

Oponentský posudek dizertační práce

Uchazeč:	Mgr. Eva Girmanová
Pracoviště:	Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta
Dizertační práce:	BK virová infekce u pacientů po transplantaci ledviny
Oponent:	Doc. MUDr. Karel Krejčí, Ph.D.
Pracoviště:	III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická, FN a LF UP Olomouc

Text posudku

Ve své dizertační práci se Mgr. Eva Girmanová zaměřuje na problematiku BK virové nefropatie po transplantaci ledviny. BK virová nefropatie představuje závažnou oportunní infekci ohrožující funkci ledvinného štěpu zejména v průběhu prvního roku po transplantaci. Její výskyt je v současné době na vzestupu a úzce souvisí s úrovní útlumu imunitního systému příjemce, kdy vzhledem k trendům v současné transplantologii, je stále častěji nutno volit intenzivnější imunopresivní protokoly a aplikovat agresivnější antirejekční léčbu. Při absenci specifické antivirové terapie a při limitovaných možnostech léčby rozvinuté BK virové nefropatie představují aktivní screening signifikantní BK virové replikace a následná preemptivní úprava imunoprese zásadní opatření v prevenci rozvoje poškození ledvinného štěpu.

Řešená problematika je aktuální, s předpokládaným dopadem výstupních dat na klinickou praxi. Vlastní práce je rozdělena do 8 částí – úvod, přehled problematiky, cíle, dále metodika, výsledky a diskuze 3 dílčích studií a závěry. V práci byly v rámci ověřování hypotéz stanoveny 3 cíle. Výsledky práce byly dosud publikovány formou 2 sdělení v časopise s impakt faktorem, kde je Mgr. Eva Girmanová první autorkou. Je také první autorkou jedné přehledné práce na dané téma publikované v českém recenzovaném časopise. Celkem má dizertační práce 77 stran textu, 16 tabulek a 14 obrázků.

V úvodu své práce se Mgr. Eva Girmanová věnuje obecným charakteristikám transplantace ledviny, imunopresivním protokolům užívaných v souvislosti s transplantací a komplikacím této léčby, speciálně pak infekčním komplikacím. Podrobněji se v tomto ohledu dále věnuje BK polyomavirové infekci a rizikům vzniku BK virové nefropatie. Detailněji se v obecném úvodu věnuje diagnostickým možnostem této nefropatie, imunitní reakci organismu na přítomnost viru a aktuálním terapeutickým možnostem.

V úvodní dílčí studii - monitorovací - se autorka zaměřila na první z cílů své práce, provést jednorochní monitoraci BK virové replikace u pacientů po transplantaci ledviny, stanovit hraniční hodnoty BK virémie a virurie pro rozvoj BK virové nefropatie a zhodnotit rizikové faktory jejího vzniku. Do monitorovací studie bylo zařazeno 120 pacientů transplantovaných od 3/2007 do 3/2008, byly

sbírány vzorky moči a periferní krve. Sběr byl prováděn 1. potransplantační den a dále dle doporučeného schématu 1., 3., 6., 9. a 12. měsíc po transplantaci. Za významnou virémií resp. virurií byla považována hodnota $>10^4$ kopií/ml séra resp. $>10^7$ kopií/ml moči. Ze 120 pacientů (622 vzorků moči a 621 vzorků séra) mělo negativitu PCR v moči i krvi v průběhu 1 roku po TPL jen 14 pacientů, BK signifikantní virurie se vyskytla u 25,8% pacientů, BK signifikantní virémie u 5% pacientů, nejvyšší výskyt signifikantní virurie a virémie byl mezi 3-12 měsícem. U 3 pacientů ze 120 se rozvinula histologicky prokázaná BK virová nefropatie, u žádného z nich nedošlo ke ztrátě štěpu po úpravě imunopresivní terapie a ve všech 3 případech došlo k eliminaci viru. U celkem 6 pacientů souboru se vyskytla signifikantní virémie a u 31 pacientů signifikantní virurie. Mezi pacienty s imunopresivním protokolem založeným na takrolimu a cyklosporinu A nebyl nalezen statisticky významný rozdíl z hlediska rozvoje BK virové nefropatie a aktivace viru. Z monitorovací studie vyplynulo, že výskyt signifikantní virémie a virurie byl v souboru podobný, jak je uváděn ve světovém písemnictví a jejich výskyt byl největší ve 3. měsíci po transplantaci. Výskyt BK virové nefropatie byl na úrovni průměrně referovaného výskytu kolem 2,5% nemocných v 1. roce po transplantaci. Autorka na podkladě zjištěných výsledků stanovila kvantitativní prahové hodnoty pro vznik BK virové nefropatie na $6,75 \times 10^7$ kopií/ml moči a 10^3 kopií/ml v séru. Byla prokázána nízká korelace mezi naměřenými hodnotami BK virémie a rozvojem BK virové nefropatie, v těchto datech se výsledky liší od dat uváděných jinými autory. Autorka rovněž prokázala, že perzistující virurie je spojena s vyšším rizikem akutní rejekce. Analýzou klinických a demografických dat u pacientů se signifikantní virémií a virurií byl zjištěn vztah k delší době dialýzy před transplantací, k vyšším hodnotám PRA a ke snížené funkci štěpu v jednom roce po transplantaci. Nebyly prokázány žádné statisticky významné rozdíly v imunopresivních protokolech u pacientů s BK virurií a BK virovou nefropatií.

