



Universita Karlova v Praze  
**Neurologická klinika 1.LF a VFN**  
přednosta Prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc.  
Kateřinská 30, 120 00 Praha 2, Česká Republika  
Tel. 2 24 96 55 39, Fax 2 24 91 69 80

## OPONENTSKÝ POSUDEK DOKTORANDSKÉ DISERTAČNÍ PRÁCE V OBORU NEUROVĚDY

**MUDr. Aleš Bartoš: Antiaxonální protilátky u roztroušené sklerózy**

Universita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Neurologická klinika

### **Souhrn práce**

Předkládaná diplomová práce se skládá ze 36 tiskových stran úvodu, 30 stran popisu vlastní práce (východiska, hypotézy, pacienti, metody, výsledky), 10 stran diskuze a 16 stránek literárních odkazů, 8 stran veškerých dosavadních publikací autora, z nichž se 9 vztahuje k tématu roztroušené sklerózy (5 abstrakt, 2 přehledné práce, 1 práce přijatá do IF časopisu – Eur J Neurol, 1 připravená v době vazby práce k odeslání do Multiple Sclerosis). Práce je provedena počítačovým tiskem v pevné vazbě a její úprava plně vyhovuje formálním požadavkům na disertační práci.

Práci uvádí **přehled** základních charakteristik a etiopatogeneze roztroušené sklerózy (RS), současných názorů na úlohu humorální imunity u RS (která byla dlouho považována jen za diagnostiku umožňující fenomén bez bližšího porozumění úloze protilátek jak ve vlastní destrukci tkáně, tak možná i v remyelinizaci) a přehled nejnovějších poznatků o cytoskeletu neuronů. Před vlastní východiska výzkumné práce je předřazen přehled dostupných znalostí o neurofilamentech a protilátkách proti neurofilamentům, který obsahuje i aktuální přehled literatury zabývající se tímto tématem.

Cíle práce vycházejí z rozpoznání axonální patologie již v časně fázi RS a snahy rozlišit, zda protilátky proti nervovým strukturám u RS se podílejí na přímém poškození CNS nebo jsou jen epifenomenem axonálního poškození. V pozadí je klinická potřeba rozlišit bez užití biopsie různé vzorce tkáňového poškození u různých podskupin pacientů s RS a podle nálezu řídit co nejdříve a neúčinnější terapii.

Soubor **pacientů** zahrnuje nejen pacienty v různých stádiích RS a s různou aktivitou choroby, ale i „kontrolní skupinu“ pacientů, u nichž nebyla zjištěna i při subjektivních obtížích jasná patologie nervového systému a dále choroby degenerativní, kde lze předpokládat sekundární imunitní reakci na rozpad struktur nervového tkáně.

**Metodika** zahrnuje popis jednak standardních úkonů vyšetření likvoru (stanovení hodnot základních proteinů a výpočty kvality hematoencefalické bariéry), jednak popis stanovení protilátek proti neurofilamentům, které bylo prováděno ELISA metodou na 1.LF UK. Dále jsou popsány statistické metody.

**Výsledky** jsou v práci prezentovány tabulkami a grafy s výčtem prováděných korelací. Protilátky pro *lehké podjednotce neurofilamentového tripletu* byly překvapivě přítomny nejvýznamněji u skupiny pacientů s neurodegeneracemi. Bylo zjištěno, že na rozdíl od IgM u IgG existuje korelace sérové a CSF hladiny protilátek. Nebyly zjištěny korelace mezi klinickými parametry RS a hladinou anti-NFL protilátek ani jejich dynamika v souvislosti s léčbou, ačkoli i.t. hladina byla u léčených pacientů v třídě IgG nižší.

Protilátky proti *středně těžké podjednotce neurofilamentového tripletu*: hladiny IgM v séru se mezi vyšetřovanými skupinami nelišily. Intrathékální syntéza IgG a IgM protilátek proti NFM u skupiny RS byla podobná intrathékální produkci pozorované u neurodegenerací (na rozdíl od ostatních kontrol). Intrathékální syntéza IgM byla vyšší u pacientů s RS než u „zdravých“ kontrol. Intrathékální syntéza IgG se snižovala u pacientů s RS vlivem léčby a dostává se téměř na hladinu kontrol.

**Diskuse** shrnuje dosažené výsledky a podrobně je porovnává s dosud publikovanými pracemi zahraničních autorů. Rozporné výsledky mohou být dány jednak jiným hodnocením relabující fáze RS, jednak samotnou délkou choroby, nelze vyloučit ani drobné metodické rozdíly v laboratorní části prací.

Vlastní publikace nejsou přiloženy.

Následuje 16 stran přehledu použité literatury a přehled publikační aktivity autora, kde je i řada oceněných prací a abstrakt.

