

DISERTAČNÍ PRÁCE

Biomarkery u dětí se syndromem periodické horečky.
MUDr.P.Krol

Předkládaná práce zahrnuje teoretický přehled o periodických syndromech a vlastní práci týkající se onemocnění PFAPA (periodic fevers with aphthous stomatitis, pharyngitis,adenitis), jedné z nejčastějších forem periodických horeček.

Práce má klasickou strukturu odpovídající disertační práci, stejně tak rozsah práce je obvyklý. Celkově tedy práce zapadá do schématu postgraduálního studia.

Níže diskutujeme určité otázky či nejasnosti podle jednotlivých kapitol.

Otázky a nejasnosti:

Abstrakt

Abstrakt je celkově v pořádku, ale obsahuje nepřesné formulace, jako je hladina naivních T lymfocytů (týká se procentuálního či absolutního zastoupení buněk, ne o hladiny, naivní T lymfocyty navíc nejsou v abstraktu definovány). Údaj o Vyšší proporcí CD8 lymfocytů u tonsil je dosti matoucí, není vysvětleno, proti čemu jsou vyšší. Vzestup cytokinů u PBMC taktéž není vysvětlen, takže celkové vyznění abstraktu je rozpačité – našly či nenalezly se zmiňované markery periodické horečky, a pokud ano, jaké jsou?

Úvod

Úvod do problematiky je taktéž v mnoha ohledech nepřesný. Je obsahově velmi omezený jenom na několik jasně definovaných syndromů. Bohužel nezahrnuje nové výsledky, které ukazují celou oblast autoinflamatorních onemocnění v nečekané šíři, kterou tato práce zcela pomíjí.

Str. 7 – onemocnění jsou provázena lokálním zánětem – nejedná se při přítomnosti horečky spíše o zánět systémový?

Str.22 IL-4 je zde a opakovaně dále definován jako protizánětlivý cytokin, což je značně nepřesné. Přesto, že některé práce zkoumající některé vybrané aspekty IL-4 jej označují za protizánětlivý, má hlavně funkce ve vývoji lymfocytů a určité jeho vlastnosti mohou být i prozánětlivé. Stejný komentář platí pro IL-12. Výběr a dělení cytokinů použité v práci nejsou v práci dostatečně specifikovány a vypadají jako náhodné. Bylo by příhodné tuto část lépe vysvětlit, spojit sekreci cytokinů s očekávanými podněty a buněčnými populacemi a uvést toto do souvislosti s předpokládanou patogenezi PFAPA.

Vlastní práce

Metody jsou v práci uvedeny velmi neurčitě, až nepřesvědčivě. Str.30 měření a vysvětlení PD-1 je povrchní, nedostatečně pospané a nedostatečně diskutované, buněčné kultury jsou nedostatečně definované. Zmínka o monocytární linii je nejasná. Zdroje buněk, z nichž měly být získány supernatanty, jsou taktéž nespecifikované, není například uvedeno, jak se získaly buňky z tonsil? Jaké buněčné populace byly používány v periferní krvi?

Mikrobiologická vyšetření jsou metodicky správně, ale není vysvětleno, jak se byl vybrán panel vyšetřovaných mikroorganismů a jakou relevanci tento výběr má pro syndrom PFAPA.

V práci jsou gramatické chyby, viz zrovna str. 31, metody – tonsily byly

Klinická část práce je dobře popsána, i když velikost kontrolních skupin a jejich charakteristika není v práci nikde jasně shrnuta.

Vyšetření sérových cytokinů taktéž není dobře podáno – opětovně jsou nejasné kohorty pacientů, podle obrázků to vypadá, že nebyly pro všechny cytokiny stejné, zvláště u IL-1 byl počet kontrol zřejmě výrazně menší než pacientů. Dynamika IL-1 a IL-6 odpovídá charakteru zánětlivé odpovědi a dobře vystihuje PFAPA klinické projevy.

Vyšetření buněčných populací je hezky provedeno a dokumentováno (i když obrázky v práci nejsou ostré). Nález zvýšení naivních CD8 pozitivních T lymfocytů v tonsile u PFAPA je zajímavý.

