



POSUDOK

na dizertačnú prácu MUDr. Lucii Karnišovej na tému

„Patogenetické mechanizmy podmieňujúce vznik a rozvoj hemolyticko-uremického syndrómu u detí“

Hemolyticko-uremický syndróm (HUS) je život ohrozujúce ochorenie, ktoré patrí celosvetovo k najčastejším príčinám akútneho poškodenia obličiek u dojčiat a batoliat. Významné pokroky v objasnení patogenézy HUS viedli k medzinárodnému konsenzu expertov, ktorý priniesol racionálny diagnostický algoritmus na rozlíšenie typickej/atypickej formy HUS a aplikáciu vysoko účinnej anti-komplementovej liečby, čo dramaticky zlepšilo prognózu devastujúcej TMA a prežívanie detí so vzácnymi formami aHUS. Drvivú väčšinu všetkých prípadov HUS však spôsobuje STEC-HUS, ktorý má priaznivejšiu prognózu ako zriedkavý aHUS, ale na druhej strane sa terapeutický manažment typickej formy HUS celé desaťročia zásadne nemení. Až 2/3 detí so STEC-HUS vyžaduje v akútnom štádiu dialýzu, pričom rozvinuté ochorenie môže mať búrlivý klinický priebeh s obávanými extrarenálnymi komplikáciami a aj vo veľkých kohortách z terciálnych nefrologických centier hrozí riziko mortality 5%.

HUS je v nefrológií široko diskutovaný a stále živý klinický problém. Preto téma dizertačnej práce, ktorú si zvolila MUDr. Lucia Karnišová je vysoko aktuálna a predstavuje veľkú výzvu pre detských nefrológov, intenzivistov, mikrobiológov a pediatrov.

Dizertačná práca MUDr. L. Karnišovej vhodne nadväzuje na cenné priekopnícke práce prof. Jandu, doc. Bláhovej a doc. Bieloszevskej, ktoré získali ohlas v celoeurópskom meradle. Z tohto aspektu predložená dizertačná práca predstavuje kontinuum českej pediatickej nefrologickej školy a originálnymi výsledkami dopĺňa dôležité ohnivé do zložitej mozaiky tohto závažného ochorenia.

Dizertačná práca MUDr. Karnišovej je napísaná na 72 stranách textu, ktorý je členený do 8 kapitol. Práca sa výborne číta, je písaná pútavo, čistým štýlom, čo sa v dizertačných prácach nevidí často. Text dopĺňa 8 prehľadných tabuliek a 17 obrázkov, ktoré názorne dokumentujú štatisticky spracované výsledky. Literatúra zahŕňa 124 recentných citácií zo svetového písomníctva. Štatistické metódy sú vhodne zvolené, diskusia je konkrétna a vecne konfrontuje získané vlastné výsledky s publikovanými údajmi.

V teoretickej časti autorka na 22 stranách uvádza aktuálnu klasifikáciu trombotickej mikroangiopatie (TMA), príčiny a racionálny diferenciálny algoritmus TMA s dôrazom na aktiváciu systému komplementu v patogenéze TMA. Nosná časť teoretického prehľadu sa sústreďuje na najčastejšiu príčinu TMA, na typický HUS (STEC-HUS), ktorý je hlavnou témou dizertačnej práce. Detailne je opísaná epidemiológia, mikrobiologické charakteristiky jednotlivých typov enterohemorgickej E. coli (EHEC) so zreteľom na ich špecifické vlastnosti virulencie. Autorka sumarizuje hlavné patogenetické mechanizmy shigatoxínom (Stx) mediovaného poškodenia endotelu glomerulov a vznik mikroangiopatickej trombózy. Zdôrazňuje význam mikrobiologickej diagnostiky, ktorá má kľúčovú úlohu nielen v rozlíšení príčin HUS ale vďaka subtypizácii génu Stx umožňuje určiť aj riziko a predikciu priebehu ochorenia (Stx1 a Stx2). Prehľadne sa uvádza klinický priebeh infekcie STEC s rozvojom STEC-HUS, prognóza ochorenia a efektivita liečby vrátane anti-C5 terapie eculizumabom.



V praktickej časti práce si MUDr. Karnišová vytýčila 3 základné ciele s jasne definovanými pracovnými hypotézami, ktoré riešila v 3 samostatných štúdiách, pričom hodnotila viaceré faktory na strane hostiteľa (1 a 2 štúdia) aj vyvolávateľa (3 štúdia). Dizajn štúdie, zvolené pracovné metódy a štatistické spracovanie dát sú adekvátne a zodpovedajú vedeckým požiadavkám.

Vysoko hodnotím najmä mikrobiologickú časť práce, v ktorej sa exaktne overuje vytýčená hypotéza a modernými metódami s celogenómovým sekvenovaním sa identifikovali kmene EHEC, detekcia tvorby Stx a cytotoxicita.

