

Oponentský posudek

Práce: **Analýza senzibilizace na molekulární komponenty stanovené multiplexním systémem ImmunoCAP ISAC u pacientů s atopickou dermatitidou**

Autor: Mgr. Radka Vaňková

Studijní program: Lékařská imunologie

Pracoviště: Ústav klinické imunologie a alergologie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel: doc. MUDr. Jarmila Čelakovská, Ph.D.

Školitel konzultant: prof. RNDr. Ctirad Andráš, Ph.D

Charakteristika práce:

Dizertační práce je vázána v pevných deskách, má 163 stran a je napsána v češtině, pouze články IX-XII, které jsou součástí přílohy, jsou v jazyce anglickém. Práce je rozdělena na úvod (str. 12-50) a praktickou část, která zahrnuje cíle práce (str. 51), materiál a metody (str. 51-66), výsledky (str. 67-79), závěr (str. 79), literaturu (str. 80-89) a přílohy (str. 90-163). Předřazeno je prohlášení, poděkování, dále obsah, seznam použitých zkratk a souhrn češtině a v angličtině. Disertační práce komentuje publikované výsledky vědeckého týmu, jehož je doktorandka členkou. Text je doprovázen 7 obrázky a 4 tabulkami a doplněn přílohami, které zmiňuji v závěru charakteristiky práce (nezapočteny obrázky, tabulky a schémata, která jsou součástí přílohy).

Práce vznikla za podpory programu PROGRES Q40/10 a projektu MŠMT: Vznik Core Facilities pro zlepšení kvality výzkumu spojeného s výukou na LFHK UK v HK, reg. č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002515.

V rozsáhlém úvodu se autorka věnuje epidemiologii atopické dermatitidy, dále současným poznatkům v její etiopatogenezi se zaměřením na genetiku a epigenetiku, poruchu kožní bariéry, imunologickou dysbalanci a podíl vnějších faktorů. V druhé části úvodu rozebírá diagnostické postupy u atopické dermatitidy, zejména laboratorní metody, především pak možnosti diagnostiky alergie časného typu na inhalační a potravinové alergenů se zaměřením na moderní tzv. molekulární komponentovou diagnostiku těchto alergií. Následně popisuje jednotlivé molekulárně definované alergenů s ohledem na riziko rozvoje systémové reakce u potravinových alergenů.

Hlavním cílem práce je zhodnocení přínosu laboratorního stanovení specifických IgE protilátek pomocí multiplexního systému ImmunoCAP ISAC® sIgE 112 u dospívajících a dospělých pacientů s atopickou dermatitidou. V rámci tohoto vyhodnocení si doktorandka stanovila následující úkoly: 1. analýzu senzibilizace na inhalační a potravinové molekulární komponenty u pacientů s atopickou dermatitidou, 2. zhodnocení senzibilizačního profilu u pacientů s mírnou, středně těžkou a těžkou formou atopické dermatitidy a u podskupiny pacientů s atopickou dermatitidou komplikovanou bronchiálním astmatem a alergickou rýmou, 3. zhodnocení výsledků senzibilizace na inhalační a potravinové molekulární alergenů metodou klastrové analýzy, 4. posouzení přítomnosti specifických IgE protilátek reagujících s alergenů vybraných složek potravy.

V praktické části práce je popsán soubor pacientů a metodika, především hodnocení závažnosti atopické dermatitidy, diagnostika bronchiálního astmatu a alergické rýmy a metodika odběrů krevních vzorků. Hladiny sIgE protilátek byly stanoveny pomocí multiplexního systému ImmunoCAP ISAC, u části pacientů použit také multiplexní systém ALEX2. Dále je popsána metodika diagnostiky potravinové alergie a dále eliminační a hypoalergenní diety použité u pacientů v souboru. Detailně jsou rozebrány statistické metody zvolené ke zpracování zjištěných dat.

Výsledky jsou koncipovány jako soubor komentovaných publikací. Dizertační práce zahrnuje celkem 12 publikací, které úzce souvisí s tématem dizertace. Jedná se o 11 původních prací a 1 přehledový článek. Celkem 9 původních prací bylo publikováno v impaktovaném časopise Food and Agricultural Immunology a 1 původní prvoautorská práce v časopise Acta Medica (Hradec Králové). Další 2 prvoautorské práce, původní a přehledová, byly publikovány v časopise Česko-slovenská dermatologie. Vzhledem k rozsahu publikovaných článků jsou v přílohách uvedeny plné texty pouze 4 hlavních publikací souvisejících s cíli této práce (práce č. IX – XII). Zbývající publikace jsou zmíněny formou stručných komentářů (práce č. I – VIII).

