



POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI MUDr. Anny Grohové

Imunoterapie diabetu 1. typu pomocí tolerogenních dendritických buněk

Předložená dizertační práce je příspěvkem k možné buněčné terapii autoimunitních onemocnění pomocí tolerogenních/regulačních populací diferencovaných z myeloidní hematopoetické dráhy – konkrétně tzv. tolerogenních dendritických buněk tDC a myeloidních supresivních buněk (MDSC). Práce se konkrétně zabývá výše zmíněným ve vztahu k významnému autoimunitnímu onemocnění – diabetu 1. typu (T1D), jehož nikoliv symptomatická, ale pokud možno co skutečně uzdravující léčba je velkou výzvou současné biomedicíny.

Práce je sepsána česky ve formátu *in extenso*, na cca 30 stranách zpracovává úvod do studované problematiky se zaměřením různé aspekty epidemiologie, etiologie či patogenese T1D, včetně možností terapie. V této části jsou tematizovány i tolerogenní dendritické buňky, či MDSC. Cíle práce se v kontextu publikační aktivity zaměřují logicky na využití obou typů zmíněných imunoregulačních buněk. Příslušné metodiky jsou zpracovány na 10 stranách a poskytují ucelený pohled na využití metodické přístupy. *Zde by mne zajímalo, které metody si autorka sama aktivně osvojila a aktivně při svém výzkumu využívala.* Značnou část práce (téměř 40 stran) zahrnuje výsledková část rekapitulující v podstatě publikovaná data – bohatá obrazová dokumentace ve formě grafů je převzata z publikací. *I zde by mne zajímalo, zda se v tomto případě jedná o extrakce autorčina konkrétního osobního příspěvku.* Další cca 10 stran se věnuje diskutování získaných experimentálních dat, zajímavým a komplexním způsobem. Tato část ukazuje na to, že předložená dizertační práce je, až zaměřena na dva možné terapeuticky relevantní buněčné systémy, v podstatě monotematická a koncísí.

Práce je podložena publikačními výstupy, které jsou v plnotextové formě součástí dizertační práce. Konkrétně se jedná o publikaci věnovanou charakterizaci signálních drah a metabolické aktivity tolerogenních dendritických buněk v prozánětlivém prostředí v časopise *Oncotarget* (Anna Grohová druhá autorka). Další, velice zajímavá druhoautorská práce vpublikovaná v časopise *Journal of Immunology* se věnuje problematice tolerogenních dendritických buněk připravených z pacientů se špatně kompenzovaným T1D, které evidentně vykazují sníženou tolerogenní aktivitu v příslušných využitých esejích. Třetí experimentální práce, tentokrát prvoautorská, se věnuje MDSC u diabetických pacientů, která je zde expandovaná se zajímavými různorodými supresivními mechanismy (*PLOS ONE*). Součástí předložené dizertační práce jsou i dva přehledové články věnující se výše zmíněné problematice – oba prvoautorské (Česko-slovenská pediatrie a druhý věnovaný hlavně kontextu s hyperglykemií ve *Frontiers in Immunology*). Z výše zmíněného je evidentní, že publikační výstup autorky je odpovídající nárokům kladeným na aktivitu studentů doktorského studia Biomedicíny na UK, včetně konkrétního studovaného programu – Imunologie.

Co se týká stylu psaní a formální stránky, měl bych k textu celou řadu připomínek – a to na téma srozumitelnosti některých pasáží a využití větné stavby. Může se zde však jednat o osobní sémantický názor. Důležitá je obsahová část, ke které mám celou řadu dotazů:

1. První dotaz se týká hned abstraktu, ale příslušný fakt je v mnoha variacích součástí celé práce. MDSC jsou expandovány u pacientů s T1D, přičemž je toto onemocnění evidentně



autoimunitní povahy. Regulační aktivita MDSC ale by v tomto ohledu měla být obecně imunopresivní, prosím vysvětlíte tento možný rozpor, i s ohledem na možné využití terapeutických regulačních buněčných populací.

- Existují publikace, které jako hlavní příčinu diabetu 1. typu nepřisuzují autoimunitní reakci, ale patogenetický mechanismus hledají přímo v patologii beta buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. Jaký je váš názor? Dochází při T1D (kdy dramaticky klesá produkce inzulínu) i k odpovídající destrukci beta buněčné populace?
- Jako jeden z možných patogenetických mechanismů jsou zmiňovány pankreatotropické virové infekce, jako možné spouštěče autoimunitní reakce. V práci se této možnosti věnujete velice okrajově. Je tato „virocentrická“ hypotéza stále aktuální, nebo je, jak se zdá z práce v podstatě upuštěna? Pokud by alespoň pro část pacientů byla relevantní – bylo by to zřejmě podstatné i pro příslušný imunofenotyp pacientů a důležitost terapeutické stratifikace.
- V práci jsou zmiňovány autoantigeny spojené s patogenezí T1D. Zajímalo by mne, zda některé z nich jsou součástí centrální tolerance v brzlíku, konkrétně, zda je jejich exprese regulovaná AIRE v epiteliálních buňkách thymu. A ještě obecněji, existuje nějaká souvislost patogeneze T1D s nedostatečností centrálních tolerogenních mechanismů, nebo dochází k prolomení periferní tolerance? Je výskyt T1D součástí patologií spojených s autoimunitním syndromem APECED?
- Na straně 17 píšete, že „Tkáňové makrofágy a dendritické buňky v Langerhansových ostrůvcích rozpoznávají DAMPS na poškozených beta buňkách díky svým Toll-like receptorům“. Je toto konstatování přesné?
- Co se týká diabetogenních mechanismů. Kromě beta buněk jsou s nimi v těsném kontaktu v Langerhansových ostrůvcích alfa buňky produkující glukagon. Jsou i tyto buňky s unikátním sekrečním profilem zahrnuty do autoimunitních reakcí? Podílí se glukagon nějakým způsobem na patogenezi/kompensaci glykemického nastavení?
- Na straně 33 píšete, že „další specializované typy DC jsou např. Langerhansovy buňky v kůži“ – je toto konstatování zcela správné?
- Ve své práci jste, pokud jsem to dobře pochopil, poměrně skeptická k možnostem transplantace pankreatických ostrůvků. Jaký je váš názor na možné využití pankreatických autologních organoidů připravených např. z indukovaných pluripotentních kmenových buněk? A to hlavně s ohledem na v těle existující autoimunitní nastavení.

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená dizertační práce je zajímavým příspěvkem k důležitému biomedicínskému tématu a splňuje požadavky kladené na kvalifikační práce doktorského studia v Biomedicíně/DSP Imunologie. Práci doporučuji přijmout k obhajobě.