

Posudek na diplomovou práci Ivy Němečkové

VROZENÁ IMUNITA A CIRKULUJÍCÍ MONOCYTY – VÝZNAM A FUNKCE V PATOGENEZI CELIAKIE

Katedra antropologie a genetiky člověka, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze
Školitel: RNDr. Pavlína Čejková, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce je součástí širšího projektu zabývajícího se významem cytokinu prolaktinu a mechanismů přirozeného imunitního systému v rozvoji či průběhu autoimunitních onemocnění se zvláštním důrazem na celiakii.

Cílem diplomové práce bylo pomocí níže uvedených kroků rozšířit znalosti o roli vrozené imunity a cirkulujících monocytů v patogenezi celiakie:

1. Stanovit fyziologické hladiny PRL mRNA v cirkulujících monocytech a porovnat je s hladinami exprese u pacientů s celiakií recentní i neaktivní, tedy dodržujícími bezlepkovou dietu (déle než dva roky);
2. Určit, zda potenciální rozdíly v expresi PRL mRNA mohou souviset s funkčním SNP - 1149 G/T a nalézt případné asociace tohoto polymorfismu se sledovanými klinickými parametry;
3. Změřit u zdravých kontrol na úrovni mRNA fyziologické hladiny TLR2, TLR4 a TLR7, které jsou významnou součástí mechanismů přirozené imunity, porovnat je s mírou exprese u pacientů s celiakií a zjistit tak, zda se Toll-like receptory na monocytech v periferní krvi mohou účastnit autoimunitních procesů v celiakii;
4. Určit relativní monocytární hladiny mRNA vybraných zánětlivých a protizánětlivých cytokinů (TNF- α , IL-6, IL-10, IL-12), porovnat je s hladinami exprese u pacientů s celiakií; odhalit, zda existují rozdíly v expresi mRNA studovaných cytokinů a toll-like receptorů mezi pacienty s aktivní a neaktivní celiakií;
5. Optimalizovat metody *in vitro* kultivace a stimulace periferních monocytů

Část práce zabývající se přímým stanovením hladin mRNA některých TLR receptorů, cytokinů a prolaktinu v monocytech pacientů s recentním záchytem či neaktivní celiakií a zdravých jedinců – dárců krve TO FNKV, potvrdila některé dříve publikované, ovšem doposud ne příliš uspokojivě vysvětlené nálezy nejen u celiakie, ale i u dalšího autoimunitního onemocnění, diabetu (viz také naše dosud nepublikovaná pozorování). Oproti tomu zcela v rozporu s dostupnou literaturou byly nálezy (relativně) vysokých hladin prozánětlivých cytokinů u zdravých kontrol ve srovnání s pacienty. Zatím se zdá, že tento jev by mohl poukazovat na možnost falešně pozitivních, resp. negativních výsledků získaných v závislosti na typu odběrové zkumavky, příp. rychlosti zpracování vzorku zdravých kontrol po odběru. Tato hypotéza bude v nejbližších dnech testována. Pokud by se potvrdila, nález by měl závažné důsledky stran věrohodnosti některých publikovaných dat.

Nejobtížnějším úkolem předkládané DP bylo zavedení metod *in vitro* pro studium funkce monocytů v patogenezi celiakie. Tomuto cíli se diplomantka intenzivně věnovala po

celou dobu svého magisterského studia, přesto se tento bod, jehož smyslem bylo vytvoření optimálního a funkčního systému, který by posloužil např. ke studiu vlivu exogenního PRL, splnit nepodařilo. Některé z kroků optimalizace jsou popsány v diplomové práci, kde je tak dobře patrné množství technik a metod, které si studentka musela osvojit. Důvodem neúspěchu vytvoření optimálního systému pro budoucí *in vitro* kultivace a stimulace imunitních buněk ve stanoveném termínu však není nedbalá práce diplomantky, nýbrž – jak se postupně ukázalo – ne příliš šťastné nastavení experimentu.

Studentka Iva Němečková pracovala intenzivně, ochotně se zapojovala do časově náročných experimentů (2 x 24hodinová kultivace buněk), aktivně přistupovala k hledání možných vysvětlení pro námi pozorované jevy, konzultovala, účastnila se náboru pacientů pro naši studii, samostatně připravila prezentaci pilotních dat (exprese toll-like receptorů v periferních monocytech pacientů s celiakií) formou posteru pro 8. Mezinárodní autoimunitní kongres, kde svá data aktivně diskutovala. V neposlední řadě je třeba vyzdvihnout její neutuchající optimismus a vytrvalost.

Přestože cíle stanovené v diplomové práci nebyly v celém rozsahu splněny, získaná data a výsledky posouvají výzkum projektu objasňujícího úlohu PRL a nespecifické imunity v patogenezi autoimunitních chorob a zejména celiakie kupředu a diplomovou práci proto doporučuji k obhajobě. Na základě všech výše faktů navrhuji předkládanou diplomovou práci po úspěšné obhajobě ohodnotit stupněm **velmi dobře**.

V Praze dne 31.8.2012

RNDr. Pavlína Čejková
školitel