

## **Oponentský posudek habilitační práce**

**Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta**

### **Úloha vybraných cytokinů a chemokinů v patogenezi exogenních alergických alveolitid**

**Autorka:** MUDr. Martina Šterclová, Ph.D.

**Pracoviště:** Pneumologická klinika 1. LF UK a FTN, Praha

Pneumologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

**Obor habilitačního řízení:** Vnitřní nemoci

#### **Posudek habilitační práce**

Předložená habilitační práce je založena především na souboru vlastních publikovaných výsledků, které jsou přiloženy v plnotextové podobě. Soubor prací je uveden podrobným úvodem, který vysvětluje problematiku s použitím literárních zdrojů a vlastní vědecké i klinické práce autorky.

Habilitační práce má celkem 205 stran, přičemž prvních 10 stran tvoří obsah a rozšířené abstrakty v češtině a v angličtině, doplněné o seznamy v abstraktech citované literatury (14 položek). Následuje 35 stran úvodu do problematiky (kapitola 3). Na dalších 11 stranách (kapitola 4) autorka vymezuje hlavní témata vlastního výzkumu a stručně shrnuje dosažené výsledky v jednotlivých oblastech. Na pěti stranách kapitoly 5 jsou pak tyto výsledky shrnuty v souvislostech spolu s diskusí. Na dvou stranách kapitoly 6 je diskutováno možné využití získaných výsledků v klinické praxi. Na dalších 12 stranách uvádí autorka 124 odkazů na články citované v textu. Následuje 7 stran obrazových příloh. Na zbylých 122 stranách jsou zařazeny reprodukce jednotlivých prací s výsledky vlastního výzkumu rozčleněné podle témat, jak jsou uvedena v kapitole 4.

V kapitole Úvod do problematiky autorka shrnuje nejprve základní epidemiologické údaje vycházející ze zahraničních zdrojů s tím, že aktuální údaje pro Českou republiku nejsou k dispozici. Jediná přesnější data vycházejí z registru hlášených nemocí z povolání, což, jak autorka správně upozorňuje, charakterizuje jen malou podskupinu všech případů EAA.

Navazuje přehled možných inhalačních antigenů, které jsou známé jako etiologická agens vyvolávající hypersenzitivní reakci plicní tkáně. V této souvislosti autorka upozorňuje na některé nově popsané syndromy způsobené dříve nepopsanými antigeny, včetně některých vzácných polékových reakcí.

V souvislosti s patogenetickými mechanismy vedoucími k rozvoji EAA jsou v další části zmíněné některé známé faktory genetické predispozice, především polymorfismy genů pro lidské leukocytární antigeny (HLA systém) a geny, podílející se na mechanismech prezentace antigenu. Jako další rizikové faktory pro rozvoj EAA pak autorka zmiňuje infekční agens, kdy zejména některé virové infekce mohou spuštěním produkce mnoha cytokinů jak přispět ke

spuštění hypersenzitivní reakce, tak především významně ovlivňovat průběh celé reakce a klinických projevů onemocnění.

Velkou část této úvodní kapitoly tvoří kapitola 3.7 - Molekulární mechanismy. V ní autorka podrobně rekapituluje publikované poznatky o jednotlivých dějích, které následují po kontaktu antigenu s plicní tkání, a probírá úlohu jednotlivých buněk, receptorů i působků, které se při spuštění reakce účastní. Podrobněji se věnuje hlavně mechanismu prezentace antigenu a navazujícím humorálním i celulárním procesům vedoucím k rozvoji zánětlivé reakce.

Ve 13 dalších odstavcích pak podrobněji probírá hlavní cytokiny, růstové faktory, chemokiny, receptory i další látky, které se účastní signalizační kaskády při zánětlivých procesech a především při remodelaci a fibrotizaci plicní tkáně. V tomto přehledu autorka zmiňuje vedle literárních údajů i vlastní podíl na výzkumu tam, kde jsou výsledky k dispozici.

V kapitole 3.8 – Klinický obraz – je v úvodu diskutována úloha senzibilizace v rozvoji onemocnění a hlavně je věnována pozornost rozdílům mezi akutní, subakutní a chronickou EAA. Uvedena je tabulka (tabulka 2) přehledně rozlišující atributy EAA fibrotické a nefibrotické, a to jak z pohledu klinického, tak z hlediska zobrazení (HRCT) a histopatologických nálezů. V následné tabulce č. 3 je podle nadpisu uvedena definice progredujícího fenotypu fibrotické EAA. Tabulka má dva obsahové sloupce, které se liší v míře poklesu FVC (o 10 nebo 5 %) a v potřebě dalších nálezů. V tabulce ale zřejmě vypadly nadpisy sloupců a není tak jasné, jaký fenotyp který sloupec charakterizuje.

