybnitelná klinická zkušenost autorky v dané problematice. Prezentované výsledky zatím vyústily do dvou impaktovaných publikací (u jedné je paní kolegyně prvním autorem) doplněné řadou dalších recenzovaných článků a velkým množstvím zahraničních prezentací dokládají odbornou způsobilost paní kolegyně na výzkumném poli těžkého refrakterního astmatu v ČR i Evropě. **Proto si dovoluji práci jednoznačně doporučit ke kladnému přijetí vědeckou komunitou její fakulty i univerzity.**





Otázky na autorku týkající se obecné části její práce

- 1) Vysvětlete rozdíl mezi pojmem **endotyp** a **fenotyp**. Poté oba tyto pojmy konkrétně ilustrujte u různých forem (variant) průduškového astmatu.
- 2) Co můžete konstatovat o **časové stabilitě hladiny eozinofilů** v různém biologickém materiálu (krvi, sputu, BALTE) u zdravých a respiračně nemocných osob? Jak spolu hodnota eozinofilů v různých typech materiálu (krev, sputum, BALTE) koreluje?

Otázky na autorku týkající se výzkumné části dizertační práce

- 3) Proč byl v první studii (2006–2008 n=30) **prováděn BAL z pravého dolního laloku**. Většina autorů u difuzních procesů volí spíše segmenty středního laloku či linguly (kde je větší šance na dostatečný návrat bronchoalveolární tekutiny během sání).
- 4) Jak vysvětlíte výraznější **rozdíly mezi výsledky průtokové cytometrie a klasické cytologie u nemocných po předchozí měsíční terapii systémovými kortikosteroidy**.
- 5) Považujete **periostin za slibný biologický marker** pro nemocné s těžkým refrakterním astmatem v prostředí České republiky? Pokud ano/ne, proč?
- 6) K analýze **bronchiální hyperraktivity** v praxi často bývá využívána pouze pozitivita bronchodilatačního testu místo bronchokonstrikčního metacholinového testu. Můžete sdělit, zda před bronchiální termoplastikou provádíte bronchokonstrikční test? Nebo jenom bronchodilatační? Jakým způsobem bronchodilatační test provádíte, využíváte kombinaci krátkodobého parasimpatikolytika a krátkodobého β_2 -mimetika (ipratropium a následně salbutamol)? Který se tří vyjmenovaných „českých“ fenotypů astmatu je nejvíce „senzitivní“ k bronchiální termoplastice?

doc. MUDr. Vladimír Koblížek, Ph.D.

Přednosta Plicní kliniky

Fakultní nemocnice Hradec Králové

Wodan

