



UNIVERZITA KARLOVA

1. lékařská fakulta

ÚSTAV IMUNOLOGIE A MIKROBIOLOGIE

Studničkova 7, 128 00 Praha 2

Česká Republika

Oponentský posudek disertační práce

*MUDr. Petry Fundové*

**Mucosal immunity in upper respiratory tract diseases and  
autoimmunity diseases**

Disertace byla vypracována v laboratoři zaměřené na studium slizniční imunity, kde bylo již v minulosti dosaženo vynikajících a prioritních výsledků a mezinárodního renomé v této oblasti. Práce se skládá ze dvou tematicky rozdílných částí, jejichž společným jmenovatelem je právě slizniční imunita. V první části, zabývající se nosní polyposou, je sledována úloha slizniční imunity při lokálním slizničním onemocnění. Druhá část se týká diabetes mellitus 1. typu a ukazuje na význam slizniční imunity při orgánově specifickém autoimunitním onemocnění.

Práce je založena na 6 původních pracích publikovaných v mezinárodních impaktovaných časopisech a na 2 přehledných pracích, z nichž každá se týká jednoho z tematických okruhů disertace. Kandidátka je první autorkou dvou původních prací a jednoho přehledného článku. Práce má obvyklou strukturu: souhrn, seznam zkratk, teoretický úvod, vytyčení záměrů, přiložené publikované práce opatřené krátkým komentářem, souhrnná diskuse, závěry a bohatý seznam literatury. Uspořádání je přehledné a až na některé překlepy formálně pěkné. Z disertace je patrné, že je autorka v řešené problematice dobře orientovaná a že zvládla řadu náročných metod, zejména práci s experimentálními zvířaty, izolace a kultivace buněk, histologické a imunohistochemické metody, fluorescenční mikroskopii, počítačovou analýzu

obrazu a průtokovou cytometrii.

Literární úvod je dobře uspořádán. Podtrhuje důležitost slizničního imunitního systému, jeho význam pro systémovou imunitu a pozoruhodné vlastnosti a funkci mikrobiomu. Podrobně jsou popsána studovaná onemocnění – nosní polyposa a diabetes mellitus 1. typu.

Chtěla bych upozornit na chybnou interpretaci výsledků Hansona a spol. (2012) v 1.3.4. Autorka uvádí, že antibiotika snižují výskyt diabetu u NOD myši, což je v rozporu s jinými uvedenými údaji o vlivu mikrobioty na vznik diabetu. V citovaném článku se však uvádí, že po působení vankomycinu přerůstá *Akkermansia muciniphila*, a jí je připisován vliv na snížení incidence diabetu.

Záměry práce jsou srozumitelně formulovány a dobře odůvodněny. Obě studovaná onemocnění mají úzký vztah ke slizniční imunitě a u obou těchto onemocnění nejsou dosud dobře známy okolnosti vzniku a mechanismy patogeneze, takže jejich studium má nepochybný význam jak pro základní výzkum tak potenciálně pro klinickou medicínu. Na straně 38 v posledním odstavci mi není jasné, co je v kontextu této disertace míněno vyjádřením o „.....mucosal delivery of..... autoantigens....“.

Výsledky jsou doloženy 6 původními pracemi v recenzovaných časopisech, takže o jejich kvalitě a významnosti nelze pochybovat. Dvě souborné práce shrnují dosavadní literární i vlastní získané výsledky týkající se nosní polyposy a vztahu autoimunitních onemocnění, slizniční imunity a mikrobioty. Tyto přehledy doplňují a rozšiřují diskusi k získaným výsledkům, která je jinak uvedena v komentářích k jednotlivým publikacím a v závěrečné diskusi. Všechny výsledky jsou pak sumarizovány a zhodnoceny v „Závěrech“ disertace.

