

Posudek na disertační práci :

## ANCA-associated vasculitides: Complex diagnostic approach

(ANCA-asociované vaskulitidy: Komplexní diagnostický přístup)

Autorka: MUDr. Zdenka Hrušková

Téma práce je velmi aktuální, je sepsána v solidní angličtině na 91 stranách a obsahuje přílohu tvořenou čtyřmi publikacemi s bezprostředním vztahem k problematice (3x review a 1 originální práce, 2x časopis s IF) a odkazy na dalších 8 publikací (4x časopis s IF) úzce souvisejících s tématem disertační práce a dokládající vědeckou činnost autorky.

V úvodu práce je vymezena klasifikace vaskulitid a definice základních typů, popsány jsou metodiky stanovení ANCA protilátek pomocí nepřímé imunofluorescence a metodou ELISA. Zmíněna je translokace cytoplasmatických ANCA antigenů do membrány při stimulaci neutrofilů a aktivace buňky následným účinkem ANCA protilátek. Popsány jsou dále interakce neutrofilů s endotelem, vazba ANCA protilátek na neutrofilů a příslušná signální dráha vedoucí k apoptóze. Uvedeny jsou dále in vivo experimenty na zvířecích modelech včetně pasivního transferu purifikovaných anti-MPO protilátek indukujících u myši nekrotizující glomerulonefritidu. U možných etiopatogenetických mechanismů jsou zmíněny hypotézy o molekulárním mimikry v případě protilátek proti LAMP-2 a komplementaritě autoantigenů u protilátek proti PR3. Adekvátní pozornost je věnována úloze T lymfocytů u ANCA asociovaných vaskulitid včetně úlohy T regulačních buněk a Th1/Th2/Th17 cytokinů. V části věnované terapeutickým postupům je zmíněna biologická léčba včetně jejich dalších možných cílů. V metodické části jsou adekvátně definovány skupiny pacientů a popsány metodiky průtokové cytometrie využité v práci. Potvrdilo se se, že v souladu s publikovanými daty mají pacienti s AAV snížené počty CD4+ lymfocytů v periferní krvi a v remisi dochází k expanzi CD28-CD8+ lymfocytů s následným poklesem poměru CD4/CD8. Nemocní měli dále zvýšenou expresi kostimulačních molekul CD80 a CD86 na CD19- buňkách. Pro aktivaci T lymfocytů svědčí pokles v zastoupení CD4+CD45RA+ buněk a expanze CD3+HLA-DR+ buněk. Analýza intracelulárních cytokinů neprokázala

jednoznačnou polarizaci v rámci tzv. Th1/Th2 rovnováhy. Nízká tvorba IL-10 v době remise byla spojena se zvýšeným rizikem relapsu. Práce ukázala, že známky aktivace imunitního systému přetrvávají i v době remise a varuje před předčasným ukončením imunosupresivní terapie. Jedná se o důležité informace, které rozšířily poznatky o ANCA asociovaných vaskulitidách a mohou mít i klinický dopad.

K práci nemám závažné připomínky, pouze po stránce formální je členění místy až do 5 podkapitol méně přehledné. Dovoluji si několik dotazů:

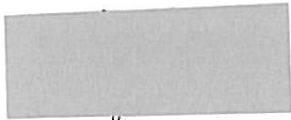
1. Čím si vysvětlujete, že pasivní přenos anti-MPO protilátek vede u experimentálního modelu k poškození ledvin, zatímco podání anti-PR3 protilátek nevede k žádným známkám systémové, renální nebo plicní vaskulitidy.
2. Byla sledována exprese molekul CD80 a CD86 také na CD14+ buňkách?
3. Předpokládáte, že pokles zastoupení CD4+CD45RA+ buněk je u nemocných spojen s vyšším zastoupením CD4+CD45RO+ buněk?

#### **Závěr:**

Z výše uvedeného posudku vyplývá, že předložená disertační práce je kvalitní po obsahové i formální stránce a přinesla nové poznatky o ANCA asociovaných vaskulitidách. Autorka osvědčila, že má kvalitní teoretické znalosti, je schopna samostatně vědecky pracovat a ovládá metody k úspěšnému pokračování ve své vědecké činnosti.

Disertační práce splňuje požadavky stanovené dle § 47 zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb., a proto **doporučuji, aby MUDr. Zdence Hruškové byla udělena vědecko-akademická hodnost PhD.**

V Praze 30.11. 2009

  
Doc. MUDr. Ilja Stríž, CSc.