Text pokračuje rozborem hlavních vyšetřovacích metod. Zde na prvním místě autorka vyzdvihuje anamnézu jako klíčový diagnostický nástroj s nezastupitelnou úlohou především při mapování prostředí a hledání možného zdroje expozice. Laboratorní vyšetření je zaměřeno hlavně na stav imunitního systému a hledání průkazu senzibilizace. To, jak autorka zdůrazňuje, se dnes provádí především stanovením specifických protilátek ve třídě IgG, dříve hojně používané stanovení precipitinů radiální imunodifuzí je postupně doplňováno a nahrazováno metodou ELISA, případně metodou Western blot.

Dále je diskutována úloha HRCT jakožto zásadní metody využívané k posouzení strukturálních změn plicního parenchymu u intersticiálních procesů. V tabulkách č. 4 a 5 jsou přehledně uvedeny HRCT obrazy typické pro diagnózu EAA i obrazy s touto diagnózou kompatibilní. Tabulka č. 4 uvádí tyto nálezy u EAA nefibrotické, tabulka č. 5 pak u EAA fibrotické, kde je doplněn navíc sloupec s nálezy EAA nevylučujícími. Z uvedených tabulek i ze závěrečného odstavce této části je patrné, že je HRCT sice velmi užitečnou zobrazovací metodou zásadně podporující diferenciací diagnostický proces, nicméně překryvy jednotlivých typů postižení u různých variant intersticiálního plicního postižení jsou takové, že HRCT samo o sobě nemůže být použito jako diagnostické a jeho výsledek je třeba dát do kontextu s ostatními vyšetřovacími metodami.

Z dalších vyšetřovacích metod v této části uvádí autorka vcelku stručně vyšetření plicních funkcí, kde zmiňuje hlavní funkční poruchy provázející EAA a zmiňuje nejen postižení plicního parenchymu, ale připomíná i obstrukční změny v periferních dýchacích cestách, které často toto onemocnění provázejí. Důležitá je i připomínka, že se u nemocných často objevuje i bronchiální hyperreaktivita.

Jako především diferenciací diagnostickou metodu uvádí dále autorka bronchoskopii s bronchoalveolární laváží. Uvádí především možnosti nálezů v BALTe a zmiňuje typické

nálezy u jednotlivých typů intersticiálního plicního postižení. V kontextu tématu celé práce zde chybí alespoň zmínka o možnostech vyšetření cytokinových profilů

V návazné části se autorka zabývá podrobně histologickou diagnostikou EAA. Zmiňuje její význam v diferenciální diagnostice především směrem k IPF, ale upozorňuje i na možná rizika (hlavně spuštění akutní exacerbace procesu). Zde vidí možnost zvýšení bezpečnosti a výtěžnosti ve využití moderní metody transbronchiální kryobiopsie. V podrobných tabulkách 6 a 7 pak opět uvádí možné histologické nálezy u fibrotické a nefibrotické EAA.

Tuto diagnostickou kapitolu nakonec uzavírá tabulka shrnující hlavní diagnostická kritéria exogenní alergické alveolity.

Celou kapitolu „Úvod do klinické problematiky“ uzavírá podkapitola 3.9 – Léčba EAA.

V této části nejprve autorka zdůrazňuje potřebu odstranění etiologického spouštěče z prostředí pacienta a jeho důslednou edukaci o vztahu expozice a průběhu onemocnění. Dále se zabývá rolí systémové kortikoterapie (nízká dávka prednisonu). Zdůrazňuje i potřebu přehodnocení možné kontinuální expozice etiologickému antigenu u nemocných, u kterých onemocnění navzdory nasazené terapii progreduje. Skepticky vidí autorka možnost léčby u nemocných s fibrotickým plicním postižením. U těchto pacientů je určitá možnost kombinované imunosupresivní léčby, která ovšem není zaštitěna dostatkem spolehlivých dat. Z dalších terapeutických modalit autorka uvádí dlouhodobou domácí oxygenoterapii a jako poslední variantu u nemocných s ireverzibilním plicním postižením zařazení do programu transplantace plic.

To vše samozřejmě souvisí i s prognózou onemocnění. Jak autorka uvádí, prognóza je nejlepší u nemocných s akutními projevy EAA, u kterých se podaří identifikovat a odstranit kausální antigen. V těchto případech je i možnost úpravy ad integrum. Nepříznivou prognózu mají naopak spíše pomalu progredující typy postižení s projevy fibrotizace.

