



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. lékařská fakulta

ÚSTAV IMUNOLOGIE A MIKROBIOLOGIE

Studničkova 7, 128 00 Praha 2

Česká Republika

Oponentský posudek disertační práce

RNDr. Jaroslava Goliáše

The study of food allergy in patients and experimental model

Disertace J. Goliáše má po vědecké i společenské stránce velmi aktuální zaměření. Jde o náročnou práci základního výzkumu, prováděnou ve spolupráci s klinickými pracovišti. Získané výsledky nabízejí možnost brzkého praktického využití při diagnostice a léčbě alergických onemocněních. Práce vznikla v laboratoři, která kandidátovi poskytla výborné metodické i teoretické zázemí a ve které již byly získány v oblasti alergií a alergenů významné výsledky. Již tyto optimální podmínky jsou příslibem vysoké kvality předkládané disertace.

Práce je formálně pečlivě upravena a skládá se z úvodu, formulace záměrů, výsledků a diskuse, závěrů a literatury. Úvod je dobře koncipovaný a doložený velkým počtem citací. Cíle práce jsou dost rozsáhlé, ale je nutno říci, že byly splněny. Oddíl Výsledky a diskuse obsahuje tři původní články v impaktovaných časopisech, u dvou z článků je J. Goliáš prvním autorem. Ke každé z publikací je přiložen komentář zahrnující přehled získaných výsledků a kritickou diskusi. Kromě toho jsou připojeny i dosud nepublikované výsledky, týkající se tématu disertace.

První práce popisuje zavedení náročné několikastupňové metody pro izolaci alergenů ze pšenice. Pomocí sér pacientů s potravinovou alergií proti pšenici bylo v extraktech pšenice prokázáno 27 alergenů, z nichž 7 bylo u potravinových alergií popsáno nově. Alergeny byly získané v množství dostatečném pro následné studium jejich biologických a strukturálních vlastností. Výsledky vytvářejí předpoklady pro zavedení rekombinantní produkce

jednotlivých alergenů. Čisté alergeny by umožňovaly přesnou analýzu specifity alergické reakce (diagnostické využití) a připraveny v dostatečném množství by mohly být využity při specifické imunoterapii. Dosažené výsledky předznamenávají budoucí praktické využití v klinické medicíně.

V druhé práci byly využity zkušenosti z izolace pšeničných alergenů k izolaci alergenů z čerstvé i vařené rýže a opět byly popsány některé nové alergeny – šlo o alergeny rozpustné v SDS, dosud byly popsány pouze rýžové alergeny rozpustné ve vodných roztocích.. Prakticky důležitým výsledkem je, že u pacientů s různými potravinovými alergiemi je přítomna též reaktivita s alergeny izolovanými z vařené rýže. Zpochybňuje to názor, že rýže je vhodnou hypoalergenní potravou. Před zavedením rýžové diety je proto třeba stanovit, nereaguje-li IgE pacienta s rýžovými alergeny,

Třetí práce popisuje přípravu a vlastnosti myšího modelu alergie proti ovalbuminu a jeho využití pro studium vlivu tepelného zpracování vajec na alergenicitu ovalbuminu, která dosud nebyla z tohoto hlediska studována. Zvířecí model umožňuje podrobné sledování imunologických změn po užití různých typů alergenu. Bylo zjištěno, že i malé změny konformace ovalbuminu způsobené zahřátím snižují jeho alergenicitu a štěpitelnost pepsinem a snižují vazbu IgE protilátek pacientů s tímto alergenem, podporují tvorbu patrně blokujících protilátek (IgG 2a), podporují posun imunologické rovnováhy směrem k Th1 a podporují rozvoj regulačních T buněk (Treg). Práce tedy odhaluje některé imunologické rozdíly mezi senzibilizací nativním a tepelně opračovaným alergenem a naznačuje mechanismus, který se uplatňuje při snížení alergenicity, ke kterému dochází po tepelném zpracování některých alergenů.

Poslední oddíl výsledků uvádí počáteční zjištění autora týkající se vztahu mikrobioty a rozvoje alergie. Přispívá k současným diskusím o významu probiotik pro prevenci event. léčbu alergií. Z poznatku, že u bezmikrobních zvířat se nedaří vyvolat klinický obraz alergie vyplývá, že pro rozvoj alergie je nutná přítomnost mikrobioty, ale její složení ovlivňuje případnou alergizaci.

K práci mám několik připomínek a otázek:

- Je pravda, že velká část střevních organismů je nekultivovatelných, ale kultivovatelné jsou vedle mnohých aerobů i mnohé anaeroby – samozřejmě za anaerobních podmínek.

- MAMP neznamená „mucosal-associated molecular patterns“, jak je uvedeno, ale „microbe-associated molecular patterns“.
- Čtyři typy hypersensitivity jsou v Úvodu nepřesně definovány.
- Jaký je vztah patogeneze celiakie a potravinové alergie na bílkoviny pšenice? Nepřispívá k patogeneze celiakie také alergie?
- U GF myši a u myši kolonizovaných *L. plantarum* nebylo možné navodit experimentální potravinou alergii na ovalbumin. Přitom v obou případech byly přítomny specifické protilátky třídy IgE. Kde se předpokládá nějaká nedostatečnost zabraňující rozvoji klinických projevů za přítomnosti IgE protilátek? Jak GF stav ovlivňuje žírné buňky?

Závěr

Předložená disertace přináší původní výsledky, které byly publikovány v impaktovaných časopisech. Výsledky jsou přínosem pro základní výzkum a slibují aplikační výstupy využitelné v klinické medicíně. Autor prokázal značnou metodickou i teoretickou erudici a je zřejmé, že je schopen samostatné vědecké práce. Proto navrhuji, aby práce byla přijata jako podklad pro udělení vědecké hodnosti PhD.

Prof. MUDr. Ludmila Prokešová, CSc.

V Praze 16. června 1915