



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
1. lékařská fakulta

ÚSTAV IMUNOLOGIE A MIKROBIOLOGIE
Studničkova 7, 128 00 Praha 2
Česká Republika

Oponentský posudek diplomové práce Jaroslava Goliáše

Charakterizace a identifikace pšeničných alergenů z potravin obsahujících pšenici

Práce se zabývá velmi aktuálním tématem alergií, které představují čím dále větší zdravotnický i společenský problém. Úroveň práce odráží dosavadní zkušenosti, výsledky a mezinárodní renomé školícího pracoviště. Náplní práce je studium alergenů pšenice, která patří mezi nejčastější původce potravinových alergií. Řada rozpustných alergenů získaných extrakcí ze syrové pšeničné mouky byla již popsána, ale lidský organismus není zpravidla alergizován moukou, ale různými produkty připravenými z mouky vařením nebo pečením. Kromě toho jsou antigeny pšenice, dříve než sensibilizují organismus, modifikovány trávicími enzymy. Jako alergeny se tedy v praxi uplatňují produkty pšenice po tepelném a enzymatickém působení. Předložená práce doplňuje mezeru ve znalosti těchto nově vznikajících alergenů tím, že studuje a srovnává rozpustné i nerozpustné alergeny ze syrového těsta, těsta tepelně zpracovaného a z enzymaticky natrávených pekárenských produktů.

Práce má velmi jasnou a promyšlenou koncepci a splňuje všechny vytčené cíle. Literární úvod pojednává o mechanismech vzniku alergie, o její diagnostice a léčení se zvláštním zřetelem na potravinovou alergii a pšenici jako alergen. Dobrou orientaci autora v oboru odráží rozsáhlý seznam literatury.

Metodická část je přehledně zpracována. Použité metody jsou adekvátní a odpovídají současným moderním možnostem. Autor zvládl různé způsoby přípravy a opracování alergenů, náročné elektroforetické a imunoenzymatické metody a přípravu vzorků pro hmotnostní spektrometrii. Metody jsou dobře a podrobně popsány. Jasnější by měl být pouze popis chemiluminiscence používané k detekci při western blotu. Slovo chemiluminiscence se vyskytuje jen ve vysvětlení zkratk. Významnost jednotlivých charakterizovaných složek pšenice pro rozvoj alergie byla testována pomocí sér alergiků na základě spolupráce s klinickým pracovištěm.

Výsledky přinášejí některé poznatky, které mají zásadní praktický význam. Byly prokázány změny ve spektru alergenů pšenice po tepelném a chemickém opracování (změny

ve spektru molekul, v jejich velikosti a rozpustnosti). To by mohlo vést k optimalizaci přípravy a volby alergenů používaných ke klinickému průkazu alergií a k optimalizaci dietních opatření. Prioritní význam má průkaz a charakterizace některých nových alergenů hmotnostní spektrometrií. Výsledky jsou komentovány v diskusi a shrnuty v závěrech. Domnívám se, že by závěry měly být trochu konkrétnější a měly by více zdůrazňovat významné výsledky.

Práce je pečlivě formálně provedena a vhodně dokumentována obrázky a tabulkami.

Ráda bych položila autorovi následující otázky:

- 1) K testování alergenicity složek mouky byla použita séra „z krve pacientů, kteří trpí alergickými nemocemi“. Chápu to tak, že šlo nejen o pacienty s alergií proti pšenici. Ráda bych věděla, zda u některých pacientů, u kterých na klinickém pracovišti nebyla alergie proti pšenici prokázána, byla autorem zjištěna reaktivita IgE s některými ze složek tepelně nebo enzymaticky opracovaných pšeničných produktů. Dokazovalo by to nevhodnost nebo nedostatečnost dosud rutinně používaných testovacích alergenů.
- 2) Byla bych ráda, kdyby autor přesněji objasnil, které bílkoviny pšenice byly dosud prokázány jako alergeny (a zda byly prokázány pouze v rozpustných složkách syrové mouky) a které byly na pracovišti nově popsány. Přivítala bych stručné shrnutí, protože nacházím určité nejasnosti a diskrepance mezi výsledky a diskusí.

Závěr

Předložená diplomová práce je kvalitní a naprosto splňuje požadavky kladené na diplomovou práci. Přináší některé původní a prakticky využitelné výsledky, svědčí o metodické zdatnosti autora a o jeho schopnosti orientovat se v literatuře, cílevědomě experimentálně pracovat a hodnotit své výsledky. Doporučuji přijetí práce k obhajobě.



Prof. MUDr. Ludmila Prokešová, CSc.

V Praze 17. 5. 2010