Posudek na disertační práci

BK virová infekce u pacientů po transplantaci ledviny

autorka: Mgr. Eva Girmanová

Téma práce je aktuální, BK virové infekce po transplantaci ledviny jsou s rozvojem nových imunosupresivních režimů četnější než v minulosti a rozvoj BK virové nefropatie může vést k závažnému poškození transplantovaného štěpu. Disertační práce má 113 stran včetně tří publikací se vztahem k tématu. Struktura práce je logická a přehledná, po formální stránce je kvalitní.

V úvodní části jsou stručně podány základní informace o transplantacích ledvin, imunosupresivní léčbě a infekčních komplikacích, které tyto pacienty postihují, včetně nejčastějších původců virových infekcí. Další část je věnována problematice BK viru, popsána je prevalence a způsob přenosu, struktura viru, organizace genomu, transkripce a replikace i způsob, jakým virus vstupuje do buněk renálních proximálních tubulů. Nejvíce prostoru je v literárním úvodu věnováno tématu BK virové nefropatie (BKVN). Vymezeny jsou hlavní rizikové faktory vzniku BKVN, kam patří zejména typ imunosuprese, přítomnost, předchozí rejekce, kvalita štěpu nebo neshody v HLA a v krevních skupinách. Diagnostika BKVN je při skromném klinickém obraze založena na průkazu tzv. „decoy cells“ v moči, detekci virové DNA pomocí PCR nebo stanovení mRNA BKV kapsidového proteinu 1 v močových buňkách. Další možností je využití elektronové mikroskopie nebo histologické vyšetření bioptického vzorku s průkazem BKV inkluzí v tubulárních či glomerulárních buňkách a tubulointersticiální změny provázející zánětlivou infiltraci. Imunochemicky je možno prokázat LT antigen, který se vyskytuje u všech polyomavirů. Další část je věnována imunitní odpovědi při BKV infekci a BKVN, kde se v rámci přirozené imunity uplatní zejména dendritické buňky a NK buňky. BKV specifické protilátky se vyskytují u většiny běžné populace, nicméně nemají protektivní efekt ochrany před BK infekcí, i když u dětí je séronegativita rizikovým faktorem. Buněčná adaptivní odpověď je pro kontrolu BK infekce klíčová, po transplantaci ledviny dochází k poklesu BK specifických T lymfocytů oproti zdravým jedincům, nicméně BKV infekce je spojena s jejich vzestupem a v případě časné odpovědi je větší šance na eliminaci viru. Cílená léčba v případě BKVN zatím neexistuje, ke zvážení je snížení imunosuprese, které však s sebou nese riziko následné rejekce, antivirový účinek u BKV infekce vykazuje

leflunomid a cidofovir, oba preparáty však vykazují vážné nežádoucí účinky, proto je nyní testován brincidofovir s příznivějším profilem. Jako „off label“ léčba se někdy podávají intravenózní imunoglobuliny, do budoucna se nabízí buněčná léčba s expanzí BKV specifických T lymfocytů. V případě neúspěšné léčby BKVN s následným selháním štěpu připadá v úvahu retransplantace. Cílem práce bylo jednak jednoroční monitorace BK virové replikace u pacientů po transplantaci ledviny a dále stanovení expresního profilu transkriptů spojených s imunitní odpovědí v biopsiích ledvin pacientů s bezpříznakovou BK virurií a s BKVN. Třetím cílem bylo retrospektivní zhodnocení incidence, rizikových faktorů, léčby a dlouhodobých výsledků a pacientů s BKV infekcí a BKVN.

Monitorování virové replikace ukázalo, že BK virurie $>10^7$ kopií/ml byla v průběhu roku zjištěna u čtvrtiny pacientů a BK viremie $>10^4$ kopií/ml u 5 % pacientů po transplantaci ledviny. Histologicky prokázaná BKVN byla zjištěna jen u 3/120 pacientů a u žádného z nich nedošlo ke ztrátě štěpu. U pacientů s trvalou virurií bylo vyšší riziko akutní rejekce než u pacientů bez BKV reaktivace. Při porovnání ROC křivek byly pro rozvoj BKVN stanoveny hraniční hodnoty viremie 10^3 kopií/ml séra a BK virurie $6{,}7\text{x}10^7$ kopií/ml moči.

V další části disertační práce byl v bioptických vzorcích pacientů s transplantací ledvin pomocí kvantitativní RT-PCR hodnocen expresní profil 90 genů souvisejících s imunitní odpovědí. Pacienti s bezpříznakovou BK virurií měli 5 rozdílně exprimovaných genů oproti kontrolní skupině pacientů s negativním výsledkem přítomnosti BKV v moči i séru. V čtyřech případech se jednalo o zvýšení exprese (CCR2, CD3E, CD68, ICAM), v případě protoonkogenu SKI, spojeného s potlačením TGF-β1, došlo u pacientů s bezpříznakovou BK virurií ke snížení oproti kontrolním vzorkům. U pacientů s rozvinutou BKVN bylo zaznamenáno zvýšení exprese 33 měřených genů oproti kontrolní skupině, jednalo se o cytokiny a povrchové molekuly spojené s aktivací a regulací přirozené i adaptivní imunity. Významné rozdíly byly zjištěny i při rozdělení sledovaných genů do clusterů podle funkce.

Retrospektivní studie u pacientů s významnou BK viremií a biopticky ověřenou BKVN ukázala, že se incidence BKVN v letech 2009 až 2018 u pacientů po transplantaci ledviny v IKEM pohybovala mezi 3,5-6,4 %. Přežití štěpů cenzorované na úmrtí pacienta bylo u těchto osob horší obdobně jako u pacientů s BK viremií $>10^4$. Pacienti s BKVN a selhaným štěpem měli rovněž vyšší vyšší hladinu sérového kreatininu a vyšší BK viremii v době diagnózy. Dalším rizikovým faktorem selhání štěpu při BKVN bylo ženské pohlaví dárce.

Dotazy:

1. V textu se uvádí, že BKV infekce může navodit genovou expresi CMV, existuje i opačný vztah, že by se při reaktivaci CMV začal replikovat BKV?
2. Z výsledků vyplývá, že jedním z rizikových faktorů selhání štěpu u pacientů s BKVN je ženské pohlaví štěpu. Může pohlaví dárce ledviny ovlivnit riziko akutní rejekce u pacientů bez BKV infekce?

Formální připomínky:

Str. 21 -basiliximab je označen jako anti-CD20 místo anti-CD25

Rozdělení cytokinů do funkčních seskupení (str. 52-55) není vždy optimální: IL-1β a TNF−α jsou spíše prozánětlivé cytokiny než anti-apoptotické; Th2 diferenciaci ovlivňují více IL-4 a IL-10 než uvedený TGF β a CCL2; negativní regulaci IL-6 sice zajišťuje IL-10, ale ne již TNF−α

Str. 51 – CCR2 není chemokin, ale chemokinový receptor

Závěr: Z výše uvedeného posudku vyplývá, že předložená dizertační práce je kvalitní po obsahové i formální stránce a splnila stanovené cíle. Mgr. Eva Girmanová osvědčila, že má kvalitní znalosti ve studované problematice, je schopna samostatně vědecky pracovat a ovládá metody k úspěšnému pokračování ve své vědecké činnosti. Dizertační práce splňuje požadavky stanovené dle § 47 zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb., a proto ji **doporučuji k obhajobě.**

V Praze 20.1. 2020

prof. MUDr. MUDr. Ilja Stříž, CSc.

Pracoviště laboratorních metod

Institut Klinické a Experimentální Medicíny

Praha, Česká Republika