Z výsledků vyplývá, že nejčastěji zjištěnou alergií byla v souboru pacientů senzibilizace na alergeny pylu trav (rPhl p 1) a alergen břízy (rBet v 1). U pacientů s těžkou formou AD byl prokázán významně častější výskyt senzibilizace na alergeny bojínku (rPhl p 1), roztočů (rDer f 2, rDer p 2), plísni (rAlt a 6, rAsp f 6) a na zvířecí alergeny (rFel d 1, rFel d 4, rCan f 1, rCan f 5, rEqu c 1, nMus m 1). Výsledky klastrové analýzy byly ve shodě s asociací molekulárních komponent do proteinových rodin dle jejich biochemických charakteristik. Výsledky analýzy molekulárních komponent byly posouzeny s ohledem na klinický přínos pro diagnostiku potravinové alergie u pacientů s AD. Práce neobsahuje diskuzi jako samostatnou kapitolu. V závěrečném shrnutí autorka vyvozuje, že detailní senzibilizační profil pacientů s atopickou dermatitidou ukazuje mj. na důležitost epidermální bariéry, jejíž narušení vede ke zvýšenému prostupu alergenů do organismu. Přítomnost sIgE protilátek metodou ISAC doporučuje vyšetřovat především u dospělých jedinců s těžkou formou atopické dermatitidy, kdy zásadní roli v senzibilizaci mohou hrát především hlavní alergeny pylů trav, stromů, roztočů a zvířecí alergeny. V tomto směru doporučuje zaměřit se na vyšetření sIgE protilátek v rámci klinických postupů a léčby pacientů s AD se zvláštním ohledem na riziko vzniku závažných reakcí.

Použitá literatura zahrnuje 154 citací, převážně recentních.

Následují přílohy, zahrnující formulář hodnocení závažnosti atopické dermatitidy SCORAD, doporučený jídelníček v průběhu eliminační diety a výše zmiňované práce č. IX – XII v plném znění.

Po formální stránce zpracování práce splňuje všechny požadavky na dizertační práci.

Hodnocení:

Aktuálnost zvoleného tématu

Atopická dermatitida je pro svou komplexnost stále nedostatečně probádaná, a to především v oblasti etiopatogeneze. Z hlediska spouštěčů resp. udržujících faktorů chronicity tohoto onemocnění hraje bezesporu významnou roli senzibilizace na nejrůznější alergeny zevního prostředí. V tomto ohledu je již řadu let využíváno stanovení specifického IgE pomocí extraktových alergenů z přírodních zdrojů. Současný pokrok v biotechnologiích však umožnil přesnější diagnostiku pomocí molekulární komponentové diagnostiky, čehož se již běžně využívá u alergického astmatu či

rinokonjunktivitidy, nikoli ale rutinně u atopické dermatitidy. Z tohoto hlediska je tedy analýza senzibilizace na molekulární komponenty stanovené multiplexním systémem ImmunoCAP ISAC u pacientů s atopickou dermatidou tématem velice aktuálním.

Metody zpracování dizertace

Výsledky vyšetření sIgE proti 112 molekulárním komponentám (ImmunoCAP ISAC® sIgE 112) a klinické údaje s výsledky otevřeného expozičního testu byly přehledně zpracovány do tabulek. Pro zhodnocení vztahu mezi hladinou sIgE a závažností atopické dermatitidy a/nebo výskytem bronchiálního astmatu a/nebo výskytem alergické rýmy byl použit test nezávislosti chí-kvadrát. Četnost senzibilizace na molekulární komponenty vlašského a lískového ořechu, jablka, broskve, celeru a arašídů byla graficky znázorněna pomocí Vennových diagramů. Výsledky sIgE protilátek stanovené ImmunoCAP ISAC byly zároveň zpracovány pomocí klastrové analýzy. Mohu konstatovat, že metody zpracování výsledků dizertační práce byly zvoleny vhodným způsobem.

