

UNIVERZITA KARLOVA

2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Neurologická klinika 2. LF UK a FN Praha-Motol

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 Motol

## OPONENTURA – POSUDEK

Dizertační práce: **MUDr. Eva Hynčicová z 2. LF UK Praha-Motol:**

### *Pomocné markery při sledování pacientů v časně fázi roztroušené sklerózy*

Dizertační práce má 80 stran a 5 příloh, které tvoří publikace vztahující se k řešenému tématu, kterému se uchazečka věnuje, a představují hlavní kapitoly této dizertace. Použitá literatura je uvedena na 16 stranách, součástí je i seznam publikací doktoranda, které jsou podkladem dizertace a současně jsou uvedeny také publikace doktoranda, které nemají vztah k tématu dizertace, včetně IF. Originál dizertace je v českém jazyce, přílohy – publikace jsou v anglickém a českém jazyce podle periodika, ve kterém byly prezentovány. Autoreferát je v českém jazyce, abstrakt dle kritérií v českém a anglickém jazyce.

### **Aktuálnost řešeného tématu**

Hledání pomocných markerů umožňujících hodnotit vývoj onemocnění a účinnost léčby u pacientů s klinicky izolovaným syndromem (CIS), kteří jsou v riziku konverze do definitivní formy roztroušené sklerózy (RS), je vysoce aktuálním tématem.

Ve velmi srozumitelně formulované úvodní části věnované etiopatogenezi, klinickým a diagnostickým aspektů je logicky věnována dominantní pozornost diagnostickým a prediktivním markerům RS ve zkoumané oblasti kognitivních poruch a neuropsychiatrických příznaků v korelaci se strukturálními obrazy na magnetické rezonanci (MR) mozku. V tomto kontextu je prezentován vývoj diagnostických kritérií včetně nejnovějších parametrů poslední aktualizace McDonaldových kritérií z roku 2017.

Naproti tomu léčba RS není prezentována a rozdělena podle její účinnosti a klinickou aktivitu řeší v případě dimethylfumarátu a fingolimodu podle anomálních úhradových kritérií ČR, která, jak je známo, nemají ve světě obdoby.

V případě markerů sledujících odpověď na léčbu jsou uvedeny již známé markery, neutralizační protilátky proti interferonu-beta (IFN $\beta$ ) a Myxovirus resistance protein A (MxA) v léčbě IFN $\beta$ , zavedené v ČR do klinické praxe týmem odborníků, jehož je doktorand členem.

Formulované cíle a hypotézy dizertační práce byly hlavními tématy jednotlivých dílčích studií a současně podkladem publikací, které jsou přílohou této dizertační práce.

První studie zkoumá kognitivní profil u pacientů s CIS v korelaci se strukturálními nálezy na MR mozku. V dalších dvou studiích je tématem hodnocení klinického postižení, kognitivních potíží, neuropsychiatrických příznaků a kvality života. Současně byla provedena korelace mezi strukturálními nálezy na MR mozku a mírou neuropsychiatrických potíží. Hodnocení prediktivního významu kognitivních poruch a neuropsychiatrických příznaků pro riziko vývoje definitivní formy RS a jejich

hodnocení strukturální korelace na MR mozku je jednoznačně aktuálním přínosem této dizertační práce.

Cílem poslední studie bylo zhodnotit účinnost léčby IFN $\beta$  prostřednictvím sledování dynamiky neutralizačních protilátek (NAbs) a messenger ribonukleové kyseliny (mRNA) a MxA. Na reprezentativním souboru 119 pacientů léčených IFN $\beta$  vyhodnotit význam obou laboratorních markerů s doporučením způsobu aplikace v klinické praxi.

