

Oponentský posudek dizertační práce

Detekce a genotypizace kmenů *Helicobacter pylori* ve Waldeyerově lymfatickém okruhu a jeho vztah ke vzniku patologií v této oblasti

Doktorand: MUDr. Eva Nártová

Vedoucí práce: Prof. MUDr. Jaromír Astl, CSc.

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Experimentální chirurgie

Oponent: Mgr. Kateřina Petříčková, PhD.

Předložená dizertační práce MUDr. Evy Nártové se věnuje objasnění kolonizace Waldeyerova lymfatického okruhu bakterií *Helicobacter pylori* (HP), který hraje významnou roli v patogenezi chronické gastritidy, vzniku žaludečních vředů a lymfomu a karcinomu žaludku. Autorka si klade za cíl potvrdit či vyvrátit hypotézu, že lymfatické tkáně Waldeyerova okruhu jsou kromě dutiny ústní významným extragastrickým rezervoárem HP. Pokouší se najít souvislosti mezi výskytem jednotlivých genotypových variant HP a rozvojem zánětlivých a maligních onemocnění této lymfatické tkáně. Na základě výsledků práce hodnotí, zdali by, v závislosti na výsledcích genotypizace HP přítomného ve Waldeyerově okruhu a sérologie, měla být jeho detekce důvodem k eradikaci.

Práce je standardně členěna a má bez příloh 50 stran. V čtrnáctistránkovém úvodu se autorka věnuje literární rešerši dané tematiky – kromě charakterizace HP a jeho patogenního působení uvádí též obecné možnosti jeho diagnostiky. Dále přehledně sumarizuje dosavadní ne zcela jednoznačná a nesourodá data týkající se kolonizace dutiny ústní a Waldeyerova okruhu HP. V závěru uvádí též literární zdroje, které – opět poměrně nejednoznačně – dokumentují hypotézu karcinogenního působení HP v oblasti ústní dutiny, laryngu a pharyngu.

V druhé kapitole autorka jasně formuluje cíle své práce a stanovuje 3 základní hypotézy – 1. HP infikuje tkáně Waldeyerova okruhu, 2. nález HP v této oblasti společně se sérologickým průkazem infekce je argumentem k jeho eradikaci a 3. existuje korelace mezi genotypem HP a benigními či maligními onemocněními Waldeyerova okruhu. Krátká třetí kapitola pak obsahuje metodiku práce – sběru biologického materiálu, vyšetření vzorků: izolace DNA, detekce DNA HP a její genotypizace pomocí real-time PCR testů detekujících výskyt variant virulenčního genu *vacA*, dále genu *cagA* z CagPAI a flagelárního genu *fla*. Sérologický průkaz HP byl prováděn komerčním kvantitativním testem na IgG, IgA a IgM protilátky a též testem na anti-CagA protilátky.

Čtvrtá kapitola (11 stránek) je věnována výsledkům práce. Autorka pro svou studii použila 145 vzorků tonzilárních tkání dospělých pacientů se třemi onemocněními – 56 % tvořily vzorky pacientů s chronickou tonzilitidou, 29 % vzorky pacientů trpících obstrukční spánkovou apnoe (OSAS) a 16 % vzorky z karcinomu tonzil. Real-time PCR indikoval přítomnost HP v 77 % z nich. Druhou skupinou bylo 67 dětských pacientů se 79 vzorky z adenoidní vegetace (78 %) a tonzilární tkáně při OSAS (22 %). Téměř 95 % vzorků dětských pacientů bylo při real-time PCR testech pozitivních na přítomnost DNA HP. Genotypizace pozitivních vzorků ukázala prevalenci dvou genotypů bez ohledu na charakter onemocnění a věkovou kategorii. Většina pozitivních vzorků byla též *vacA*⁺, *cagA*⁺, což naznačuje, že pro kolonizaci tkání Waldeyerova okruhu není, na rozdíl od žaludku, potřeba přítomnost virulenčního faktoru CagA a tyto tkáně jsou tedy evidentně infikovány zejména méně virulentními *cagA*⁻ kmeny HP. Z výsledků je též jasné, že neexistuje korelace mezi genotypem HP a benigním či maligním onemocněním lymfatické tkáně. V závěru zhodnocení experimentálních výsledků se autorka věnuje porovnání výsledků serologických testů s detekcí pomocí real-time PCR, signifikantně rozdílné výsledky obou metodik logicky

