



UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
JESSENOVA LEKÁRSKA FAKULTA V MARTINE



Neonatologická klinika JLF UK a UN Martin

Prednosta: prof. MUDr. Mirko Zibolen, CSc

Oponentský posudok na habilitačnú prácu

MUDr. Zuzany Havlíčekovej, PhD.

„Aktuálny pohľad na etiopatogézu Crohnovej choroby v detskom veku“

Posudok podáva:

prof. MUDr. Mirko Zibolen, CSc.,

profesor pediatrie, prednosta Neonatologickej kliniky Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine Univerzity Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

Predkladaná dizertačná práca sa venuje aktuálne problematike etiopatogenézy Crohnovej choroby v detskom veku. Približne 25% ochorení sa začína v období detstva a adolescencie a práve pediatrickí pacienti majú vyššie riziko komplikovaného priebehu s extenzívnym postihnutím tráviaceho traktu, nepriaznivým ovplyvnením rastu a vývoja, nutnosťou kombinovanej medikamentózneho imunosupresívnej liečby, pri komplikovanom priebehu aj chirurgickej.

Napriek tomu, že od prvého charakterizovania choroby B. B. Crohnom uplynulo už takmer storočie a jej výskyt neustále vykazuje narastajúci trend, doposiaľ sa nepodarilo odhaliť všetky etiologické faktory a presne objasniť patogenetické mechanizmy vzniku. Podľa aktuálnych poznatkov o Crohnovej chorobe je pre vznik nevyhnutná interakcia genetických, imunologických a environmentálnych faktorov. Rozdiely v genetickej predispozícii a interakcia rôznych environmentálnych faktorov vedie k rozdielom v génovej penetrancii a tým variabilite fenotypových prejavov ochorenia a odpovede na liečbu. Význam jednotlivých

faktorov sa mení aj v závislosti od veku jedinca a práve v detskom veku sa významne uplatňujú genetické faktory, význam environmentálnych faktorov a črevnej mikrobioty narastá s vekom.

Z formálneho hľadiska je práca rozčlenená do 8 kapitol. Obsahuje 7 obrázkov, 10 tabuliek a spolu 240 aktuálnych citácií. Je písaná progresívnym slovenským jazykom. Pri hodnotení jednotlivých kapitol konštatujem, že prvá je venovaná stručnej charakteristike Crohnovej choroby v detskom veku so zameraním na epidemiológiu, klinický obraz, klasifikáciu, skriningové systémy a diagnostiku. Ďalšia poskytuje prehľad aktuálnych poznatkov genetických a environmentálnych faktorov v etiopatogenéze Crohnovej choroby. Prvá podkapitola je venovaná významu genetickej predispozície, ktorá je zásadným faktorom v etiológii Crohnovej choroby. Ochorenie je charakterizované komplexnou, polygennou dedičnosťou s variabilnou penetranciou. Vzhľadom k polygennému charakteru ochorenia, významnej variabilite génov a tiež participácii environmentálnych faktorov však hodnotenie špecifického genetického polymorfizmu neprineslo do klinickej praxe jednoznačný predpokladaný benefit pre pacienta a klinické štúdie pokračujú. Genetické vyšetrenie má však opodstatnenie u pacientov s včasným nástupom Crohnovej choroby a/alebo nereagujúcich na konvenčnú liečbu. Identifikácia monogénovej poruchy, väčšinou zo skupiny primárnych imunodeficiencií významne mení terapeutický prístup. Monogénovým ochoreniam s IBD like symptomatológiou je následne venovaná samostatná podkapitola s odkazmi na 4 publikácie autorky, ktoré sa venujú danej problematike. Významná je publikácia, ktorá dokumentuje prvý prípad bodovej mutácie génu pre IL10RB na Slovensku u pacientky s veľmi včasným nástupom Crohnovej choroby (strikturujúcej a penetrujúcej formy s perianálnym postihnutím) nereagujúcej na konvenčnú liečbu Crohnovej choroby. Druhá podkapitola je zameraná na význam environmentálnych faktorov (fajčenie, psychický stres, medikamentózna liečba, diéta, apendektómia, životná štýl, fyzická aktivita, očkovanie), na ktorých význam poukazuje neustále narastajúci trend ochorenia.

Tretia kapitola je venovaná patogenéze Crohnovej choroby. V súčasnosti je všeobecne akceptovaná hypotéza, ktorá pri vzniku IBD predpokladá neprimerané reakcie imunitného systému na komenzálne, fyziologicky sa vyskytujúcu črevnú mikrobiotu u geneticky predisponovaného jedinca. Environmentálne faktory pôsobia ako významný modifikujúci faktor. Ďalšia prezentuje výsledky vlastnej klinickej štúdie hodnotiacej polymorfizmus *NOD2/CARD15* génu u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou. V úvodnej časti sú zhrnuté aktuálne teoretické poznatky o význame *NOD2/CARD15* génu za fyziologických

