

## Abstrakt

Alergická onemocnění patří mezi jedna z nejčastějších onemocnění a jejich incidence celosvětově stále stoupá zejména mezi dětmi a dospívajícími. K rozvoji alergického onemocnění dochází již v časném postnatálním období a bylo popsáno několik faktorů, které mohou novorozence predisponovat ke vzniku alergických onemocnění. Dosud však stále není zcela objasněn mechanismus vzniku alergie. Důležitými imunitními buňkami, které se na tomto mechanismu podílejí, jsou regulační T buňky (Treg, angl. regulatory T cells). Jejich funkcí je vytváření centrální tolerance vůči autoantigenům a periferní tolerance vůči neškodným antigenům vyskytujícím se ve vnějším prostředí, mezi něž patří i alergen.

Cílem této práce bylo porovnání proporcí a funkčních vlastností Treg u dětí zdravých matek (dětí s nízkým rizikem rozvoje alergického onemocnění) a dětí alergických matek (dětí s vysokým rizikem rozvojem alergického onemocnění). Byla sledována jak celková populace Treg tak i jednotlivé subpopulace (přirozené (n)Treg a indukované (i)Treg) v plné pupečnickové krvi obou skupin dětí. Pro posouzení funkčních vlastností byly Treg izolovány z pupečnickové krve pomocí magnetické separace a následně ko-kultivovány s CD4+CD25- T buňkami nebo mononukleární frakcí buněk pupečnickové krve (CBMC, angl. cord blood mononuclear cells), které byly obarveny carboxyfluorescein succinimidyl esterem (CFSE), polyklonálně stimulovány fytohemaglutininem a kultivovány po dobu 3 dní. Supernatanty kultur Treg s CD4+CD25- T lymfocyty či CBMC byly odebírány pro stanovení produkce regulačních cytokinů interleukinu (IL) 10 a transformujícího růstového faktoru beta (TGF- $\beta$ , angl. transforming growth factor beta). Z izolovaných Treg byla extrahována RNA pro následnou detekci genové exprese regulačních cytokinů IL-10, TGF- $\beta$  a IL-35.

Mezi dětmi zdravých a alergických matek nebyl pozorován významný rozdíl v zastoupení Treg definovaných na základě exprese povrchových znaků CD4, CD25 a intracelulárního znaku FoxP3. V pupečnickové krvi dětí zdravých a alergických matek nebyl pozorován významný rozdíl ani v zastoupení nTreg a iTreg určených na základě intracelulární exprese FoxP3 a Helios. Pomocí imunopresivní eseje byla zjištěna vyšší proliferační kapacita CBMC i CD4+ T buněk dětí alergických matek, avšak nebyly pozorovány supresivní vlastnosti Treg vůči efektorovým buňkám v pupečnickové krvi dětí zdravých ani alergických matek. Produkce IL-10 v supernatantu kultur Treg s efektorovými buňkami byla nižší u dětí alergických matek ve srovnání s dětmi zdravých

matek. Nebyl pozorován významný rozdíl v genové expresi regulačních cytokinů Treg pupečnickové krve dětí zdravých a alergických matek.

Vyšší proliferační kapacita efektorových buněk a nižší produkce IL-10 v supernatantu kultur Treg s efektorovými buňkami ukazují na snížené imunoregulační vlastnosti Treg v pupečnickové krvi dětí alergických matek, které mohou přispívat ke snazšímu rozvoji nežádoucí imunitní odpovědi na relativně neškodné antigeny vnějšího prostředí vedoucí ke vzniku alergie u těchto dětí. Nebyly prokázány supresivní vlastnosti Treg v pupečnickové krvi dětí zdravých a alergických matek poukazující na vysokou nezralost imunitního systému novorozence ve srovnání s imunitním systémem dospělého jedince.

**Klíčová slova:** regulační T buňky, Treg, alergická onemocnění, pupečnicková krev, FoxP3, Helios, IL-10, TGF- $\beta$ , imunosupresivní ese

