

Univerzita Karlova	12680
Přijato: 06.06.2019 v 07:36:55	Odbor
Č.j.: UKLFHK/144106/2019	
Č.dop.: RR089265911CZ	Zprac.
Listů: 4 Příloh: 8	
Druh: písemné	

Oponentský posudek



na doktorskou disertační práci *MUDr. Pauly Morávkové* z Lékařské fakulty v Hradci Králové UK Praha.

Téma práce: S100 proteiny u idiopatických střevních zánětů a kolorektálních neoplazií

Práce byla napsaná v rámci doktorského studijního programu oboru vnitřní nemoci a odevzdaná v roce 2019. Školitelkou doktorandky je doc. MUDr. Darina Kohoutová, Ph.D. a školitelem konsultantem prof. MUDr. Jan Bureš, CSc., FCMA.

1. Aktuálnost zvoleného tématu

Ulcerózní kolitida byla uznaná jako samostatná nosologická jednotka již před více než 100 lety (1913) a Crohnova choroba o 20 let později. Jejich etiopatogeneze však není stále objasněná a panuje názor, že je multifaktoriální. U geneticky predisponovaných osob vlivem faktorů zevního prostředí dochází k narušení rovnováhy barierových slizničních mechanismů, k abnormální imunitní odpovědi a chronické zánětlivé reakci v trávicím traktu. Jednotlivé kroky těchto dějů, které jsou na molekulárně - genetické úrovni, jsou dnes předmětem intenzivního studia, zejména s rozvojem biologické léčby.

Výzkum kolorektálních neoplazií (autorka v disertační práci studovala sporadicky kolorektální karcinom) se po poznání pomalé progresse adenomu v karcinom, zaměřil na genové mutace s nestabilitou signálních drah a narušením opravných dějů. Druhým hlavním předmětem ve výzkumu kolorektálního karcinomu (CK) je role střevního mikrobiomu a faktorů které jej ovlivňují.

Je pozoruhodné, i když Moore a McGregor již v roce 1965 publikovali práci o chromatograficky a elektroforeticky prokázaném malém rozpustném proteinu z mozkové a jarní tkáně, nazvaném pak S100 proteiny (autorka disertace práci cituje), klinických výstupů z tohoto důležitého poznatku bylo zpočátku málo a nárůst je až v posledních dvou desetiletích. Tím spíše je třeba vyzvednout, že již v roce 1999 publikovali autoři z LF Hradec Králové (Stulík J a spol., včetně školitele konsultanta doktorandky prof. Bureše) práce týkající se exprese S100 v normální sliznici tlustého střeva a tkáně CK. I z řady dalších originálních prací je patrné, že badatelský zájem hradecké školy o etiopatogenezi a s ní související diagnostické a léčebné metody nádorových a zánětlivých chorob GIT je tradiční, systematický, uplatňující nové poznatky tak jak přicházejí. Tímto pohledem je třeba posuzovat předloženou disertační práci MUDr. P. Morávkové, týkající se S100 proteinů u idiopatických střevních zánětů a kolorektálních neoplazií. Práce splnila všechny své cíle, je

nejen u nás zcela originální ale hlavně představuje příkladný výstup tj. doktorskou práci, vědeckého zaměření LF v HK a II. interní gastroenterologické kliniky.

2. Cíle práce a jejich splnění. Autorka disertace cíle originálním způsobem (vždy nulová hypotéza s možností ji zamítnout) rozdělila do dvou částí: a. stanovení diagnostického přínosu sérové koncentrace S100A4 u pacientů s idiopatickými střevními záněty a určení tohoto parametru v predikci jednotlivých fenotypů a tíže idiopatických střevních zánětů. b. druhým cíle práce bylo určit asociaci proteinů S100 (S100A6, S100A8, S100A11 a S100P) s nepokročilou a pokročilou kolorektální neoplazií a statovit pozitivní a negativní hodnotu S100 u kolorektálních neoplazií a určit možné klinické využití jako biomarkru kolorektálních neoplazií. Jak je již výše napsané, všechny cíle disertační práce byly splněny.