První část disertace týkající se nosní polyposy je z oblasti klinické imunologie, souvisí s autorčinou vlastní klinickou praxí v oboru otorinolaryngologie a zabývá se analýzou biopsií autorčinych pacientů. Získané výsledky mají význam pro hlubší poznání dosud nejasné patogeneze uvedeného onemocnění. Pozornost byla věnována zejména zde dosud málo studované přirozené imunitě. Byly získány původní výsledky týkající se výskytu chemokinových receptorů objasňující příčiny charakteristické buněčné infiltrace nosních polypů. Sledování exprese IGF-1R a iNOS pak přispělo k charakterizaci mechanismů vedoucích ke zvýšené proliferaci a k zánětlivým změnám. Za přínosné pokládám, že exprese jednotlivých sledovaných znaků byly sledovány jednak ve stromatu polypů jednak v epitelu, jehož význam při nosní polypose je zde patřičně zdůrazněn. Pozornost byla věnována též rozdílům mezi zdravou nosní sliznicí a sliznicí polypů. Z charakterizace některých povrchových molekul polypů je možné

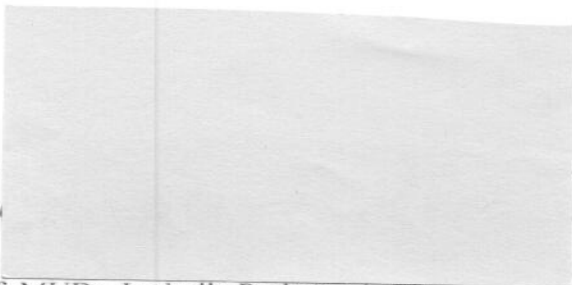
usuzovat na potenciální terapeutický přístup spočívající v zablokování těchto struktur.

Druhá část disertace má charakter základního výzkumu týkajícího se diabetes mellitus 1. typu. Jde o metodicky náročnou práci, která byla realizována ve spolupráci se zahraničním pracovištěm (The Bartholin Institute, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark). Práce přinesla mnoho nových poznatků o významu slizniční imunity a složek potravy pro vznik a patogenezi diabetu. Experimenty byly prováděny na modelech NOD myši a imunokompetentních BALB/c myši. Spoluautory bylo již dříve prokázáno, že u NOD myši gliadin diety podporuje vznik diabetu a bezgliadinová dieta může diabetu zabránit. V současné práci autorka srovnávala působení normální diety obsahující gliadin a bezgliadinové diety na buněčné složení a funkci jednak slizniční, jednak systémové lymfatické tkáně u BALB/c myši. Pozornost byla věnována různým subpopulacím T buněk. Výsledky přinesly řadu důkazů o jejich plasticitě. Dieta bez gliadinu podporuje rozvoj supresivních mechanismů a působí protizánětlivě, což brání rozvoji diabetu. Obdobné mechanismy by se mohly projevit i v patogeneze jiných autoimunitních onemocnění. V práci byla věnována pozornost mezi jiným buňkám Th17 a regulačním Foxp3+ T buňkám (Treg). Z výsledků vyplývá, že je žádoucí sledovat nejen počet Treg, ale i jejich funkci, která se mimo jiné odráží i v produkci cytokinů. Ve výsledcích jsou uváděna % buněk pozitivních při průtokové cytometrii na jednotlivé cytokiny. Byla měřena též intenzita fluorescence (MFI), která odráží množství testovaných intracelulárních cytokinů v jednotlivých buňkách? Pozoruhodné jsou výsledky týkající se významného regulačního působení  $\gamma\delta$  T buněk. Jaký je mechanismus event.. supresivního působení  $\gamma\delta$  T buněk? Sledovány byly i mechanismy a signalizace přirozené imunity, které v této souvislosti dosud nebyla věnována dostatečná pozornost. Výsledky ukazují na značný význam nejen specifické, ale i přirozené imunity při rozvoji autoimunitního onemocnění. Studium vlivu gliadinu na rozvoj diabetu přineslo i výsledky potenciálně využitelné v klinické praxi. Intranazální aplikace gliadinu působí u NOD myši preventivně proti vzniku diabetu a může dokonce i léčebně ovlivnit již vzniklé autoimunitní poškození pankreatu. Jak lze vysvětlit na jedné straně diabetogenní působení gliadinu v dietě a na druhé straně antidiabetogenní působení gliadinu při aplikaci na nosní sliznici?

## **Závěr**

Předložená disertační práce přináší řadu původních výsledků, které byly publikovány v mezinárodních impaktovaných časopisech. Výsledky přispívají k hlubšímu pochopení funkce

slizniční imunity a patogeneze nosní polyposy a diabetes mellitus 1. typu. Práce je významná jak z hlediska základního výzkumu tak podnětů pro potenciální klinickou aplikaci. Autorka prokázala teoretické znalosti i metodickou zdatnost. Disertační práce prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.



Prof. MUDr. Ludmila Prokešová, CSc.

V Praze 8. září 2016