a patologických podmienok. *NOD2/CARD15* gén je prvým génom, u ktorého bola popísaná asociácia medzi jeho polymorfizmom a zvýšeným rizikom Crohnovej choroby. Produkt génu, NOD2 proteín je cytoplazmový proteín, intracelulárny receptor, ktorý má významnú úlohu v modifikácii odpovede na bakteriálnu infekciu. Do štúdie bolo zaradených 20 detí a adolescentov s Crohnovou chorobou vo veku 2-18 rokov (12 chlapcov, 8 dievčat) a 20 detí kontrolnej skupiny. Práca, ktorá ako jediná mapuje frekvenciu výskytu L1007fs polymorfizmu *NOD2/CARD15* génu u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou na Slovensku a bola zistená 40 % frekvencia výskytu, čo naznačuje asociáciu s včasným nástupom ochorenia, ktorá je porovnateľná s ostatnými krajinami Európy, kde je 2. najčastejšou mutáciou *NOD2/CARD15* génu u pacientov s Crohnovou chorobou. Zaujímavosťou je pomerne vysoký výskyt sledovaného polymorfizmu u zdravých jedincov, ktorý sa pohyboval okolo 25%, kým všeobecne v európskej populácii väčšinou nepresahuje 20%. Vo vzťahu k fenotypovým prejavom ochorenia bola v zhode s literárnymi údajmi potvrdená tendencia k frekventnejšiemu strikturujúcemu sa správaniu ochorenia.

Ďalšia je opätovne venovaná vlastnej klinickej štúdiu a poskytuje prehľad aktuálnych poznatkov o význame oxidačného stresu v etiopatogenéze nešpecifických črevných zápalových ochorení, u ktorého sa predpokladá, že je jedným z významných mechanizmov deštrukcie inflamatorného tkaniva. U väčšiny pacientov s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami boli detegované vyššie hladiny reaktívnych foriem kyslíka a nižšia aktivita antioxidantov. Následne sú prezentované výsledky vlastnej klinickej štúdie, do ktorej bolo zaradených 36 pediatrických pacientov s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami (25 s Crohnovou chorobou a 11 s ulceróznou kolitídou) vo veku 8-18 rokov. Stanovovaná bola hladina 8-epi-prostaglandínu $F_{2\alpha}$ v moči, ktorý je produktom peroxidácie lipidov a je významným, vysoko senzitívnym a špecifickým biomarkerom oxidačného poškodenia. U pacientov s Crohnovou chorobou bola zaznamenaná zvýšená hodnota močového 8-epi-prostaglandínu $F_{2\alpha}$ v porovnaní s pacientmi ulceróznou kolitídou, aj keď tento rozdiel nebol štatisticky významný. Pacienti s potenciálne nepriaznivým priebehom CD mali signifikantne vyššie hladiny močového 8-epi-prostaglandínu $F_{2\alpha}$, pacienti v remisii mali v porovnaní s pacientmi s aktívnym ochorením signifikantne nižšie hodnoty. Vo vzťahu k lokalizácii ochorenia boli zistené signifikantne vyššie hodnoty močového 8-epi-prostaglandínu $F_{2\alpha}$ u pacientov s Crohnovou chorobou s postihnutím hornej časti gastrointestinálneho traktu. Stanovenie 8-epi-prostaglandínu $F_{2\alpha}$ v moči pri hodnotení peroxidácie lipidov je vysoko senzitívnym a špecifickým markerom. Hladiny v moči nie sú ovplyvnené zložením diéty,

vrátane obsahu lipidov. Ďalšou nespornou výhodou testu, nielen v pediatickej populácii je jeho neinvazivita (vyšetruje sa vzorka moča), jednoduchosť spracovania a uskladnenia vzoriek.

Kapitola Závěry a perspektívy prehľadne zhŕňa výsledky predchádzajúcich klinických štúdií so zameraním na využitie v klinickej praxi a možnostiach ďalšieho rozvoja výskumu v oblasti etiopatogenézy Crohnovej choroby. Poukazuje na spoločný menovateľ aktuálnych genetických štúdií a prác zaoberajúcich sa oxidačným stresom, ktorým je okrem snahy o objasnenie etiopatogenetických mechanizmov IBD aj snaha o identifikáciu dostatočne senzitívneho a špecifického markera (génového polymorfizmu alebo parametra oxidačného stresu), ktorý by prognosticky umožnil identifikáciu rizikového jedinca s nepriaznivým priebehom ochorenia s tak umožnil optimalizáciu terapeutického postupu.

Záver:

MUDr. Zuzanu Havlíčkovú, PhD sledujem osobne od začiatku jej pôsobenia na Klinike detí a dorastu JLF UK a UN Martin. Je výbornou lekárkou, zanietným pedagógom a svojou prácou dokazuje, že je zaslúžene vážnym uchádzačom na získanie titulu docent v odbore pediatria. Predložený habilitačný spis podľa môjho názoru spĺňa všetky požiadavky na habilitačnú prácu a preto odporúčam Vedeckej rade JLF UK v Martine, aby po habilitačnom konaní udelila MUDr. Zuzane Havlíčkovej , PhD vedecko pedagogický titul docent v odbore pediatria.

V Martine, 15. mája 2018

prof. MUDr. Mirko Zibolen, CSc