

Oponentský posudek
disertační práce MUDr. Zdenky Hruškové
„ANCA ASSOCIATED VASCULITIDES: COMPLEX DIAGNOSTIC
APPROACHES“
BASED ON CURRENT INSIGHTS INTO PATHOGENESIS OF THE DISEASE

Téma disertace:

Předložený spis je komentovaným souborem prací, které se týkají zhodnocení parametrů buněčné imunity u nemocných s ANCA (Anti-Neutrophil Cytoplasmic Autoantibodies) - asociovanými vaskulitidami (AAV) ve vztahu k různým stádiím onemocnění, jejich léčbě a prognóze. Disertace je psána v anglickém jazyce.

Rozsah a struktura práce:

Disertační práce je koncipována jako soubor 4 samostatných prací, který sestává z jedné kapitoly v monografii, jednoho souborného referátu a dvou publikací, předkládajících originální výsledky, které byly publikovány v časopisech s recenzním řízením, z nichž dva mají impact faktor.

Disertace má celkový rozsah 89 stran vlastního textu, který je klasicky členěn. (1) *Úvod*, který klasifikuje a definuje AAV. (2) *Současné názory* na patogenezi AAV. Tato kapitola podává také přehled užívaných laboratorních metod (různé metody analýza ANCA), pojednává dále o patogenetickém významu ANCA, popisuje užívané *in vitro* a *in vivo* metody a pojednává o významu T-lymfocytů u AAV. (3) *Materiál a metody*, obsahuje charakteristiku nemocných, profil nemocných léčených imunomodulační léčbou, použité laboratorní metody a výběr statistických analytických metod. (4) *Výsledky* popisují změny analyzovaných imunologických parametrů (celkový počet lymfocytů, sub-populace lymfocytů (CD4+, CD8+, CD19+), měření intracelulární produkce cytokinů, korelace imunologických parametrů s klinickými parametry (velikost glomerulární filtrace, skóre aktivity vaskulitid), komparace nemocných s aktivním onemocněním a nemocných v remisi. Výsledky dále zahrnují změny imunologických parametrů nemocných léčených podle různých protokolů (cyklofosamid, azathioprim/mykofenolát-mofetil, rituximab). Následuje *diskuse* (5), *závěry* (6) a *přehled použité literatury* (7), který sestává ze 170 citací: 49 citací (28 %) je mladších 5 let; 56 citací (33 %) je stáří 6 – 10 let; 37 odkazů (22 %) bylo publikováno před 11 – 15 lety a konečně 8 odkazů (5 %) je starších 16 let.

Cíle disertace:

Zaměření publikovaných prací lze rozdělit do několika tématických okruhů: Prvním z nich je význam ANCA u AAV (Wegenerova granulomatóza, mikroskopická polyangiitida, Churgův-Straussův syndrom, idiopatická, rychle progredující glomerulonefritida). Podán přehled a kritické zhodnocení laboratorních metod, diskutován význam infekce; léků indukujících vaskulitidy, křemíku a genetických faktorů pro rozvoj a klinický průběh AAV. Jsou uvedeny rozdíly mezi MPO-ANCA a PR3-ANCA asociovanými vaskulitidami. V druhé publikaci je kriticky zhodnocen význam T-buněk v patogeneze AAV se zřetelem na Th1/Th2, T-regulační buňky a paměťové T-buňky. Dále jsou diskutovány možnosti současné léčby ANCA asociovaných renálních vaskulitid. V disertaci jsou uvedeny předběžné výsledky s léčbou rituximabem.

Dalším tématem bylo sledování intracelulární produkce cytokinů u AAV (69 osob s AAV a 24 zdravých kontrol) v různých stádiích nemoci a ve vztahu dlouhodobé prognóze nemocných. Byly analyzovány vztahy mezi expresí povrchových antigenů, produkcí cytokinů a klinickými parametry, rozdíly exprese povrchových antigenů a subpopulací lymfocytů u nemocných v remisi ve srovnání s pacienty s aktivním onemocněním a ovlivnění těchto parametrů imunomodulační léčbou.

Metody:

Zvolené metody většiny vyšetření se opírají o kombinaci klinického (resp. nefrologického) vyšetření opírajícího se o renální biopsie s laboratorními parametry. Ty zahrnují produkci intracelulárních cytokinů v kultivovaných monocytech a lymfocytech (INF γ , IL-4, TNF α , IL-2, IL-10, IL-12), stanovení ANCA, MPO-ANCA, a PR3- ANCA (ELISA), subpopulace lymfocytů pomocí monoklonálních protilátek a průtokové cytometrie i exprese povrchových antigenů (pomocí monoklonálních protilátek).

Výsledky, nové poznatky a diskuse:

Výsledky práce jsou obsaženy ve čtyřech přílohách:

1. Vankova-Hruskova Z, Rihova Z, Mareckova H, Tesar V: New Insight in the Pathogenic Role of ANCA (Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies). In: Autoantibodies Research Progress, 1 st Edition, New York: Nova Science Publishers, Inc., 2008, pp. 193-213.
2. Hruskova Z, Mareckova H, Rihova Z, Rysava R, Jancova E, Merta M, Tesar V. T cells in the pathogenesis of ANCA-associated vasculitis: current knowledge. Folia Biol. (Prague). 2008; 54:81-87. IF =1,140.

3. Hruskova Z, Rihova Z, Tesar V. Current treatment of ANCA –associated renal vasculitis. Port J Nephrol Hypert. 2008; 22:149 – 155.
4. Hruskova Z, Rihova Z, Mareckova H, Jancova E, Rysava R, Zavada J, Merta M, Löster T, Tesar V. Intracellular cytokine production in ANCA-associated vasculitis: low levels of interleukin-10 in remission are associated with higher relapse rate in long-term follow-up. Arch.Med.Rs. 2009; 40:276-284. IF= 1,703.

K hlavním výsledkům patří snížený počet lymfocytů, CD4+ a CD4+CD45+RA u nemocných s AAV. Aktivita onemocnění byla spojena se zvýšenou expresí CD30 a CRTH2; zvýšená exprese CCR5 přetrvávala v remisi. Zvýšená exprese HLA-DR, zvýšení CD28-populace a produkce INF γ byla pozorována v remisi. Pacienti v remisi s anamnesticky zachyceným relapsem měli nižší produkce Il-10. Byla prokázána perzistující aktivitu imunitního systému v remisi AAV, která má implikace pro dlouhodobou udržovací imunosupresivní léčbu. Nízká produkce Il-10 byla spojena s vyšším výskytem relapsu u AAV. V diskusi podala autorka komentář k získaným výsledkům.

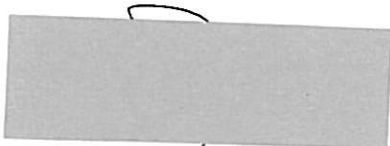
Připomínky a dotazy: Formální ani věcné připomínky nemám.

Dotazy: Lze na základě imunologických parametrů předpovědět úspěšnost léčby a výběr nejvhodnější imunomodulační léčby (azathioprim/mykofenolát-mofetil, rituximab)?

Závěr:

Předložený spis splňuje požadavky kladené na disertační práci, prokazuje předpoklady a kompetenci autorky k samostatné vědecké práci. Proto doporučuji práci k obhajobě za účelem přiznání akademického titulu doktor (Ph.D.) dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

27. listopadu 2009



Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.

4. interní klinika 1. LF UK