

THE SIGNIFICANCE OF ecDNA IN OSTEOCLASTOGENESIS FROM PERIPHERAL BLOOD PRECURSORS – AN *IN VITRO* STUDY

Autor práce: Bc. Ivana Jelínková

Vznik a funkce osteoklastů, kost resorbujících buněk, je ovlivněna řadou faktorů, látek a molekul přítomných v těle. Chronická zánětlivá autoimunitní onemocnění jsou často doprovázena zvýšenou osteoresorpcí a následně diagnostikovanou osteoporózou. Tyto choroby jsou charakteristické patologicky změněnými hladinami celého spektra látek modifikujících imunitní systém, jako jsou cytokiny, chemokiny, hormony, jejichž vliv na dysbalanci kostního metabolismu již byl popsán. Jedním z agens, jehož zvýšené hladiny lze detekovat u řady autoimunitních a zánětlivých stavů, je volná cirkulující DNA. Jde o mimobuněčnou DNA (ecDNA) nejen v séru/plasmě nemocných, ale také v dalších tělních tekutinách (např. synoviální tekutina). Vzhledem ke skutečnosti, že nedávné studie potvrdily imunoregulační vlastnosti ecDNA a to dokonce přímo na monocytech periferní krve, nabízí se otázka, zda nemůže mít ecDNA také osteoklastogenní vliv, který by tak představoval další z pojitků mezi zánětlivým prostředím autoimunitních nemocí a zvýšeným rizikem osteoporózy.

Předkládaná práce využívá *in vitro* přístupů a zaměřuje se na osteoklastogenezi coby mechanismus vzniku kost resorbujících buněk z periferních prekurzorů pod vlivem ecDNA. Pro zajištění jednoznačně definovaných podmínek bylo pro stanovení vlivu ecDNA na diferenciaci monocytů využito arteficiálních oligodeoxynukleotidů (ODN) s prokázanými imunostimulačními (ST), imunoinhibičními (INH), neutrálními (CO) sekvencemi, a navíc byl testován také imunosuprimující efekt telomerické sekvence (TLM).

Cílem práce bylo ověřit, jestli je daný experimentální postup (využití ODN v dlouhodobých kultivacích) vůbec použitelný pro výzkum osteoklastogeneze, a zjistit, zda a jak testované ODN ovlivní osteoklastogenní potenciál monocytů získaných od zdravých dárců. V případě nalezení pro-osteoklastogenní, případně anti-osteoklastogenní sekvence by kromě přímých dedukcí ve vztahu k laboratorním nálezům pacientů bylo možné daná ODN využít v dalších výzkumech jako stimulatory/inhibitory osteoklastogeneze.

Hodnocení:

Jako pozitivní hodnotím skutečnost, že se Ivana dobře zorientovala v problematice použití arteficiálních ODN v buněčných kulturách, neboť šlo o pilotní projekt s tímto designem a neměla se od koho práci s nimi naučit; v laboratoři pracovala systematicky, dodržovala dohodnuté termíny. Obdobný přístup měla k práci na textu DP, opět bych vyzdvihla systematickost a dodržování domluvených termínů. Oceňuji Ivaninu snahu porozumět získaným výsledkům, což zúročila v rámci diskuze, a snahu o kritický přístup,

který navíc přetavila v návrhy dalších kroků, jež by logicky měly následovat, aby pilotní studie přinesla očekávané výsledky. Některé pasáže textu jistě mohly být propracovanější, to však jde na vrub nedostatku času z důvodů uvedených dále.

V rámci hodnocení by mělo zaznít, že čas, po jaký tato práce vznikala, a její konečná podoba byly negativně ovlivněny hned několika faktory: Poněkud pomalejším startem studentky v prvním ročníku NANTR, její dlouhodobou zdravotní indispozicí ve druhém ročníku studia, a do třetice koronavirovou pandemií, která ve finále tohoto pilotního projektu na téměř 4 měsíce omezila kontakty s dárci buněk. Některé závěry práce tak bude rozhodně nutné potvrdit a podpořit dalšími experimenty a zároveň je žádoucí na získané výsledky navázat a otestovat i jiné experimentální designy, na které v rámci této práce již nezbyl prostor/čas.

Předkládaná práce Bc. Ivany Jelínkové splňuje požadavky na práce tohoto typu kladené. Diplomovou práci **doporučuji k obhajobě** a navrhuji hodnocení **velmi dobře**.

4. 9. 2020

RNDr. Pavlína Daňková, Ph.D.