

ABSTRAKT

Revmatoidní artritida, jakožto jedno z nejčtenějších autoimunitních onemocnění vůbec, představuje celosvětový problém. Navzdory častému výskytu této choroby nebyla její patogeneze dosud zcela objasněna. Revmatického procesu se účastní řada imunitních buněk od antigen-prezentujících buněk po T, B a NK buňky. V této práci jsme se zaměřili na NK buňky exprimující repertoár aktivačních a inhibičních receptorů, které ovlivňují jejich funkci ve zdraví i nemoci. Zaměřili jsme se na analýzu funkce NK buněk a popsali možnosti její modulace revmatickými autoantigeny a multivalentními glykodendrimery nesoucími 4 (GN4C) nebo 8 (GN8P) N-acetyl-glukosaminových skupin. Jejich efekt na NK buňky a glykosylační dráhy byl studován *in vitro*. *In vivo* studie provedená na kolagenem-indukované artritidě (CIA) – myším modelu RA – byla provedena ke zjištění efektu těchto látek na rozvoj klinických příznaků choroby a vybrané imunitní parametry.

Srovnání NK-buněčné cytotoxicity u pacientů s RA, dalšími zánětlivými onemocněními a u zdravých dárců prokázalo její poškození především právě u pacientů s RA. NK buňky periferní krve reagovaly na glykokonjugát GN8P inhibicí své efektorové funkce u vzorků s vysokou expresí CD161. Exprese mRNA pro glykosyltransferázu MGAT5 byla zvýšena v synoviocytech pacientů, ale ne v periferní krvi, což naznačuje vliv aberantní glykosylace na autoimunitní procesy. Dále jsme zjistili, že NK buňky reagují na autoantigen MCV specifický pro RA zvýšenou expresí CD161, a to ve vzorcích krve zdravých dárců, ale ne v krvi pacientů s RA, kde byl tento parametr již zvýšen v důsledku probíhající nemoci. NK buňky jsou navíc schopny exprimovat citrulinační enzym PAD4, což ukazuje na jejich možnou roli v citrulinačních procesech vedoucích k produkci autoantigenů specifických pro RA.

Glykokonjugát GN4C byl použit v *in vitro* studii sledující expresi glykosyltransferáz v NK buňkách. Zjistili jsme, že toto glykomimetikum zasahuje do glykosylačních procesů snížením exprese jak MGAT3, tak MGAT5, což jsme prokázali v čerstvě izolovaných NK buňkách zdravých dárců, i v NK-buněčné linii NK-92. V obou modelech jsme pozorovali zvýšení cytotoxicity a stimulaci Th1 cytokinů TNF- α , IFN- γ a zejména IL-2 podporujících NK-buněčnou cytotoxickou aktivitu.

V myším modelu RA jsme potvrdili progresivní poškození NK-buněčné aktivity podobně jako u lidské RA, což odpovídalo i relativnímu zastoupení NK buněk. Zjistili jsme, že GN4C je účinnější ve smyslu zlepšení klinických příznaků, redukce zánětlivé synoviální infiltrace a útlumu aktivovaných antigen prezentujících buněk nezbytných pro aktivaci autoreaktivních T lymfocytů. Sledováním humorální imunitní odpovědi na podání glykodendrimerů jsme zjistili potlačení vzestupu IFN- γ a TNF- α a stimulaci IL-4, což koreluje s redukcí IgG2a specifického pro CII.

Tato práce přináší přehled zapojení NK buněk v RA a role glykanů v *in vitro* a *in vivo* podmínkách u pacientů s autoimunitou a zdravých jedinců. NK buňky reagují na autoantigeny specifické pro RA a účastní se citrulinačních procesů a následné progresu RA. Užitím multivalentních glykodendrimerů *in vivo* je nicméně možné inhibovat autoimunitní procesy a docílit významného potlačení klinických symptomů u myší, což naznačuje potenciál pro zefektivnění terapeutických přístupů v časných stadiích RA.