

## Posudek na disertační práci

### *Analýza senzibilizace na molekulární komponenty stanovené multiplexním systémem Immucap ISAC u pacientů s atopickou dermatitidou*

autorka: Mgr. Radka Vaňková

Téma práce je velmi aktuální, výskyt alergických onemocnění je ve většině civilizovaných zemí na vzestupu a v případě atopické dermatitidy významně zhoršuje kvalitu života pacientů. Identifikace alergenů, proti kterým je zaměřena nadměrná imunitní reaktivita, je důležitá pro případné eliminační léčebné přístupy. Disertační práce má 163 stran, její struktura práce je logická a přehledná, po formální stránce je kvalitní, literární úvod obsahuje 154 citací, převážně originálních článků v kvalitních mezinárodních časopisech, metodiky jsou popsány adekvátně.

V úvodní části jsou nejdříve popsány imunopatogenetické faktory podmiňující vznik atopické dermatitidy. V případě genetické predispozice jsou to zejména polymorfismy genů souvisejících s bariérovou funkcí kůže (filagrin, involucrin, lorikrin, SPINK5) a mutace v genech souvisejících s imunitní odpovědí (Toll-like receptory, řada cytokinů a chemokinů), uplatní se i změny epigenetické. Vlivem těchto vrozených faktorů současně se vnějšími faktory pak dochází k abnormalitám v bariérové funkci kůže a k lipidové dysbalanci, cytokinový profil se polarizuje směrem k Th2 fenotypu, případně se uplatní i Th17 nebo Th22 lymfocyty. V etiopatogenezi atopické dermatitidy hrají nejspíš důležitou roli i změny střevního a kožního mikrobiomu.

Další část literárního úvodu je již věnována diagnostice atopické dermatitidy, kde se po klinických aspektech autorka zaměřila na laboratorní vyšetření a zejména na stanovení specifických IgE protilátek. Zde jsou čím dál více využívány multiplexové metody s využitím mikročipů, tzv. molekulární komponentová diagnostika. Popsány jsou principy obou systémů, které se u nás v současnosti využívají, ImmunoCap ISAC, který autorka v práci využívá, a alternativní systém ALEX. Důležitou částí literárního úvodu je klasifikace molekulárně definovaných potravinových alergenů a jejich vymezení jejich významu v případě alergie na sóju, kravské mléko, vejce, lískové a vlašské ořechy, arašidy, ryby, měkkýše, koryše a pšeničnou mouku.

Cílem práce bylo analyzovat pomocí multiplexové metody ImmunoCAP ISAC senzibilizaci na inhalační a potravinové alergeny u pacientů s atopickou dermatitidou. Výsledky byly prezentovány jako soubor komentovaných publikací, z celkového počtu 12 článků (11 původních a jeden přehledový) jsou v příloze uvedeny plné texty jen 4 hlavních publikací.

Výsledky ukazují u pacientů s atopickou dermatitidou relativně vysoké zastoupení senzibilizací na komponenty plísní korelující s reaktivitou na některé potravinové a inhalační alergeny. Dále byl potvrzen vztah mezi závažností atopické dermatitidy a

hladinou specifického IgE proti jednotlivým molekulárním komponentám. U pacientů s těžkou formou se častěji vyskytovala reaktivita na některé zvířecí alergen. Při studiu inhalačních alergenů byla u pacientů s atopickou dermatidou nejčastěji zjištěna senzibilizace na pyl břízy, bojínku, alergen roztočů a zvířecího epitelu. Skoro u třetiny pacientů s atopickou dermatidou byla zjištěna senzibilizace na některou z molekulárních komponent arašídů. Relativně často se vyskytovala také alergie na jablko, broskev a celer, vázaná na senzibilizaci alergenem Betv1, většina trpěla kromě orálního alergického syndromu také pruritem. Byly zjištěny rozdíly ve spektru alergenů pacientů s atopickou dermatidou a astmatem oproti těm, kteří měli zároveň alergickou rýmu. Pomocí klastrové analýzy bylo vyhodnoceno celkem 10 klastřů, jedinečné postavení mají zejména komponenty bojínku (rPhl p1), břízy (Bet v1) a plísně (rAlt a1), které se nevyskytují v ostatních klastrech. U pacientů s alergií na ryby a zároveň na korýše byl zaznamenán vyšší výskyt senzibilizace na plísně. Čtvrtina pacientů s atopickou dermatidou byla alergická na lískový ořech, zjištěny byly i reaktivity na vlašský ořech. S využitím metody ALEX bylo prokázáno, že senzibilizace na některé molekulární komponenty plísní koreluje se závažností atopické dermatitidy a mohou být asociovány s výskytem bronchiálního astmatu nebo alergické rýmy. V následující práci byla tato závislost zjištěna i v případě řady dalších inhalačních a potravinových alergenů. Vysoká hladina specifického IgE proti 18 molekulárním komponentám byla prokázána u 75% pacientů s atopickou dermatidou.

Ke kvalitní disertační práci po stránce obsahové a formální nemám závažné připomínky, potvrdila přednosti nových mikročipových multiplexových metod ke studiu senzibilizace na inhalační i potravinové alergen a přínos pro sledování a léčbu pacientů s alergickou dermatidou.

Dotazy:

1. Ve shrnutí první práce, která není přiložena je uvedena závislost mezi senzibilizací na plísně a na některé potravinové alergen ze skupiny PR-10 (lískový ořech, jablko, kiwi, broskev, celer), očekával bych v tomto případě též senzibilizaci na břízu (Bet v1), která však není uvedena. Máte pro to nějaké vysvětlení?
2. Zajímavé je zjištění, že se spektrum alergenů liší mezi pacienty s atopickou dermatidou, kteří mají zároveň i astma oproti těm, kteří mají přidruženou alergickou rýmu. Je známo, jestli existuje takový rozdíl mezi astmatiky a polinotiky bez atopické dermatitidy?
3. Jaké jsou z Vašeho pohledu výhody a nevýhody Vámi využívaných multiplexových metod (ImmunoCAP ISAC v.s. ALEX)?

**Závěr:** Z výše uvedeného posudku vyplývá, že předložená disertační práce je kvalitní po obsahové i formální stránce, splnila stanovené cíle a svými výsledky přinesla nové poznatky. Mgr. Radka Vaňková osvědčila, že má hluboké znalosti v oboru, je schopna

samostatně vědecky pracovat a ovládá metody k úspěšnému pokračování ve své vědecké činnosti. Dizertační práce splňuje požadavky stanovené dle § 47 zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb., a proto ji **doporučuji k obhajobě.**

V Praze 19.8. 2021

prof. MUDr. MUDr. Ilja Stříž, CSc.

Pracoviště klinické a transplantační imunologie

Institut Klinické a Experimentální Medicíny

Praha, Česká Republika