

## Abstrakt

Imunoterapie založená na dendritických buňkách (DCs, z angl. dendritic cells) byla poprvé testována v klinických studiích zaměřených na léčbu nádorových onemocnění v 90. letech 20. století. V současné době se schopnost DCs modulovat imunitní odpovědi testuje také v několika klinických studiích zaměřených na léčbu autoimunitních chorob s cílem utlumit neadekvátně aktivovaný imunitní systém a obnovit imunologickou toleranci. K tomuto účelu se využívají takzvané tolerogenní DCs disponující výrazným supresivním potenciálem. Tolerogenní DCs se připravují *ex vivo* z monocytů zejména pomocí farmak, jež u DCs indukují regulační fenotyp s nízkou expresí aktivačních znaků, zvýšenou expresí inhibičních znaků a zvýšenou sekrecí tlumivých cytokinů. V první části této práce jsme ukázali, že kultivace lidských monocytů v přítomnosti glukokortikoidu dexamethasonu a 19-nor-1,25-dihydroxyvitaminu D<sub>2</sub> (paricalcitolu) umožňuje připravit tolerogenní DCs s vysoce stabilním supresivním fenotypem charakterizovaným vysokou produkcí IL-10, expresí inhibičních molekul IL-T3 a PD-L1, nízkou stimulační kapacitou a schopností indukovat regulační T buňky. Zároveň jsme také ukázali, že na udržení supresivního fenotypu a funkce tolerogenních DCs se podílejí metabolické změny a aktivace signálních drah zahrnujících NF- $\kappa$ B, p38 MAPK, ERK1/2 a mTOR/STAT3. V další části této práce jsme ověřili, že tolerogenní DCs mohou být pomocí dexamethasonu a vitaminu D<sub>2</sub> připraveny v dostatečné kvalitě také z krve pacientů s diabetem mellitem 1. typu (T1D, z angl. type 1 diabetes mellitus) navzdory tomu, že u nich probíhá autoimunitní proces. V tomto případě se však ukázalo, že významný vliv na kvalitu tolerogenních DCs má glykemická kontrola pacientů. Dlouhodobá hyperglykémie totiž významně ovlivňuje nejenom fenotyp tolerogenních DCs, ale také možnost u pacientů navodit stabilní antigenně specifickou T buněčnou neodpovídavost a vznik regulačních T buněk. Tyto poznatky tak představují důležité podklady pro určení skupiny pacientů s T1D, pro něž by byla terapie založená na tolerogenních DCs vhodná. V poslední části jsme poté testovali možnost vyrobit tolerogenní DCs pro léčbu autoimunitních chorob v rozsahu pro klinické testování. Výrobní protokol jsme optimalizovali s ohledem na zisk dostatečného počtu buněk, jejich čistotu, životnost, fenotyp a funkci. Zároveň jsme také navrhli testy, které mohou být použity pro rutinní kontrolu kvality a supresivní kapacity tolerogenních DCs vyráběných pro účely klinické studie. Výsledky prezentované v této práci přinášejí důležité poznatky pro výrobu tolerogenních DCs u pacientů s T1D a pro nastavení parametrů případné klinické studie.