Celá úvodní část je zpracována dosti podrobně s použitím odpovídajících literárních zdrojů a ukazuje i na autorčiny výborné znalosti uvedené problematiky.

Po tomto vcelku rozsáhlém úvodu do problematiky autorka již přechází k prezentaci vlastních výsledků výzkumu. V kapitole 4 prezentuje osm základních výzkumných témat, na jejichž řešení se přímo podílela. Ke každému tématu uvádí základní charakteristiku souboru a stručně zmiňuje metodiku a shrnuje vždy závěry, ke kterým práce dospěla. Každé z osmi témat je doloženo přesnou citací publikovaných výstupů. Příslušné plnotextové publikace, případně kopie posterů, jsou pak uvedeny na závěr habilitační práce (kapitola 9).

Zde je, bohužel, škoda, že k jednotlivým publikacím nejsou uvedeny faktory impaktu příslušného periodika v době publikace, případně počty citací, což by čtenáři umožnilo udělat si dojem o dopadu každé z uvedených publikací.

Uvedenými osmi tématy jsou:

1. Vztah radiologického obrazu onemocnění s klinickými parametry (1 publikace).
2. Porovnání chemokinového prostředí v BALTe pacientů s EAA a pacientů se sarkoidózou a IPF (3 publikace).
3. Průkaz vlivu solubilních faktorů v BALTe na buňky podílející se na procesu fibrogenese (3 abstrakta).
4. Buňky získané BAL u nemocných s EAA si mohou zachovávat vlastnosti odpovídající formě onemocnění (2 abstrakta).

5. Úloha IL-4R $\alpha$  v patogenezi EAA (4 publikace, 1 abstrakt).
6. Může sérová koncentrace surfaktantového proteinu A (SP-1) napomoci k odlišení mezi chronickou EAA a IF? (1 publikace)
7. Možné zdroje expozice a manifestace EAA (2 publikace, 3 abstrakta)
8. Endogenní a exogenní faktory ovlivňující manifestaci EAA (3 publikace).

V kapitole 5 nazvané „Shrnutí výsledků provedeného výzkumu a diskuze“ autorka uvádí jednotlivé dílčí výsledky do vzájemných souvislostí a vlastní výsledky porovnává s publikovanými výsledky jiných autorů. Dokládá význam správné diagnostiky a klasifikace EAA, neboť správná identifikace typu procesu z pohledu přítomnosti a intenzity fibrotizace má zcela zásadní dopad do prognózy onemocnění. Ukazuje na důležitost propojení informací získaných z HRCT, BAL a histopatologické analýzy s klinickým nálezem. Ukazuje také, že profily cytokinů a dalších působků zjištěných v BALTe se mohou lišit jak v různých časových fázích nemoci, tak při různém vývoji nemoci z pohledu poměru zánětu a fibrotizace.

Diskutován je zde i význam expozice a možnost její přesnější identifikace. Jak autorka uvádí, není identifikace zdroje senzibilizace vždy možná, a to ani při stanovení sérových koncentrací specifických protilátek ve třídě IgG. Jako jeden z významných inhalačních zdrojů senzibilizace autorka zdůrazňuje cigaretový kouř, který může především ovlivňovat průběh nemoci a zhoršovat její prognózu. Závěrem této kapitoly autorka upozorňuje i na možný vliv věku v rámci změn imunitního systému spojených se stárnutím organismu.

V závěrečné kapitole textové části se autorka zaměřuje na možné využití získaných poznatků. Zmiňuje doporučený postup diagnostiky a léčby EAA, který vznikl na základě klinických zkušeností i výsledků výzkumu a byl schválen Českou pneumologickou a ftizeologickou společností ČLS JEP.

Z předložených vlastních výsledků výzkumu pak mezi četnými studovanými markery zdůrazňuje IL-4R $\alpha$ . Ukázalo se, že koncentrace IL4R $\alpha$  v BALTe již v době stanovení diagnózy koreluje s prognózou a s odpovědí na systémovou kortikoterapii. Autorka uvádí tento transmembránový protein jako možný jednoduchý marker, podle kterého by bylo možno řídit indikaci systémové kortikoterapie. Z dalších možností léčby pak na základě literárních údajů i výsledků vlastního výzkumu zmiňuje nejen azathioprin a mykofenolát mofetil, ale především bispecifické monoklonální protilátky zaměřené proti IL-4 a IL-13. Za zajímavé zjištění vlastního výzkumu pak autorka považuje vliv BALTe od pacientů s EAA na proliferaci lidských fibroblastů a dává k úvaze, zda dosud přijímaný model, který předpokládá vliv zánětu jako spouštěče fibrotizace plicní tkáně nevychází z nevhodných modelů. Navrhuje, aby k výzkumu mechanismů, které vedou k rozvoji EAA byl využíván raději lidský biologický materiál, než např. myší modely, které nemusejí odpovídat průběhu celého patologického procesu u lidí.