3. Metody zpracování a charakteristiky souboru nemocných

Jde o prospektivní studii.

Sérové koncentrace jednotlivých proteinů S100 byly stanoveny ze vzorků periferní krve z kanyly, zavedené do periferní žíly před diagnostickou nebo terapeutickou koloskopii na II. interní gastroenterologické klinice LF a FN v HK. Vyšetření vzorků bylo provedeno na Ústavu klinické biochemie a diagnostiky, resp. na Ústavu klinické imunologie a alergologie LF HK a sice metodou ELISA použitím souprav z USA, Japonska nebo Číny.

Soubor nemocných pro měření S100A4: 9 kontrolních osob, 93 nemocných s CN (byli klasifikováni podle Montreálské klasifikace) a 16 nemocných s UC. U všech byla hodnocena léčba, včetně biologické. Soubor pro stanovení S100A6, S100A8, A100A9 a S100A11 tvořilo: kontroly 20 osob, nepokročilý adenom 20 osob, pokročilý adenom 22 nemocných a CK také 22 osob. Soubor nemocných pro stanovení S100P zahrnoval 35 zdravých osob a skupinu 43 osob s CK. Ti s CK byli rozděleni podle lokalizace nádorů a TNM klasifikace. Stupeň diferenciacie nádoru byl hodnocen z chirurgických resekátů (32) resp. biopsie (8) pokud nebyli indikováni k resekci, resp. nebyl hodnocen z různých důvodů vůbec (3 osoby). Všechny do studie zařazené osoby podepsaly informovaný souhlas a projekt byl schválen Etickou komisí FN HK.

Statistické zpracování a hodnocení studie bylo provedeno validně, statistickým softwarem STATISTIKA různými versemi pro jednotlivé zkoumané skupiny.

4. Výsledky studie

Jsou vyjádřeny jednak v textu, jednak v tabulkách a jednak graficky. Jde o příkladnou jasně srozumitelnou koncizní prezentaci výsledků, které lze shrnout takto (tak to také autorka disertace v závěrech uvádí): v první části studie: a. ve srovnání se zdravými jedinci byla sérová koncentrace S100A4 u nemocných s idiopatickými střevními záněty významně vyšší.

Za b. sérové koncentrace S100A4 u osob s komplikovanými formami CN (Crohnova nemoc) (stenosující resp. perforující forma) se nelišily oproti osobám bez těchto komplikací. Také nebyl prokázán rozdíl v koncentraci tohoto markru u osob s CN, které měly nebo neměly perianální postižení. Za c. třetím výstupem je, že ve srovnání se zdravými jedinci byla sérová koncentrace S100A4 významně vyšší u nemocných s CN s postižením tlustého střeva včetně těch se současným postižením i střeva tenkého. V druhé části studie jde o tyto závěry: a. u nemocných s CK byly významně nižší hladiny S100A6 a S100A11, ten druhý rovněž u nemocných s nepokročilým adenomem. Naopak významně vyšší byly hladiny S100A8 a sice u osob s pokročilým kolorektálním adenomem resp., CK. Hodnoty S100A9 se nelišily u osob s karcinomem nebo zdravými. Studie také potvrdila významně vyšší hladiny S100P u osob s CK. Za b. z výsledků se lze domnívat, že S100A6 resp. A8, A11 a S100P by mohly u osob s CK být jedním z biomarkrů v diagnostice a monitorování CK pro svoji senzitivitu a specificitu, zejména S100A8.

