



Oponentský posudek diplomové práce Bc. Kateřiny Chudé

"Role of enterovirus and adenovirus infection in the pathogenesis of celiac disease"

Předložená diplomová práce (DP) se zabývá nesmírně zajímavým a aktuálním tématem - roli běžných virových infekcí střeva v patogenezi celiakie. Práce je psaná anglicky a strukturovaná jako ucelený text (65 stran) doplněný 2 publikovanými články, na kterých se autorka práce podílela, s bohatými metodickými suplementy. V souladu s doporučeními textu DP předchází abstrakt a seznam klíčových slov, seznam zkratk a obsah. Vlastní text práce je následně členěn do standardních kategorií, jakými jsou úvod a jasně definované cíle (2 strany), kvalitní literární přehled zaměřený na celiakii (8 stran) a studované viry (9 stran), podrobně popsané metodiky (20 stran), přehledně popsané výsledky (12 stran), diskuse (7 stran) a závěry (1 strana). Hlavní závěr práce, že enterovirové, nikoli však adenovirové, infekce v časném dětství jsou asociovány s rozvojem celiakie, jsou dobře podpořeny experimentálními daty. Poslední stránky textu DP pak obsahují citace 67 literárních zdrojů a 9 internetových odkazů. Kromě několika drobností (viz dále) je seznam literatury zcela adekvátní a poukazuje na dobrou orientaci autorky v dané problematice.

K práci mám několik připomínek a otázek:

- 1) V úvodu autorka píše: „The disease develops most often in children, although can occur also in adulthood.“ Toto tvrzení není podpořeno vhodnou citací a je navíc nesprávné. Z analýzy Dutch Celiac Society vyplývá, že celiakie může být diagnostikována u lidí ve věku 0-88 let ale pouze u 36 % případů je diagnostikována ve věku 0-17 let (dětství). Je ovšem pravda, že nejvyšší incidence choroby je mezi 0-2 rokem věku (van Gils T, et al. *J Gastrointest Liver Dis.* 2016;25:441-445.) a prevalence celiakie je vyšší u dětí než u dospělých (Singh P. et al. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16:823-836.e2).
- 2) V sekci 1.2 autorka popisuje nárůst celiakie v posledních dekadách. Data jsou ale téměř 20 let stará a týkají se Finské populace. Došlo od té doby k dalšímu nárůstu, nebo dosáhla prevalence tzv. „fáze plateau“? Jak vypadá prevalence celiakie v České republice?
- 3) Na rozdíl od enzymatického aparátu člověka, jak je ostatně velmi správně poznamenáno sekce 2.2 DP, jsou některé bakterie schopny štěpit i oblasti bohaté na prolin pomocí propylendopeptidáz (PEP; Hausch F. et al. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;283:G996-G1003.), čímž mohou antigenicitu gliadinových peptidů snižovat (Marti T. et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005;312:19-26.; Moreno Amador ML. et al. *PLoS One.* 2019;14:e0218346.). Přestože existuje určitá kontroverze, zejména kolem dávkování těchto enzymů (Matysiak-Budnik T. et al. *Gastroenterology.* 2005;129:786-96.), střevní mikrobiom by nemusel být ovlivněn stejnými restrikcemi jako orální podávání PEP. Byl prokázán efekt některých ze studovaných virů právě na produkci těchto enzymů střevními bakteriemi, který by mohl např. vysvětlit změnu prahu proreaktivitu na imuno-stimulační peptidy gliadinu?
- 4) Na straně 9 DP je citována práce Singh P, et al. (*Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16:823-836.e2) poukazující na rozdíly v prevalenci celiakie mezi Finskem a Ruskou Karelií. Jedná se však pouze o meta-analýzu, která zmiňované rozdíly nijak nediskutuje, proto by bylo lepší citovat původní práci (Kondrashova A. et al. *Ann Med.* 2008;40:223-31.). Citace Cínek et al. 2019 (popis Figure 17) chybí v seznamu literatury.