Výsledky dizertace s uvedením nových poznatků

Vcelku očekávatelně byl potvrzen vztah mezi závažností atopické dermatitidy a hladinou sIgE protilátek proti molekulárním komponentám. Bylo zjištěno, že senzibilizační profily se liší ve skupinách podle závažnosti AD - ve skupině pacientů trpících mírnou formou AD byla zjišťována především senzibilizace na alergeny pylů trav, stromů a s nimi zkříženě reagujících alergenů ze skupiny PR-10 proteinů (řada potravinových alergenů rostlinného původu). Pacienti se středně těžkou a těžkou formou AD byli kromě senzibilizace na pylu trav, častěji senzibilizováni na alergeny roztočů domácího prachu a na zvířecí alergeny, což naznačuje možná klíčovou roli alergie na roztoče v rozvoji polyvalentní senzibilizace u středně těžkých a těžkých atopiků. Navíc tyto profily byly ovlivněny přítomností resp. nepřítomností bronchiálního astmatu či alergické rýmy. Opakovaně byla potvrzena možná souvislost mezi senzibilizací na některé alergenní komponenty a závažností AD. Co se týče potravinové alergie, byl ve sledovaném souboru pacientů s atopickou dermatidou zjištěn neobvykle vysoký počet pozitivních reakcí na alergeny arašídů. Výsledky dizertační práce jsou přínosné především v tom, že je dosud velmi málo prací (u nás i v zahraničí), které by se takto detailně zaměřily na popis senzibilizačního profilu u dospělých pacientů s atopickou dermatidou. Přesné informace o senzibilizaci pacientů s atopickou dermatidou jsou nezbytné z hlediska režimových a eliminačních opatření u zjištěných alergií a navíc by v budoucnu mohly pomoci lépe zacílit specifickou alergickou imunoterapii u vybraných pacientů s AD.

Splnění cíle dizertace

Všechny čtyři hlavní cíle dizertační práce, tedy analýza senzibilizace na inhalační a potravinové molekulární komponenty u pacientů s atopickou dermatidou, zhodnocení senzibilizačního profilu u pacientů s mírnou, středně těžkou a těžkou formou atopické dermatitidy a u podskupiny pacientů s atopickou dermatidou komplikovanou bronchiálním astmatem a alergickou rýmou, zhodnocení výsledků senzibilizace na inhalační a potravinové molekulární alergeny metodou klastrové analýzy a posouzení přítomnosti specifických IgE protilátek reagujících s alergeny vybraných složek potravy byly bezesporu naplněny.

Připomínky:

Práce je napsána přehledně a srozumitelně, prakticky bez pravopisných chyb (např. str 16 zcela dole „keratinocyty jsou schopni sestavit funkční inflammasom...“ – správně schopny) či překlepů (např. v závěru na začátku posledního odstavce: „ na základě přítomnost IgE..., správně na základě přítomnosti IgE...).

V obecné části bych více vyzdvihnul roli zlatého stafylokoka, který kolonizuje ložiska atopické dermatitidy prakticky u všech atopiků a je výrazným způsobem zodpovědný za masivní stimulaci imunitního systému mimo jiné i proto, že funguje jako tzv. superantigen.

V části praktické pak postrádám diskuzi, která by sjednocujícím způsobem zhodnotila výsledky práce resp. prací a porovnávala je s výzkumem jiných autorů zabývajících se touto problematikou.

Dotazy:

1. Vylučovacím kritériem pro zařazení do výzkumu byla systémová léčba, přitom většina těžkých atopiků je dlouhodobě na systémové léčbě. Jak náročný byl nábor pacientů v této skupině? Ukončovali jste případně u některých pacientů systémovou léčbu před zařazením do výzkumu, a pokud ano, jak dlouho předem?
2. Kdo prováděl klinické vyšetření pacientů s atopickou dermatidou vč. skóre SCORAD a kdo hodnotil anamnézu, efekt diety či exacerbace spojené s expozičními testy?
3. U jakých pacientů s atopickou dermatidou byste doporučovala stanovení sIgE pomocí molekulární komponentové diagnostiky a u kterých „ stačí“ pouze klasická metoda za použití extraktových alergenů?
4. Jaká byla nejčastější manifestace potravinové alergie u atopiků a byla případně její závažnost v nějaké korelaci s tíží atopické dermatitidy?
5. Myslíte si, že detailní určení senzibilizace pomocí CRD může znamenat průlom ve specifické alergenové imunoterapii pacientů s atopickou dermatidou?

Závěr: Mgr. Radka Vaňková prokázala tvůrčí schopnosti v oblasti alergologicko-imunologického výzkumu, a proto její práci s názvem „Analýza senzibilizace na molekulární komponenty stanovené multiplexním systémem ImmunoCAP ISAC u pacientů s atopickou dermatidou“ doporučuji k obhajobě.

V Brně dne 29. 7. 2021

MUDr. Miroslav Nečas, Ph.D.

zástupce přednosty pro LPP I. DVK LF MU a FN

u sv. Anny v Brně