Významnou součástí práce je diskuze. Odráží velkou erudici doktorandky ve studované problematice. Jde o diskuzi hlubokou s posouzením zahraničních výsledků s vlastními. Těch recentních zahraničních je dost a autorka diskutuje důvody rozdílností jejich výsledků a také vysvětluje rozdílnosti s výsledky vlastními. Na příklad exprese S100 bývá S100 stanovena ve tkáni, zejména u nádorových onemocnění, zatím co stanovení S100 v krvi bylo publikováno jen v 6 případech nádorového onemocnění a to ještě ne u CK. V tomto smyslu jsou prezentované výsledky v doktorské práci zcela originální. Zajímavá je diskuze o kalprotektinu ve stolici a vztahu k S100 proteinu. Diskuze s našimi autory není poněvadž touto problematiku pokud to může oponent posoudit se nikdo mimo LF HK nezabývá s výjimkou revmatologického pracoviště.

Další důležitou součástí práce je 12 in extenso do práce inkorporovaných časopiseckých publikací, včetně imputovaných, týkající se prezentované problematiky. Autorka disertace je u 5 z nich autorkou první v dalších 6 je spoluautorkou a poslední publikace je ve fázi recenzního řízení.

5. Technické parametry práce

Práce je strukturovaná klasicky, úvod s popisem současného stavu problematiky, cíle práce, metodika, výsledky a diskuze. Práce je napsaná včetně literárních citací na 108. Výše zmíněné publikace tvoří přílohu. Dále práce obsahuje 27 obrázků – barevných z nichž 26 jsou endoskopické nálezy. Výsledky jsou prezentovány v 9 grafech a tabulkách a další tři tabulky jsou součástí úvodu do problematiky. Ten je mimořádně kvalitně napsaný s ohledem na

odbornou náročnost. Při jeho pročítání si čtenář uvědomuje, jak se rozevírají nůžky mezi praktickou gastroenterologií a novými poznatky. Jaké musí mít doktorand kvality, aby odborně zvládl obojí. I v tomto smyslu je disertační práce příkladná, ale také ukazující že rovněž školitel a celé pracoviště musí mít tyto kvality. Celá práce je psaná kultivovaným, čtivým jazykem, koncisně, což je při množství prezentovaných dat náročné.

V práci je odkaz na úctyhodných 183 literárních pramenů, z toho jen ve 4 případech jde o práce našich autorů. To také ukazuje, jak ojedinělá je tematika disertační práce u nás. Citace jsou recentní, řazené chronologicky podle textu.

I přes pečlivé čtení a studium práce jsem nenašel žádné formální nedostatky nebo jazykové nepřesnosti.

6. Přínos práce a jejich výsledků pro společenskou praxi a rozvoj vědy

Jde o mimořádně kvalitní doktorskou disertační práci na aktuální téma gastroenterologie Detekce proteinů S100 v krvi není u nás prováděna stejně tak i mnohem technicky náročnější jejich detekci ve tkáni. I když od objevu S100 proteinu uplynulo již více než 50 roků, jeho detekce pro klinickou praxi je v současné době na úrovni experimentální nebo sporadických studií. Nicméně badatelé vkládají do tohoto potenciálního biomarkru velké naděje, zejména pro včasnou diagnostiku, monitorování, prognózování a zejména biologickou léčbu IBD a CR. Oponovaná doktorská práce MUDr. P. Morávkové je příkladem takového úsilí.

7. Připomínky a dotazy

Věcné ani technické nemám žádné.

Můj dotaz: jestli se plánuje tkáňová detekce S100 v souvislosti s tematikou habilitační práce paní doc. D. Kohoutové?

8. Závěrečné doporučení

Jde o kvalitní doktorskou disertační práci, která nadstandardně splnila stanovené cíle a požadavky kladené na disertační práce. Výsledky jsou u nás originální a obohacující světovou gastroenterologii. MUDr. Paula Morávková prokázala tvůrčí vědecké schopnosti. Proto jednoznačně doporučuji přijat práci k obhajobě a po úspěšném obhájení podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb. udělit titul Ph.D.

V Olomouci dne 31.5.2019

Prof. MUDr. Jiří Ehrmann, CSc.,

II. interní klinika gastroenterologická a geriatrická

LF UP a FN Olomouc

Mail:ehrmanj@fnol.cz