V další dílčí studii - studii genové exprese – se autorka zaměřila na studium intrarenálních transkriptů, které vycházelo z předpokladu, že ve štěpu je imunitní odpověď na BK virus měřitelná na úrovni genové exprese. Pro studium intrarenálních transkriptů byly použity bioptické vzorky od pacientů s bezpříznakovou signifikantní BK virurií (9 nemocných), s BK virovou nefropatií (10 nemocných) a od kontrolní skupiny nemocných (11 pacientů) s negativitou PCR metodik při opakovaných měřeních v průběhu jednoho roku po transplantaci. U pacientů s bezpříznakovou virurií autorka prokázala oproti kontrolní skupině změnu v expresi 5 genů: genu pro CD3E, ukazujícího na zvýšenou přítomnost T-buněk, CD68, povrchového markeru makrofágů, genu pro CCR2, chemokinu zprostředkovávajícího chemotaxi monocytů a genu pro adhezní molekulu ICAM-1. Exprese genu pro SKI protoonkogen (zapojený do downregulace TGF- β 1) byla naopak snížena. Protože se u těchto pacientů nikdy nerozvinula BKVN, autoři předpokládají, že exprese těchto genů odráží kontrolu BK virové replikace imunitním systémem příjemce. U pacientů s BK virovou nefropatií autoři identifikovali celkem 33 genů, jejichž exprese se lišila od kontrolní skupiny.

V poslední dílčí studii opět observačního charakteru se autorka zaměřila na klinické hodnocení BK virové infekce a BK virové nefropatie za období 2009-2018. Předpokladem bylo, že dlouhodobé výsledky štěpů od pacientů s BK virémií/BK virovou nefropatií budou horší než u štěpů pacientů bez BK virémie a BK virové nefropatie. U 110 pacientů v tomto období se vyskytla signifikantní virémie, u 96 pacientů pak BK virová nefropatie. Kontrolní skupinu představovalo přes 4000 nemocných, bez anamnézy positivity signifikantní virémie a BK virové nefropatie. Z výsledků vyplynulo, že přežití štěpů cenzorované na úmrtí bylo významně horší jak u příjemců s BK virovou nefropatií, tak u příjemců, u kterých byla zachycena signifikantní virémie. Důležitým poznatkem je, že uváděná riziková hodnota virémie $>10^4$ kopií/ml séra může podhodnocovat diagnózu nefropatie, kdy až 35 %

pacientů mělo biopticky verifikovanou BK virovou neropatii bez zjištěné signifikantní virémie. Prognóza štěpů byla výrazně horší u pacientů, kteří měli v době diagnózy BK virové nefropatie vyšší sérový kreatinin, vyšší hodnotu BK virémie, vyšší maximální hodnotu PRA a u jedinců ženského pohlaví.

Výsledky práce Mgr. Evy Girmanové přispívají k v současné době intenzivně sledované problematice potransplantační reaktivace BK virové infekce u příjemce ledvinného štěpu s možným dopadem na jeho prognózu. Ve své práci autorka poukázala na možná diagnostická úskalí při detekci BK virové nefropatie na podkladě užívaných limitních hodnot BK virémie. Potvrdila rovněž negativní vliv významné BK virémie a BK virové nefropatie na přežití transplantované ledviny. Měření exprese mRNA v bioptických vzorcích ledvinných štěpů pak poskytlo potenciálně důležité informace o patofyziologii a síle imunitní odpovědi na BK virovou infekci. Práce tak navazuje na úsilí při hledání dalších možností detekce přítomnosti a intenzity BK virové potransplantační reaktivace a její výsledky jsou v některých aspektech prioritní.

Dotazy oponenta k obhajobě dizertační práce

1. Jak si lze vysvětlit, že perzistující významná virurie je spojena s vyšším rizikem akutní rejeckce v prvním roce po transplantaci?
2. Pozorovali jste vztah mezi perzistující významnou virurií a následným rozvojem BK virové nefropatie?

Závěr

Dizertační práce Mgr. Evy Girmanové je výsledkem systematické klinické a výzkumné práce autorky na poli transplantací ledvin a studia potransplantační BK virové aktivace a hodnotím ji jako velice kvalitní. Po stránce formální je dizertační práce psána čtivou formou, je velmi dobře zpracována, dokumentována adekvátní publikační aktivitou a prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci. Doporučuji proto přijmout dizertační práci v předložené formě k obhajobě a na jejím základě doporučuji udělit Mgr. Evě Girmanové vědecký titul Ph.D.

V Olomouci dne 9.1. 2020

doc. MUDr. Karel Krejčí, Ph.D.
III. interní klinika-NRE
FN a LF UP Olomouc
I.P. Pavlova 6, 779 00, Olomouc