Cieľom práce bolo skúmať:

- 1) či infekcie kmeňom STEC O26 sú spojené s vyššou mortalitou a morbiditou ochorenia
- 2) či aktivácia alternatívnej cesty komplementu je spojená so závažnejším priebehom ochorenia
- 3) či včasná identifikácia kmeňa STEC O26 môže predikovať závažnosť HUS

V 1. štúdií sa retrospektívne analyzovali demografické a klinické údaje v súbore 58 pacientov s HUS, ktorí boli v priebehu rokov 1999-2015 manažovaní v 3 detských dialyzačných centrách v ČR (Praha, Brno, Ostrava). Priemerná ročná incidencia STEC-HUS bola 0.28 prípadov/100 000 detí do 15 rokov. Extrarenálne prejavy malo 31 detí (53.4%), 5 detí zomrelo. U 60.3% chorých bol zo stolice izolovaný zo kmeň STEC.

Autorka podľa klinického priebehu STEC-HUS zisťovala, či infekcie kmeňom STEC O26 sú spojené s vyššou mortalitou a morbiditou ochorenia. Najčastejší sérotyp STEC bol identifikovaný O26:H11 (48,5%), menej často O157:H7, O11 a O145. Nepreukázal sa významný rozdiel v laboratórnych nálezoch a klinike u pacientov s infekciou STEC O26 v porovnaní s O157.

V 2. štúdií MUDr. Karnišová zistila významnú koreláciu medzi vstupnou koncentráciou C3 a potrebou či dĺžkou trvania dialýzy. Na základe korelačnej analýzy stanovila optimálny cut-off hodnotu C3 (0,825g/l) so 100% špecificitou a 75% senzitivitou.

Vedecky najcennejšou časťou dizertačnej práce je **3. štúdia**. Originálne výsledky vzišli z úzkej spolupráce s renomovaným mikrobiologickým laboratóriom doc. Bielaszewskej z Univerzity v Muensteri. Autori celogenómovým sekvenovaním 16 kmeňov EHEC O26 skúmali evolúciu aj geografické šírenie klonov, ktoré rozdelili na dva vzdialené klony – early (EnEC) a Late new Clone (LnC). Identifikovali nový, doteraz neopísaný LnEC (27 kmeňov), ktorý sa líši od nEC (70 SNP, 3 missence mutáciami vo fimbriálnych proteínoch, mutáciou v gène sen/ent a prítomnosťou profága typu II). Z klinického hľadiska je dôležitým výstupom zavedenie PCR metódy cielenej na mutáciu sent/ent génu, ktorá je charakteristická pre Late nEC. Táto rýchla diagnostika jednoducho rozlíši Early a Late nEC.

Záver dizertačnej práce sú jasne formulované a sumarizujú dosiahnuté vedecké ciele.

K predloženej práci mám niekoľko otázok a pripomienok, ktoré však neznižujú jej význam:

- 1) v tabuľke 1 sa uvádza, že 57/58 detí so STEC-HUS malo v predchorobí hnačku. Vykultivovala sa EHEC aj u dieťaťa, ktoré nemalo hnačku?
Prítomnosť hnačiek u detí s aHUS je častá, ale ako často sa vyskytuje STEC-HUS bez prodrómálnych intestinálnych ťažkostí? Sami sme pozorovali dieťa, ktoré malo rozvinutý obraz HUS, bez príznakov hnačiek a kultiváciou stolice sa identifikovala E coli O157.
- 2) ako si vysvetľujete, že v roku 2002 nebol v ČR zaznamenaný žiadny prípad STEC-HUS a v rokoch 2010 a 2011 iba 1 prípad (obrázok 1).
- 3) líšilo sa zastúpenie jednotlivých sérotypov EHEC podľa geografických regiónov (Praha, Brno, Ostrava)?



DETSKÁ KLINIKA LF UK A NÚDCH

Prednostka: prof. MUDr. Ľudmila Podracká, CSc

Limbová 1, 833 40 Bratislava

Tel.: 421- 2-593-71-209,208

E-mail: ludmila.podracka@nudch.eu



- 4) je vami navrhovaná PCR rýchla diagnostika mutácia sent/ent génu už bežne dostupná v mikrobiologických laboratóriách v Čechách?
- 5) Nové poznatky o mikrobiologických charakteristikách EHEC a Stx môžu otvoriť cestu k potenciálnej farmakologickej liečbe. Sú dostupné experimentálne/klinické výsledky s podávaním vakcíny proti EHEC, či Shiga toxín neutralizujúcimi monoklónovými protilátkami (STmAb, Gb3 mimics)?

Vysoko oceňujem, že dosiahnuté výsledky boli publikované v zahraničných renomovaných časopisoch a prezentované na európskych nefrologických kongresoch. Treba vyzdvihnúť, že autorka doplnila praktickú klinickú časť práce o mikrobiologickú štúdiu s využitím najnovších molekulárno-genetických metód, čo zásadne zvyšuje vedeckú hodnotu dizertačnej práce.

Dizertačnú prácu MUDr. Lucii Karnišovej považujem za vysoko aktuálnu a prínosnú pre klinickú pediatrickú a nefrologickú prax.

Odporúčam, aby bol MUDr. Lucii Karnišovej po úspešnej obhajobe udelený vedecký titul

Philosophiae Doctor (Ph.D.)

Bratislava 30.8.2021

prof. MUDr. Ľudmila Podracká, CSc.
detský nefrológ