



Laboratoř buněčné a molekulární imunologie

Vedoucí: RNDr. Martin Bilej, DrSc.

Videňská 1083

142 20 Praha 4

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Jany Kayserové

Studentka doktorského studijního programu v biomedicině, oboru imunologie MUDr. Jana Kayserová vypracovala disertační práci „Poruchy regulace imunity – alergie a autoimunitní onemocnění“ pod vedením školitelky Prof. MUDr. Anny Šedivé, DrSc. v Ústavu imunologie 2.Lékařské fakulty University Karlovy v Praze. Toto pracoviště klinické imunologie se dlouhodobě a na vysoké odborné úrovni věnuje studiu alergických i autoimunitních onemocnění. Předkládaná práce zahrnuje oba tematické okruhy a to studium pacientů s atopickou dermatitidou (AD) - zaměřené na genetický polymorfismus genů pro cytokiny, přítomnost volných L řetězců Ig v sérech ve vztahu k průběhu onemocnění a charakteristiku dendritických buněk u pacientů s bronchiálním astmatem; a dále studium autoimunitního onemocnění - diabetu 1. typu (T1D) presentované jako jedinečnou kasuistiku o nástupu T1D u jednovaječných čtyřčat a přehledný článek uvádějící společné a odlišné znaky obou typů onemocnění postihujících imunitní systém.

Výsledky práce jsou shrnuty do 5 hlavních publikací a krátkého sdělení, které byly spolu s přehledným článkem uveřejněny v mezinárodních časopisech (s IF= 1,489 - 9,773). Jana Kayserová je první autorkou u tří publikací, kterým se budu podrobněji věnovat.

Za významnou považuji dlouhodobou studii souboru 94 dětí s těžkou formou AD, u kterého autoři podrobně mapovali asociaci onemocnění s polymorfismem genů pro cytokiny a jejich receptory. Nalezli 7 SNP u cytokinů IL-4, IL-6 a IL-10 a TNF- α AA a IL-4 GC haplotypy asociované s AD. Zjistili statisticky významnou vazbu polymorfismu IL-4 s nárůstem specifického IgE proti pylům stromů a polymorfismu IL-10 s rozvojem alergické rhinitidy během dětství. Uvedené dva znaky by mohly být užity při predikcích vývoje změn klinické manifestace onemocnění dětí s AD. Tato studie pokračuje i nadále s rozšiřováním metodických přístupů i aspektů hodnocení.

Součástí disertační práce je i stanovení hladiny volných lehkých řetězců imunoglobulinů (FLC) kapa i lambda v séru dětských pacientů s AD. Nárůst FLC nebyl vázán na věk pacienta ani

na hladinu celkového IgE. Zvýšení FLC v séru zejména u pacientů těžkou generalizovanou formou AD by mohl dle autorů představovat doplňující diagnostický znak této formy onemocnění.

Třetí ze souboru prací se věnuje podrobné analýze subpopulací dendritických buněk (DC) v krvi a bronchoalveolární laváži (BAL) pacientů s respiračními alergiemi. U buněk z obou zdrojů prokázali 4 subpopulace mDC dle přítomnosti znaků CD16+/-, BDC-1 a BDC-3 a subpopulaci pDC. Dále sledovali přítomnost membránových receptorů C lektinového-typu: manosového receptoru (MR), DC-SIGN a receptoru epitelových a dendritických buněk - DEC-205. Zajímavý a zcela původní je nález zvýšené exprese manosového receptoru a receptoru BDCA-3 jak na CD16+ tak i CD16- mDC v BAL alergických pacientů. BDCA-3+ /MR + buňky tvoří významnou populaci u pacientů s respirační alergií a mohou hrát i důležitou úlohu v patogeneze tohoto onemocnění .

