

# Posudek disertační práce

## Možnosti predikce a imunointervence u diabetu 1. typu

**Autor disertační práce:** Mgr. Jana Sklenářová

**Vedoucí disertační práce:** Prof. MUDr. Kateřina Štechová, Ph.D.

**Oponent:** RNDr. Gabriela Pavlínková, Ph.D.

**Datum:** 10.5. 2020

Disertační práce Mgr. Sklenářové je zaměřena na možnosti predikce a prevence *diabetes mellitus 1.* typu (DM1) zejména v presymptomatické fázi tohoto onemocnění. Výsledky jsou presentovány ve čtyřech kvalitních publikacích, z nichž u dvou publikací je Mgr. Jana Sklenářová první autorka.

Práce je sepsána v českém jazyce a jedná se o tzv. zkrácenou verzi práce a její členění odpovídá tomuto formátu. Ve všeobecné části autorka shrnuje dosavadní poznatky a současné pohledy na vznik DM1, preklinickou fázi DM1 a možnosti intervenčních zásahů u jedinců s vysokým rizikem rozvoje DM1 s cílem zastavit autoimunitní proces. Tato část rovněž obsahuje detailní přehled predikčních markerů pro preklinické stadium DM1 včetně genetických markerů. Výsledková část sestává ze souboru 4 primárních publikací, z nichž jsou 2 publikace prvoautorské. Každá publikace je vždy uvedena stručným úvodem, souhrnem výsledků a krátkou diskusí. Dosažené výsledky autorka diskutuje se zřetelem k současné úrovni poznání dané problematiky a na závěr shrnuje se zdůrazněním potenciálního významu nálezů pro klinickou praxi. V závěrečné kapitole disertační práce autorka zdůrazňuje významnost léčby v období preklinické fáze DM1, zejména antigen specifické imunoterapie, které se jeví jako nejúčinnější, a dále nutnost zlepšení včasné predikce DM1. Autorka také poukazuje na komplexní poruchu imunitního systému u DM1, zahrnující změny v populacích B lymfocytů.

V první publikaci jsou zhodnoceny hladiny protilátek k vybraným autoantigenům ve vzorcích periferní krve od dětí s DM1 a zdravých kontrol. Dále byly zhodnoceny buněčné populace v izolovaných mononukleárních buňkách a odpověď na stimulaci autoantigeny in vitro ve vzorcích získaných PBMC. Výsledky ukazují, že reakce na stimulaci autoantigeny je ovlivněna autoprotilátkovým profilem a je velice individuální u jednotlivých pacientů, a tedy imunoprevenční léčba v budoucnu bude muset být přizpůsobena individuálnímu autoprotilátkovému profilu.

Ve druhé studii autorka byla zapojena do výzkumu hodnotící populace periferních B lymfocytů a expresi receptoru pro cytokin BAFF u dlouhodobě léčených diabetiků, u pacientů s DM1 při manifestaci, u prvostupňových příbuzných a zdravých kontrol. Studie potvrdila, že celkové množství B buněk se mezi kohortami nelišilo, ale exprese receptoru pro BAFF na B lymfocytech byla významně snížena u dlouhodobých diabetiků oproti kontrolám, a naopak exprese BAFFR byla zvýšena na T lymfocytech u pacientů s manifestací DM1. Tyto výsledky naznačují, že signalizace BAFF může přispívat k rozvoji onemocnění.

Třetí publikace shrnuje analýzy klinických a biochemických parametrů v korelaci s hodnotami glykovaného hemoglobinu u pacientek s DM1, kdy imunitní parametry jsou nejvíce ovlivněny délkou hyperglykémie, měřenou hodnotou glykovaného hemoglobinu. Naopak glykemická variabilita získaná pomocí kontinuálního měření koncentrace glukózy korelovala s parametry lipidového spektra (HDL, LDL, cholesterol a triacylglycerolů) a tedy rizika kardiovaskulárních chorob. Využití hodnocení lipidových a glykemických parametrů v klinické praxi by mohlo přispět k lepší dlouhodobé prognóze pacientů s DM1.

Poslední publikace je zaměřená na zlepšení metody detekce destrukce beta buněk, která je důležitá v preklinické fázi DM1. Předpokladem této studie bylo, že během destrukce beta buněk v endokrinní tkáni pankreatu dochází k uvolnění DNA do krevního oběhu. Tato cirkulující DNA může být využita k diagnóze v klinické praxi. Pomocí droplet digital PCR, autoři ukázali, že detekce demetylované DNA promotoru glukokinázy

je lepší než detekce promotoru insulinu. Ačkoliv specifita detekce byla lepší, klinické použití této metody pro detekci destrukce beta buněk je neuspokojivé.

Úvodní část disertační práce i následující části jsou psány formálně velmi čistě, fakta jsou uváděna v logickém pořadí a celkově je text velice přehledný. Vložené obrázky text velmi dobře doplňují a pomáhají porozumění problematice. Oceňuji minimální počet pravopisných chyb a překlepů. Jediná malá formální výtka se týká chyby v obsahu, kdy čísla stránek uvedená v obsahu neodpovídají.

Celkově formu i obsah hodnotím velice pozitivně. Jde o velice kvalitní práci vycházející z výsledků publikovaných v kvalitních mezinárodních časopisech. Vysoká odborná úroveň předloženého textu a připojených publikací prokazují, že Mgr. Jana Sklenářová dosáhla řady důležitých výsledků a splnila všechny formální požadavky doktorského studijního programu Imunologie na 2. LF UK. Doporučuji disertační práci Mgr. Jany Sklenářové k obhajobě.

Gabriela Pavlinkova

Gabriela Pavlinkova, Ph.D.  
Laboratoř molekulární patogenetiky  
Biotechnologický ústav AV ČR  
BIOCEV, Center of Excellence  
phone: (+420) 32587-3794  
email: gpavlinkova@ibt.cas.cz

#### **Otázky:**

- 1) Jak vysvětlíte korelaci glykemické variability s lipidovými parametry, a tedy rizikem kardiovaskulárních chorob u žen s DM1? Je stejná korelace u mužů?
- 2) Můžete více vysvětlit vaše výsledky, že zvýšený počet Treg buněk byl zjištěn u pacientů s vysokým titrem GAD65 a IA2 autoantilátka?
- 3) Proč jsou GAD65 autoantilátka spojené s pomalejší klinickou progresí DM1, ale zároveň protilátka proti IA2 jsou asociované se zvýšeným rizikem rozvoje DM1? Jaká by byla role Treg buněk u těchto pacientů?
- 4) Můžete detailněji vysvětlit mechanismus a funkci BAFF signalizace u B a T lymfocytů? Jaká je role této signalizace u autoimunitních onemocnění a možnost léčby?