Posudek na doktorskou disertační práci MUDr. Martiny Mindlové: BK-polyomavirová infekce u pacientů po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu

Disertační práce dr. Mindlové sdružuje 3 původní studie týkající se problematiky diagnostiky a klinických dopadů polyomavirové infekce a nefropatie u nemocných po simultánní transplantaci ledviny a slinivky. Práce samotná má 92 stran včetně literatury, následují práce *in-extenso*. Teoretický úvod detailně popisuje virologické aspekty polyomavirové infekce, následuje stručný přehled současných poznatků o rizikových faktorech a významu této infekce po transplantaci. Autorka se velmi podrobně věnuje problematice diagnostiky včetně metodiky PCR technik. V další části práce jsou rozebrány původní studie. Kromě úvodní studie, která je spíše zavedením laboratorní metodiky v současnosti nezbytné pro standardní klinickou praxi, byly zbylé dvě studie publikovány (resp. přijaty k publikaci) v mezinárodních časopisech s IF (3,12 a 2,00), což považuji za solidní základ pro úspěšné obhájení disertační práce.

Z prezentovaných studií vyplývají následující závěry:

V úvodní studii byla ověřena přesnost PCR diagnostiky nově zavedené v TC IKEM. U pacientů po kombinované transplantaci slinivky a ledviny byla zjištěna relativně nízká prevalence polyomavirové virémie (4%), virurie se vyskytla u 17% pacientů. Je nutné zdůraznit, že se jednalo pouze o jednorázové vyšetření v pozdním (v průměru 4 roky po transplantaci) a pro polyomavirovou replikaci méně rizikovém období. Autorka rovněž posuzovala virovou nálož <1000 kopií/mL jako negativní a to i v plasmě. Při výše uvedených metodických limitacích se v multivariační analýze prokázaly následující rizikové faktory pro replikaci polyomaviru: delší trvání diabetu před transplantací a opožděný nástup funkce štěpu. Význam studie spočívá v utvoření hypotézy o nižším výskytu polyomavirové replikace po transplantaci slinivky a ledviny v porovnání se samotnou transplantací ledviny, která musí být ověřena dalšími studiemi s relevantní metodikou. V poslední práci, kterou považuji přes nutně omezený počet pacientů za vědecky a klinicky nejpřínosnější, autorka ukázala nadějné výsledky retransplantace ledviny po předchozím selhání štěpu z důvodu polyomavirové nefropatie. Je výhodné provést preemptivně nefrektomii selhaného štěpu za účelem poklesu polyomavirové virémie. Práce byla publikována ve významném časopise *Transplant Int*. Tato publikace přináší důležité informace pro klinické rozhodování. Dosud bylo publikováno minimum prací na dané téma u skupiny nemocných po simultánní transplantaci slinivky a ledviny.

Práce dr. Mindlové představuje kvalitní doktorskou disertační práci, jejíž vědecké výsledky úspěšně prošly recenzním řízením v zahraničních časopisech. Studie mají své vědecké limitace, které shrnuji níže. Nedomnívám se ale, že by měly představovat zásadní problém pro úspěšnou obhajobu.

1) Úvodní studii je nutné hodnotit jako zavedení běžné laboratorní diagnostiky, která sice byla podkladem pro další vědeckou práci, ale neměla by znamenat závažnější překážku pro laboratoře přidružené k fakultní nemocnici. Rutinní monitorace polyomavirové replikace po transplantaci ledviny by měla být po řadu let (min. od roku 2005) součástí klinické péče o nemocné.
2) Autorka by měla být velmi opatrná v závěrech o nižším výskytu polyomavirové replikace u populace po transplantaci slinivky a ledviny, byť role imunosuprese s časným vysazením steroidů může představovat důležitý faktor. Skutečná incidence ale může být významně vyšší. Pro reálné hodnoty je zcela nezbytná longitudinální studie s předdefinovaným dostatečně frekventním monitorováním všech pacientů od počátku transplantace minimálně po nejrizikovější období prvních 2 let. Stejný design musí mít studie k hodnocení skutečných rizikových faktorů. Průřezová analýza s převahou vzorků po 2. roce po transplantaci přináší pouze orientační výsledky. Srovnání se studiemi ukazujícími na nižší výskyt polyomavirové virémie není přesné. Např. citace 83 představuje prospektivní longitudinální studii v prvním roce po transplantaci s řadou náběrů u každého pacienta (1,2,3,6,9,12 měs. po transplantaci).

Je důležité zjištění, že v 80% případů byl počátek replikace polyomaviru do 3. měsíce po transplantaci.

3) Vyhodnocení incidence-rate (ve studii 0,07 na pacienta za rok) polyomavirové replikace u iniciálně negativních pacientů na základě jediného nového vyšetření po cca 15 měsících je metodicky nepřijatelné. Je nutné si uvědomit, že polyomavirová replikace je časově limitovaná a její incidence je dramaticky odlišná v relativně časném období (do 2 let) po transplantaci oproti pozdní době. Dokonce i v klinicky nejtěžších případech polyomavirové nefropatie dochází v terminálních fází onemocnění k absenci replikace viru v plasmě či moči. Klinicky jde přitom o závažné a léčebně neovlivnitelné nálezy pokročilé intersticiální fibrozy a atrofie tubulů (IF/TA) v biopsii štěpu sdružené s poruchou funkce.
4) Není zjevné, proč autorka hodnotila virémie <1000 kopií/mL jako negativní nález. Tento postup vede k podhodnocení skutečné prevalence polyomavirové virémie. V citovaných studiích (83 či 147) byly jako pozitivní hodnoceny všechny detekovatelné virémie. Rovněž v klíčové práci Brennan et al (Am J Transplant 2005), která jako první doložila efektivitu preemptivní redukce imunosuprese při záchytu polyomavirové virémie, byly pozitivním nálezem i virémie <1000 kopií/mL. Z celkového souboru pozitivních pacientů jich cca 50% nedosáhlo 1000 kopií/mL.

K autorce mám tyto otázky:

1) Jaký byl věk dárců ledviny ve studii 2 a jakou roli na možném nižším výskytu polyomavirové replikace může mít selekce významně mladších dárců pro příjemce simultánní transplantace slinivky a ledviny v porovnání s dárci pro transplantaci samotné ledviny?
2) Kolik nemocných mělo „low grade" virémii pod 1000 kopií/mL?
3) Jak častý byl záchyt JCV ze skupiny polyomavirů (tj. nikoliv pouze BKV)?
4) Jak hodnotí možnosti PCR diagnostiky polyomavirové nefropatie z bioptického vzorku štěpu?

Závěrem se domnívám, že disertační práce dr. Mindlové splňuje všechny předpoklady k úspěšnému obhájení a proto doporučuji, aby se stala podkladem pro udělení titulu PhD za jménem.

V Plzni 14.7.2011

MUDr. Tomáš Reischig, Ph.D.
Vedoucí nefrologie, I. interní klinika
Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Plzeň

[redacted]

Fakultní nemocnice Plzeň
I. interní klinika
nefrologická ambulance
přednosta: prof. MUDr. M. Matějovič, Ph.D.
304 60 Plzeň, alej Svobody 80, tel.: 377 103 650
44 101 805