

Posudek dizertační práce „Imunologické vlastnosti pupečníkové krve u dětí se zvýšeným rizikem vzniku alergie. Preventivní použití probiotik,“ autora RNDr. Jiřího Hrdého z 1. LF UK v Praze

Předložená dizertační práce má tradiční členění. Dominuje v ní obsáhlý úvod (41 stránek, 232 citací) popisující buněčnou imunitu a funkce Th1, Th2, DC, T reg, autor se dále věnuje vývoji imunitního systému u plodu od narození po druhý rok života, rozlišuje mateřský a fetální chimerismus, úlohu HLA-G molekuly, popisuje kvalitu lidského kolostra a mléka, definuje typy alergií, zabývá se i léčbou a historií užívání probiotik.

V dizertační práci pak pokračují závěry, členění pro čtenáře trochu nešťastné, neboť kvalitní publikace, kterých se závěry týkají, jsou přiložené až za citacemi úvodu.

#### K publikaci 1

Autor se spolupracovníky prokázal u novorozenců alergických matek snížení Th1: IL-2, INF-gama, zvýšení Th2:IL-13, významně zvýšenou buněčnou aktivitu cytokinové rodiny IL-12 a významně zvýšenou in vitro proliferaci nestimulovaných a polyklonálně stimulovaných pupečnickových buněk (CBMC). **Otázka** k této publikaci: Publikace vyšla v r. 2007, předpokládám, že 16 dětí alergických maminek a 17 dětí maminek zdravých jsou dnes zhruba 5-6 let staré, s plně vyvinutým, funkčním imunitním systémem. Studoval autor či jiný spoluautor dále anamnézu a imunologické profily či funkční aktivity PBMC, alergenovou senzibilizaci a rozvoj event. alergií u těchto dětí? Jedná se o sledování dětí a jejich Tregs v přiložené publikaci 7?

#### K publikaci 2

Už v citaci z roku 1970 „Development of faecal immunoglobulins and coproantibodies in infants after artificial oral colonization with *E. coli* 083“ Autorů: Lodinová R, Wagner V. *Experientia*. 1970;26(2):188, se sice vědělo o příznivém účinku, ale vlastně nic o Treg buňkách. Z organizačního i dále laboratorního zpracování biologického materiálu se jedná o mimořádně náročnou studii. Vakcinace Colinfantem, kmenem *E.coli* (českým patentem z r. 1992, registrovaným v r. 1997) je prokazatelně u dětí nejen alergických matek účinná.

**Otázka** k této problematice sahající k dospělým: Který z těchto dnes komerčních preparátů u nás jako **Mutaflor**, **Lacidofil**, **Enterol**, (**Colinfant new born-určený jen pro novorozence**) by nejlépe ochránil svými imunizačními vlastnostmi cestovatele před „faraónovou nemocí“?

#### K publikaci 3 (Cytokine Expression in Cord Blood Cells of Children of Healthy and Allergic Mothers)

Autoři zjistili významné snížení EGF (epidermal growth factor) u novorozenců alergických matek. Tým pak uvažuje o možném negativním ovlivnění uzrávání slizničních membrán i tím i funkce slizniční imunity a vystavení snadnější alergizaci dětí.

**Komentář:** Jedná se o pěknou experimentální práci s hmatatelnými výsledky celé řady cytokinů.

#### **K publikaci 4**

Další předložená práce z oblasti sekreční imunity popisuje cytokinovou expresi kolostrálních buněk u zdravých a alergických šestinedělek.

**Otázka:** Zajímalo by mne, zda aktivace imunokompetentních buněk není negativně ovlivněna poporodním hormonálním „propadem“, zda tato situace nemůže ovlivnit právě i kolostrální buňky? Většina alergických onemocnění popisovaných v anamnéze žen se během gravidity výrazně zlepšuje (zkušenost)- Přijímání kolostra novorozencem je velmi krátkodobá záležitost, je otázka, zda jeho imunologické vlastnosti v podobě Th2 odpovědi mohou nějak výrazněji zasáhnout do nezralého imunitního systému novorozence.

#### **K publikaci 5**

Velmi pěkná práce opět s využitím průtokové cytometrie, izolací myeloidních dendritických buněk z krve pupečnicků k dalším experimentům buněčné imunity. „Anatomie“ pak získaných cytokinů se snaží vysvětlit rozdíly mezi výsledky alergických a zdravých jedinců. Hypotetický závěr nelze jinak prokázat.

#### **K publikaci 6**

Zajímavý je i pohled na Tregs v pupečnickové krvi novorozenců matek zdravých a matek alergiček. Funkčnost Tregs je nižší, ale počet větší v pupečnickové krvi novorozenců maminek s alergií--- Nemohou být Tregs ovlivněny i léčbou matky s alergií (např. maminka se základní alergologickou diagnózou je na kortikoidech do porodu, užívá antihistaminika nebo dostává jiné léky – třeba uterotonika, nebo během císařského řezu analgetika, anestetika...apod.). Je amnesticky i tato část dobře zohledněna?

#### **K publikaci 7**

Účinek probiotické vakcíny Colinfant byl sledován u 6-7 letých dětí dříve imunizovaných dle konvenčního protokolu narozených vaginálním porodem jak u žen zdravých, tak alergických. Autoři provedli imunologickou charakteristiku velmi heterogenní populace buněk, Tregs. Závěry této práce jsou změkčeny neočekávaným výsledkem u dětí alergických matek. Myslím si, že větší význam je v tom, že právě tyto sledované děti jsou zdravé, bez klinických příznaků alergie.

Otázka pro všechny práce: Jednalo se stále o stejný biologický materiál jako v předchozích pracích? Nebo byly soubory novorozenců a matek aktualizovány? Počty se v jednotlivých publikacích se trochu liší - grantová podpora téměř stejná. Byla mezi z hlediska alergie zdravými i alergickými matkami diagnóza operační porod ( např. porod císařským řezem, ale i

jiné komplikace spojené s porodem), nebo byly v souborech matek odebírány krve pouze ze samovolných, vaginálních porodů (uvedeno v poslední publikaci)?

Soubor prací „Imunologické vlastnosti pupečnickové krve u dětí se zvýšeným rizikem vzniku alergie. Preventivní použití probiotik,“ autora RNDr. Jiřího Hrdého z 1. LF UK v Praze patří mezi velmi kvalitní výzkum s aplikací do praxe, hmatatelně uvedeno. Téma je vysoce aktuální, postupy jsou logické a použití metod velmi moderní. Dílo je psané v pěkné angličtině, ale proč? Obhajoba dizertace probíhá v českém prostředí, nebo autor bude obhajovat na české Karlově Universitě v angličtině z důvodu např. dalšího zahraničního oponenta?

K souboru prací „Imunologické vlastnosti pupečnickové krve u dětí se zvýšeným rizikem vzniku alergie. Preventivní použití probiotik,“ nemám závažných připomínek.

Uchazeč RNDr. Jiří Hrdý jednoznačně prokázal, že umí kvalitně vědecky samostatně pracovat. Doporučuji komisi oborové rady doktorského studijního programu imunologie na 1.LF UK udělení panu RNDr. Jiří Hrdému titul PhD.

V Plzni, 5.8.2012

Prof. MUDr. Zdenka Ulčová-Gallová, DrSc.