Další součástí habilitační práce je seznam literatury, který obsahuje 124 citací prací, které jsou citovány v textu. S výjimkou citace 85 (Doporučený postup diagnostiky a léčby EAA) jsou všechny citované publikace v angličtině. Citace jsou správně formátované a přehledné, jen citace 57 má chybně uveden seznam autorů.

Následuje několik obrazových příloh, kde autorka ukazuje několik typických HRCT nálezů u EAA, vedle toho přidává i snímek kultury lidských fibroblastů a snímky z různých fází kultivace buněk získaných z BALTe u nemocných s EAA.

Zbytek práce – od strany 83 až do konce – tvoří reprodukce jednotlivých publikovaných prací řazených tak, jak byla jednotlivá témata výzkumu uvedena v kapitole 4, kde byly uvedeny také jejich citace ve správném formátu. Slabinou celé této části je ovšem kvalita reprodukcí. Ty, snad s výjimkou zařazených posterů, jsou nedostatečně zvětšeny, nevyužívají celého prostoru stránek a texty jsou tak špatně čitelné.

### **Závěr:**

Předložená habilitační práce MUDr. Martiny Šterclové, Ph.D., je originálním podrobným přehledem problematiky exogenní alergické alveolity (EAA) se zaměřením hlavně na patogenetické mechanismy, mechanismy zánětu a mechanismy fibrotizace plicní tkáně. Autorka se v souladu s anotací práce zabývá především úlohou buněk zánětu a četných zúčastněných cytokinů a chemokinů, včetně jejich prokázaných či předpokládaných interakcí. V úvodu nicméně neopominula uvést alespoň základní přehled diagnostiky i současných terapeutických možností, což umožňuje nezavěšenému čtenáři se v komplexní problematice lépe orientovat. Autorka v úvodu do problematiky vhodně doplňuje literární údaje o vlastní výzkumná zjištění. Ta dále podrobněji rozebírá v části, která je věnována hlavním vlastním tématům výzkumu, vždy s příslušnou citací vlastních publikačních výstupů. Plnotextové verze těchto vlastních výsledků výzkumné práce pak tvoří zásadní přílohu habilitační práce. Ta obsahuje 13 plnotextových publikací v angličtině (u 7 z nich je uchazečka první autorkou), 9 reprodukcí posterů, rovněž v angličtině, jednou jde o Letter to the Editor.

Jednotlivé práce přinášejí originální výsledky, které jednoznačně rozšiřují současné spektrum znalostí uvedené problematiky a mají značný potenciál i ke zlepšení současné klinické praxe.

Z předložených výsledků i z doplňujícího textu je patrná významná osobní zkušenost uchazečky s touto problematikou, a to jak v klinické praxi, tak v klinickém a laboratorním výzkumu. Autorka prokazuje dobrou znalost onemocnění, jeho epidemiologie, patogeneze, a především mechanismů vedoucích k poškození plicní tkáně a ztrátě její funkce.

Začlenění vlastních zkušeností i publikovaných výsledků, a především doložené publikace ukazují na schopnost uchazečky samostatně vědecky pracovat a publikovat. Ukazují ale i na významnou klinickou zkušenost s uvedeným onemocněním i s dalšími formami intersticiálních plicních procesů.

Předložená práce je originálním dílem, originalita byla ověřena i Ústavem vědeckých informací 1. LF UK.

Práce je obsahově zpracována velmi dobře, po formální stránce lze ovšem vytknout horší jazykové zpracování s některými gramatickými nedostatky a četnými překlepy. Lepší kvalitu by si zasloužily kopie publikovaných prací, které jsou v této velikosti obtížně čitelné.

Předložená práce splňuje požadavky na habilitační práci podle Řádu habilitačního řízení a řízení ke jmenování profesorem Univerzity Karlovy.

Po podrobném prostudování předložené habilitační práce MUDr. Martiny Šterclové, Ph. D., doporučuji habilitační komisi tuto práci v předložené podobě přijmout a na jejím základě doporučit udělit titul docent pro obor „Vnitřní nemoci“.

V Praze, 6.2.2022

Prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole

V Úvalu 84

150 06 Praha 5