### **Metody, postupy a výsledky**

Metodicky podle jasně definovaných kritérií pro soubor pacientů s CIS byly zkoumány kognitivní funkce za pomoci baterie kognitivních testů v první studii v korelaci se strukturálními změnami na MR mozku. Významným faktorem je srovnání s kontrolní skupinou zdravých dobrovolníků. V dalších dvou studiích se shodnými vstupními kritérii pro pacienty s CIS byla hodnocena korelace zobrazení na MR mozku s kvalitou života a neuropsychiatrickými příznaky za použití baterie dotazníků, hodnocení subjektivně vnímaných potíží (deprese, úzkost a kvalita života). Vyzdvihnout je nutno použití v ČR validovaného Dotazníku životní spokojenosti a opět srovnání se skupinou zdravých dobrovolníků. Použité metody statistické analýzy těchto tří studií umožnily prezentovat získané výsledky. Rozdíly mezi skupinami týkající se definovaných parametrů byly analyzovány pomocí dvouvýběrového Studentova T-testu, rozdíly mezi skupinami mužů a žen chí-kvadrát testem, rozdíly v celkových skórech ve vztahu k charakteru proměnných za pomoci Mann-Whitneyova U testu nebo vztahy mezi skóry pomocí Spearmanova koeficientu pořadové korelace. Hypotézy byly testovány na zvolené hladině významnosti  $\alpha = 0.005$ .

Poslední studie je věnována stanovení hladin mRNA MxA a NABs u pacientů léčených IFN $\beta$ . Jedná se o homogenní soubor pacientů ze dvou Center pro diagnostiku a léčbu demyelinizačních onemocnění v Praze. MxA jako přímý ukazatel funkce IFN $\beta$  byl vyšetřován metodou PCR, kdy se stanovuje množství transkribované mRNA MxA. V definovaném souboru byl vyšetřován před první aplikací IFN $\beta$  a následně sledována dynamika odběry v pravidelných 3 měsíčních intervalech. NABs byly vyšetřovány metodou cytopatogenního efektu, titer je vyjadřován TRU/ml (tenfold reduction unit/ml) a pozitivita je chápána v případě stanovení ve dvou po sobě následujících vyšetřeních po 3 měsících. K analýze vstupních hodnot byla použita ROC křivka a výpočet mediánu, tercilu a kvartilu. Pro výpočet rizika relapsu byl použit Coxův model proměnných rizik s 95% intervaly spolehlivosti. Pro stanovení statistické signifikance byla zvolena hladina významnosti  $\alpha = 0.005$ .

Z výsledků prezentovaných jednotlivých dílčích studií dizertační práce je nutno konstatovat, že u pacientů s CIS byl zaznamenán korelát mezi horšími výsledky testu zrakově prostorových funkcí a menším objemem nWM (Normalized white matter volume) a zůstal signifikantní konstantně v regresní analýze k věku, pohlaví a rokům vzdělání. Byl nalezen vztah mezi vyšším skórem EDSS a nižším objemem nBP (Normalized brain parenchymal volume) již dříve publikovaný u pacientů v časně fázi RS. Podporuje závěr, že závažnější klinické postižení u pacientů s CIS je spojeno s výraznější celkovou mozkovou atrofií.

Kognitivní postižení bylo přítomno u 18-37% pacientů s CIS a profil postižení byl obdobný jako je popisován u pacientů s definitivní RS.

Při hodnocení korelace mezi strukturálními změnami na MR mozku a neuropsychiatrickými příznaky vyšší skór anxiety koreloval s nižším objemem nWM a vyšší skór depresivity koreloval s vyšším objemem lézí v pravém temporálním laloku. Tyto vzájemné vztahy zůstaly signifikantní po lineární regresní analýze se zohledněním příslušných kovariátů. Ostatní vztahy mezi neuropsychiatrickými příznaky a nálezy na MR mozku nebyly signifikantní.

U pacientů s CIS byl prokázán vyšší výskyt depresivní a úzkostné symptomatiky než u kontrolní skupiny a souvisela s horší kvalitou života. Práce naznačuje současně souvislost mezi kvalitou života a kognitivními potížemi u pacientů s CIS. V porovnání s kontrolní skupinou byl u pacientů s CIS prokázán vyšší výskyt depresivní a úzkostné symptomatiky, nikoliv apatie a únavy. Z práce vyplynulo, že apatie není běžným příznakem u pacientů z CIS oproti pacientům s definitivní RS. Rovněž přítomnost únavy u pacientů s CIS v prezentované studii se nepotvrdila v rozporu s literaturou, kde se uvádí jako prediktor konverze do definitivní formy RS.