- 5) Na straně 10 autorka píše: „However, the exact mechanism of CD development remains elusive and its studies are difficult due to the lack of proper animal models (Marietta et al. 2012).“ Jedná se však o chybu v citaci, protože článek s tímto jménem vyšel v roce 2011 (Marietta EV. et al. Int Rev Immunol. 2011;30:197-206) a naopak popisuje, jak zvířecí modely přispěly ke studiu patogeneze celiakie. Podobný závěr mají práce ze stejného kolektivu z roku 2012 (Marietta EV and Murray JA. Semin Immunopathol. 2012;34:497-511). S první částí výroku ale zcela souhlasím, zejména co se týče časné, možná dokonce inaparentní, fáze patogeneze celiakie.
- 6) Imunitní odpověď proti virům u celiaků je velice zajímavé a občas i kontroverzní téma. Bylo například ukázáno, že herpetické viry jsou negativně asociované s celiakií (Jansen MA. et al. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2016;63:423-30.), že vakcinační odpověď na HBV vakcínu je všeobecně slabší u celiaků (Rousseff T et al. Acta Gastroenterol Belg. 2019;82:27-30.) a že mají celiaci větší citlivost k infekcím (Anania C. et al. World J Gastroenterol. 2017;23:3205-3213.). Jaký je názor autorky na tyto (a případně i jiné) imuno-modulační účinky a jak zapadají do současného modelu imunopatogeneze celiakie?
- 7) V sekci 4.2 je popisována extrakce templátu pro analýzu virů ze stolice. Jaké výhody má použití supernatantu ze stolice v porovnání s klasickou metodou lýzy stolice (Abebe A. et al. Scand J Infect Dis. 1992;24:265-73.)?
- 8) V seznamu použitých chemikálií a vybavení (strany 38-39) a v některých dalších částech textu nejsou příliš konzistentně uváděni výrobci, státy a země původu.
- 9) Údaj pro aOR pro vztah horečky a celiakie v textu na straně 41 se liší od stejného údaje v tabulce 6. Který z nich je správný 2,12 nebo 1,10? Osobně bych pro příště doporučil neopakovat takovéto detailní číselné údaje v textu a ponechat je pouze v tabulkách, kde je snazší je prohlížet a porovnávat.
- 10) Obvyklá délka kojení (protektivní faktor), obvyklé období expozice gliadinu (rizikový faktor) a období zvýšeného výskytu HEV vytváří dohromady zajímavý prostor pro hypotézy o vzniku celiakie, zejména pokud vznikne v dětství. Mohla by tedy expozice HEV společně s gliadinem bez protektivního působení mateřského mléka být zodpovědná za vyšší incidenci celiakie u dětí narozených v období jaro/léto (Lebwohl B, et al. Arch Dis Child 2013;98:48–51.)? Vzhledem k tomu, že tento efekt je silnější u chlapců (Tanpowpong P. et al. J Pediatr. 2013;162:501-4.), ovlivňuje pohlaví dítěte šanci k nákaze enteroviry, délku kojení či jiný relevantní faktor?
- 11) K formální stránce práce bych měl jen několik drobnějších poznámek a doporučení. Přestože formátování textu "do bloku na celou šíři stránky" nijak neodporuje zavedeným pravidlům a zvyklostem při zpracování odborného textu, odporuje poznatkům o ergonomii a typografickým doporučením. Toto členění textu zbytečně prodlužuje dobu nutnou k jeho čtení (např. Trollip SR and Sales G, 1986;28:159-163) a proto není vhodné k psaní delších textů. Z dalších drobných konvencí bych doporučil sjednotit počet desetinných míst v rámci stejné tabulky (např. p-hodnoty v Tabulce 2), používat stejný formát citací v textu (Kahrs, et al. 2019) a udržovat zavedené zkratky v textu i obrázcích (HEV vs. EV ve Figure 23).

Předložená diplomová práce je velmi zajímavá, kvalitně zpracovaná a přináší řadu původních výsledků, které byly dokonce již publikovány v impaktovaných časopisech. Autorka si při jejím zpracování osvojila několik moderních metodik a naučila se je kriticky interpretovat. Práce tak splňuje nároky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy a doporučuji ji k obhajobě.

V Praze dne 31. 8. 2019


MUDr. Miloslav Kverka, Ph.D.