- Str. 31 – graf téměř není vidět.
- Str. 32 a jinde v textu – pozor na standardní psaní jmen genů malým písmem a kurzivou a jejich proteinových produktů, normálním písmem s prvním písmenem velkým.
- str. 27, 29 a 30 - v přehledných grafech incidence jednotlivých genotypů HP u benigních a maligních onemocnění dospělých i dětí by bylo dobré zachovávat stejné pořadí genotypů na ose X grafu. Čtenář by tak na první pohled viděl, jestli a jak je distribuce genotypů v uvedených skupinách pacientů odlišná. Také popisky jsou v různých grafech u stejných genotypů odlišné (CagA-pozitivní genotyp jako CagA u maligních diagnóz dospělých a CagA+ u maligních diagnóz dětí a benigních u dospělých).
- Často v textu – při uvádění procentuálního zastoupení by mezi číslem a značkou % měla být mezera (pokud se nejedná o přídatné jméno – např. 5% nárůst).

V souvislosti se získanými výsledky a jejich interpretací autorkou mám několik doplňujících dotazů:

1. Dá se skutečně skupina pacientů s OSAS považovat za reprezentativní vzorek zdravé tkáně tonzil? Ke vzniku OSAS mohou kromě jiného přispívat též infekční faktory, které se projevují zduřením tkáně tonzil nebo nosohltanu a nemusí se tedy jednat o zcela zdravé jedince. Proč jste nepoužila zdravou kontrolní skupinu? Existuje alespoň nějaká studie, která by charakterizovala osídlení lymfadenoidních tkání krku HP u zcela zdravých jedinců, bez jakýchkoli symptomů v oblasti tonzil a nosohltanu?
2. Jak si vysvětlujete výrazně vyšší PCR pozitivitu u dětských pacientů ve srovnání se skupinou dospělých?
3. Má-li být tkáň Waldeyerova okruhu považována za důležitý extragastrický rezervoár HP, jaký význam může mít její kolonizace HP pro případnou budoucí infekci žaludku s rizikem rozvoje gastritidy a nádorových onemocnění žaludku? Zajímala by mě úvaha též s ohledem na odlišné rozložení genotypů HP v obou oblastech.

Závěrem bych chtěla shrnout, že autorka přináší ve výsledcích své dizertační práce zcela nové poznatky v oblasti kolonizace tkání Waldeyerova okruhu bakterií HP a pokusila se nějak systematizovat dosavadní nesourodá publikovaná data. Použila několik nezávislých postupů detekce HP v tkáňových vzorcích a na získaných výsledcích upozornila na limity a úskalí jednotlivých metodik a zdůraznila význam volby detekční techniky. Její práce má tedy i nesporný metodický impakt, byť nepřináší žádnou přelomovou metodiku diagnostiky HP infekcí. Samotné výsledky jsou prezentovány celkem přehledně a též interpretace výsledků je jasná a logická. Přínosný je nesporně poznatek o jiném genotypovém složení HP populací z Waldeyerova okruhu, ve srovnání s gastrickými kmeny. Hlavní slabinou práce je, dle mého názoru, až přílišná stručnost při prezentaci dat, takže u některých uvedených metod není zcela jasné, jak a k čemu je autorka využila. Výsledky ovšem byly úspěšně publikovány ve formě několika článků v impaktovaných a neimpaktovaných časopisech, z nichž u 3 je MUDr. Nártová první autorkou. Dle mého názoru splnila požadavky obecně kladené na dizertační doktorskou práci v uvedeném oboru. Autorka prokázala schopnosti k samostatné vědecké práci a interpretaci získaných výsledků. Doporučuji tedy její práci k obhajobě a po jejím úspěšném vykonání a zodpovězení doplňujících otázek udělení titulu PhD.

V Praze 18. 4. 2017



Mgr. Kateřina Petříčková, PhD.
oponent