V interpretaci výsledků jsou uvedeny limitace hodnocení studií, které mají průřezový charakter a limituje jejich prediktivní význam. Zmíněna je i potencionální možnost ovlivnění neuropsychiatrických příznaků terapií IFN $\beta$ .

Pokles mRNA MxA pod stanovenou cut off hodnotu a současná pozitivita NABs jsou považovány za markery neúčinnosti léčby IFN $\beta$ . U většiny pacientů byly NABs poprvé zjištěny po 12. nebo 18. měsíci léčby IFN $\beta$ . V prezentovaném souboru celkem 10 pacientů mělo trvalou pozitivitu NABs a současně byl pokles hladiny mRNA MxA. Po vyřazení pacientů s trvalou nebo přechodnou pozitivitou NABs nebylo zjištěno zvýšené riziko relapsů u pacientů s poklesem hladiny mRNA MxA. U klinicky stabilizovaných pacientů s negativitou NABs byly tendence k vyšším hodnotám mRNA MxA, nicméně se průměrné hodnoty signifikantně nelišily. Nebyl prokázán signifikantní rozdíl ve vstupních hodnotách mRNA MxA mezi pacientem bez rozvoje NABs a pacienty s pozitivitou NABs. Nebyla nalezena souvislost mezi klinickou aktivitou a hladinou mRNA MxA u pacientů se zachovanou účinností IFN $\beta$ . Vstupní hladina mRNA MxA nepredikovala účinnost na terapii IFN $\beta$  ani pravděpodobnost rozvoje NABs.

### **Přínos pro vědu a klinickou praxi**

Kognitivní postižení u pacientů s CIS bylo v hodnocené studii rozsáhlejší než v odborné literatuře a ukazuje na indikaci použití baterie neuropsychologických testů, kterými lze tento rozsah kognitivního postižení detekovat.

Rozvoj NABs nemusí souviset vždy se ztrátou účinnosti IFN $\beta$  a při stejné terapii může být efekt terapie u některých pacientů zachován. Doporučeno je proto kromě vyšetřování NABs u pacientů léčených IFN $\beta$  stanovovat hladiny mRNA MxA k ověření účinnosti terapie.

### **Formální zpracování**

Po formální stránce nelze práci nic vytknout, snad jenom při formátování textu došlo ke změnám ve zvýraznění textu, které však je nepochybně závadou tiskárny nikoliv autorky práce.

### **Hodnocení a otázky na autora**

Dizertační práci hodnotím jako velmi přínosnou, zejména ve zvoleném tématu hledání klinických neuropsychologických markerů predikujících přístup k nemocným ve fázi CIS nebo dokonce klinicky využitelné v rámci prvotní diagnostiky RS.

Inspirování je rovněž korelace zobrazených lézí na MR mozku s bateriemi testů hodnotících kognici a neuropsychiatrické příznaky. Zejména pak s poukazem na vyšší skóre anxiety korelující s nižším objemem nWM a vyšší skóre depresivity korelující s vyšším objemem lézí v pravém temporálním laloku.

**Otázky:**

1. Proč zohledňuje doktorand úhradová kritéria v postavení dimethylfumarátu a fingolimodu při jejich známé účinnosti v práci, která by se měla řídit výhradně kritérii odbornými?
2. Jaký přístup by zvolila u pacientů s CIS, kteří vykazující stabilně negativitu NABs a hladinu mRNA MxA nad hodnotou cut off léčených IFN $\beta$  bez relapsů a stabilním EDSS, kteří na druhé straně vykazují neuropsychiatrické příznaky a kognitivní poruchy?

**Oponent bezvýhradně doporučuje udělit MUDr. Evě Hynčicové vědeckou hodnost Ph.D.**

Doc. MUDr. Radomír Taláb, CSc.

Neurologická klinika LF UK a FN Plzeň

Alej Svobody 80, 304 60 Plzeň

18. 05. 2018