### **Hodnocení práce**

Posudek hodnotí výlučně předkládanou doktorskou práci a nezabývá se hodnocením splnění či nesplnění dalších podmínek nutných k úspěšnému získání titulu PhD.

Pozitivně je nutno hodnotit zevrubný úvod mapující současné neuroimunologické aspekty RS v pohledu kombinace zánětlivé a degenerativní složky RS. Autor prokázal dobrou orientaci v soudobé literatuře, schopnost z ní kriticky čerpat a kriticky nahlížet na publikované práce.

Stejně tak lze pozitivně hodnotit metodický přístup k zajištění reprodukovatelnosti výsledků (vyšetřování vzorků ve dvojicích, na téže destičce, s týmž vnitřním standardem, současné vyšetřování CSF a séra na jedné destičce, používání indexů namísto absolutních hodnot) a orientaci ve statistické analýze.

Výsledky vyšetření podobných „markerů“ destrukce tkáně či aktivity zánětlivého procesu jsou bohužel běžně zatíženy obrovskou interindividuální variabilitou u pacientů, a je proto třeba k jejich validnímu hodnocení velkých množství vzorků. Domnívám se, že poněkud rozpačitá interpretace výsledků je dána právě nevelkými počty pacientů ve skupinách (kde i RS se rozpadá na počty okolo 10 pacientů a z grafů je patrna obrovská SD). Autor zmiňuje tento problém jen u hodnocení pacientů s klinicky izolovaným syndromem, kde by bylo vyšetření k odhalení stupně jejich tkáňové destrukce v počátku choroby pro klinika nejdůležitější. Navíc tabulky s výsledky nejsou příliš přehledné a nepochybně obsahují jen část výsledků a korelací. Je dále velká škoda, že nebylo možno porovnat anti-NFL index s údaji MRI, protože tam byla v literatuře nalezena nejpodstatnější korelace dokládající validitu vyšetření anti-NFL protilátek u pacientů s RS jako markeru tkáňové destrukce.

Z formálního hlediska bych uvítala jasnou kapitolu „Závěr“ s vyjmenováním smysluplných závěrů – alespoň s hypotézami, proč tomu tak je, a jaké další směry předkládaný výzkum vytyčuje do budoucna, zda má význam tuto metodiku dále rozvíjet, na co se zaměřit a co v klinické praxi lze od vyšetření očekávat. (Nebo přinejmenším rozbor faktorů, které nevedou k možnosti jednoznačného závěru na podkladě předložených výsledků nyní. Zdá se, že práce nebyla uceleně plánována a podpořena výzkumnými záměry či grantovým financováním, což vysvětluje nepřítomnost MRI analýzy, která by byla obzvláště cenná vzhledem k zavzetí pacientů s neurodegenerativními chorobami a k přítomnosti „zdravých“ kontrol.)

Dále postrádám doklad o přijetí jediné práce pojednávající in extenso o daném tématu do tisku a postrádám práci připravenou v době vazby k odevzdání do tisku do IF časopisu. Jinak je autorova publikační činnost bohatá a netýká se zdaleka pouze roztroušené sklerózy.

### **Otázky oponenta**

1. Jaký byl další osud (eventuálně revidovaná další diagnóza) u tří pacientů, kteří měli nejvyšší anti-NFL index za skupiny „zdravých“ kontrol? Bylo nám toto vyšetření nějakým způsobem nápomocné v nasměrování dalších vyšetření a zjištění příčiny jejich obtíží? (Pokud ne, jak bychom se mohli rozhodovat u pacientů, u nichž bychom chtěli sledovat tento index jako pomoc při rozhodování o terapii či závažnosti jejich choroby?)
2. Na str. 63 je uvedeno, že pacienti s RS léčení imunosupresí či imunomodulací měli nižší i.t. hladinu IgG než pacienti neléčení (totéž str. 74 - doloženo i grafem). Toto zjištění by mohlo mít velmi dobrý klinický výstup (ačkoli přináší opět pochybnost do statistického hodnocení tak nesourodého souboru pacientů s RS, jaký byl zkoumán), jak si pak ale vysvětlit další větu, že „intrathékální hladina anti-NFL IgG protilátek byla podobná u pacientů s RS bez ohledu na typ léčby jako u osob ve skupině CN“ („zdravé“ kontroly)? Nebo jde pouze o zkopírovaný překlep a v poslední větě mělo být IgM?

### **Závěr posudku**

Předložená doktorandská práce MUDr. Jiřího Brabce splňuje základní formální i obsahové předpoklady pro získání titulu PhD v oboru neurovědy na Universitě Karlově v Praze. Doporučuji proto její kladné posouzení (při doložení publikačních výstupů).



Doc. MUDr. Eva Havrdová, CSc.  
Universita Karlova, 1. lékařská fakulta  
Neurologická klinika  
Kateřinská 30, Praha 2

V Praze dne 17.9.2006