Bylo by velmi zajímavé zjistit, zda jsou tyto lymfocyty zdrojem dříve diskutovaného interferonu gama.

Zatoupení buněk v tonsilách je na obrázku 7A., který by ale zasloužil daleko lepší kvalitu a lepší diskusi – obrázek ukazuje velmi zajímavou PD-1 vysoce pozitivní populaci, která je CD45RA negativní, ale je velice výrazně přítomna u kontrol a ne u pacientů. Tato populace není vůbec diskutována. Viz str. 45

Obr. 8 je opětovně velmi špatné kvality a neodpovídá obrázku 7.

Obrázek 9 kvalitou bohužel odpovídá ostatním. Není jasné, zda byly buňky stimulovány pouze anti CD3, jak je uvedeno v legendě, nebo anti CD3 a LPS, jak je uvedeno v metodách. Není jasné, proč byla vybrána tato stimulační agens?

Strana 48 končí nedokončenou větou – vypadlá stránka?

Mikrobiologické vyšetření je hezky zpracováno, výsledky zajímavé, i když stále není jasné, jak se vybralo spektrum vyšetřovaných mikroorganismů hlavně genetickými metodami.

Diskuse

Není pravdou, že PFAPA je jediné autoinflamatorní onemocnění, které není geneticky podloženo.

Klinické popisy v diskusi jsou adekvátní. Diskuse o imunitních mechanismech PFAPA však prakticky chybí, a diskuse o jednotlivých cytokinech taktéž nedává dobrý obraz možné patogeneze choroby. Nálezy vyšších hodnot IL-1 a IFN gama jsou diskutovány spolu, i když se jedná o zcela odlišné části imunitní reakce – IL-1 je dominantně sekretován buňkami vrozené imunity, zatímco IFN gama naopak hlavně Th1 buňkami. Trochu lépe je tato oblast pojata v další diskusi o jednotlivých cytokinech. Celkově je však diskuse velmi popisná, prakticky bez jasných závěrů či spojení jednotlivých linií experimentů dohromady. Celkově se z výsledků a diskuse dá usuzovat, že žádný biomarker vhodný pro diagnózu či monitorování PFAPA nebyl nalezen.

Přehled literatury

Citace literárních zdrojů nejsou v práci číslovány. Seznam literatury je sice rozsáhlý, nicméně není jasné, zda jsou všechny uvedené práce opravdu v textu citovány. Seznam je navíc ve formátu nezvyklém pro publikace či disertační práce, zřejmě je rovnou převzat ze seznamů hlášených do národních informačních systémů.

Celkově se jedná o standardní práci kandidátky, která splňuje kritéria disertačního řízení. Práce je publikačně doložena, prakticky kopíruje výsledky, které jsou v příložených publikacích.

Práce je jednoznačně napsána kandidátkou, která má klinickou erudici, nicméně vykazuje nedostatky ve vlastní experimentální práci. Výsledky jsou nepřesně prezentovány a diskutovány a nevedou k jasnému závěru, který ani v práci nebyl formulován.

Celkově práce vyznívá spíše zklamáním a nevyužitou příležitostí popsat a přispět k nově vznikajícímu a velmi zajímavému oboru autoinflamatorních onemocnění.

Nejzajímavější vyšetření tonsil je nejvýznamnější částí práce. Je trochu s podivem, že v práci není vyjádřeno poděkování nebo upozorněno na podíl kolegů, kteří tuto část vypracovali, ať už jsou to specialisté ORL, mikrobiologie, patologie či imunologie.

Případné otázky na kandidátku vycházejí z poznámek v textu:

Jak kandidátka sama hodnotí výsledky práce, byly, nebo nebyly nalezeny biomarkery PFAPA u dětí, jak je uvedeno v názvu?

Který z diskutovaných cytokinů je podle kandidátky stěžejní pro PFAPA a se kterou buněčnou populací je spojen?

Je PFAPA dominantním onemocněním vrozené či získané imunity?

Rýsují se další terapeutické postupy u PFAPA?

Jsou rozdíly ve výskytu PFAPA v různých zemích, je výskyt onemocnění častější než v minulosti?

V Praze, 29.4.2016

Prof.MUDr.Anna Šedivá,

Ústav imunologie 2.LF UK a FN v Motole