Předložená práce má klasické členění, obsahuje rozsáhlý, přehledně zpracovaný literární úvod, který shrnuje poznatky o patogenezi studovaných onemocnění, zejména vlivu genetických faktorů a úloze jednotlivých buněčných populací a membránových receptorů. Následují jasně definované cíle práce a krátká metodická část. Výsledky a diskuse jsou psány společně, obsahují krátký úvod do problematiky, popis a hodnocení výsledků a jejich začlenění do současných znalostí v oboru, pak následují jednotlivé publikace. Presentované práce jsou příkladem kvalitního výzkumu v oblasti klinické imunologie a dokládají aktivní zapojení autorky v realizovaných projektech, vědeckém směřování a spolupráci celé pracovní skupiny. Závěr je krátkou rekapitulací hlavních výsledků a následuje rozsáhlý seznam použité literatury, který dokumentuje intenzivní studium současných poznatků v oboru klinické imunologie.

Práce obsahuje minimum překlepů a nepřesností, avšak v Obsahu není uveden přesný rozsah stran, dále pro lepší orientaci v textu by obrázky (včetně obrázku 4) mohly být důkladněji popsány, v Autoreferátu je nejednotnost citací vlastních prací apod.

Po přečtení předložené práce mám několik komentářů a dotazů k autorce, zde uvádím některé z nich:

- 1) Domnívám se, že v Úvodu by bylo zajímavé kromě DC také krátce zmínit váš názor na účast dalších buněk přirozené imunity v alergické reakci (Saito H Allerg Int 62:3, 2013, Nakae S 62:13,2013).
- 2) Pro stručnost Metodické části není zcela jasné, které z metodik autorka samostatně prováděla. Především jaká byla její účast při studiu SNP v genech pro cytokiny a hodnocení jejich významu.

Nárůst FLC séru byl popsán u pacientů se zánětlivými, alergickými a autoimunitními chorobami, včetně se systémového lupus erythematoses, revmatoidní artritidy, atopické dermatitidy, potravinové alergie, chronické obstruktivní plicní choroby, idiopatické pulmonální fibrosy a roztroušené sklerozy, u kterých je sledována hladina FLC v korelaci s prognózou onemocnění. Je známo, že FLC interagují s membránami různých buněk (žírných, neutrofilů, monocytů..) a vykazují řadu biologických aktivit (inhibice apoptosy neutrofilů, indukce IL-8, indukce degranulace žírných buněk, inhibice virové replikace a další, Brebner JA 2013, Braber S 2012).

- 3) Jaká by mohla být úloha FLC v patogenezi těchto onemocnění? Lze očekávat specifický receptor na různých buňkách? Může se uplatnit vliv Ag-specifity FLC v patogenezi těchto onemocnění? Zajímavé by bylo i srovnání vašich výsledků s daty Schotena a spol. (J Allerg Clin Immun 2010;25:1308-14) týkající se L řetězců a IgE alergie na mléčné proteiny.
- 4) Jaké jsou kvantitativní rozdíly v hladinách FLC u jednotlivých onemocnění, když bereme v úvahu značné individuální rozdíly u zdravé populace? U kterých onemocnění byl popsán léčebný účinek inhibičního peptidu F991?
- 5) V publikaci uvádíte větší rozptyl hodnot pro kapa FLC, čím se dá vysvětlit?
- 6) K práci o subpopulacích DC, jaké alergeny jsou zachyceny DC prostřednictvím C-typu lektinů? Jaké mají společné strukturální znaky?

Disertační práce Jany Kayserové je sepsána jasně a přehledně. Obsahuje řadu původních výsledků, které jsou příkladem velmi kvalitního klinického výzkumu v oboru imunologie. Experimentální i přehledné práce, kde autorka zúročila intenzivní studium odborné literatury, byly publikovány v renomovaných odborných časopisech.

Závěrem lze shrnout, že předložená práce je kvalitní a splňuje veškeré požadavky kladené na doktorskou disertační práci. Doporučuji ji k přijetí do oponentního řízení pro získání vědecké hodnosti PhD.

Praze dne 30.7.2013

Doc. RNDr. Ludmila Tučková, DrSc.

Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha