



Sektor imunologie a gnotobiologie

Ved.: prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc.

Videňská 1083

142 20 Praha 4

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci

Předložená disertační práce Nguyen Thi Thu Hien, M.D.: „The role of human heat shock protein HSP70, HSP60, and *Mycobacterium bovis* HSP65 in pathogenesis of graft versus host disease and rheumatoid/juvenile idiopathic arthritis“ byla vypracována pod vedením školitelky Doc. RNDr. I. Hromadníkové, PhD. v Laboratoři buněčné biologie na 2. lékařské fakultě UK a později na Oddělení molekulární biologie a buněčné patologie 3. lékařské fakulty UK, Praha. Disertace je souborem pěti prací, z nichž byly tři publikovány v odborném tisku a dvě jsou v recenzním řízení. U dvou publikovaných prací a jedné odeslané do tisku je Nguyen T. T. první autorkou. Všechny uvedené publikace se zabývají společným tématem, úlohou stresových bílkovin bakteriálního a lidského původu u autoimunitních onemocnění – revmatoidní artritidy, juvenilní idiopatické artritidy a u pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk. Práce má klasické členění: úvod, cíle, výsledky, diskusi a závěry. Rozsáhlý úvod ukazuje na pečlivé studium literatury o rodinách stresových bílkovin, jejich struktuře, výskytu, funkcích, receptorových molekulách, dále na studium jejich účasti v infekčních, autoimunitních a hematopoetických onemocněních a jejich potenciální využití v léčbě.

Výsledková část je stručná, krátce shrnuje hlavní výsledky prací, které jsou následně přiloženy v tištěné podobě nebo ve formě odeslané do tisku. První metodická práce porovnává metody detekce anti Hsp protilátek: nativní a SDS- elektroforézu kombinovanou s imunoblotem a imunoenzymatickým stanovením (ELISA). ELISA, která je více citlivá, umožnila i stanovení protilátek proti rh-Hsp-70. Použitím této metody nebyly nalezeny korelace mezi hladinami anti Hsp protilátek a závažností GvHD po transplantaci hematopoetických kmenových buněk. Avšak v následné rozsáhlé klinické studii zjistili u pacientů s juvenilní idiopatickou artritidou (JIA) zvýšený výskyt i významně vyšší hladiny protilátek proti Hsp-70, zejména u pacientů s RF+JIA, a korelaci hladin s klinickým obrazem pacientů. U stejné skupiny pacientů s JIA byly prokázány i zvýšené hladiny protilátek proti bakteriálnímu Hsp 65 z *Mycobacterium bovis* a jeho fragmentům, které mohou být odrazem vysoké přítomnosti Hsp 60 v synoviální tkáni a sekvenční homologie lidského Hsp 60 a MB Hsp 65.

Ocenila bych zejména poslední dvě práce, které dokumentují nárůst membránového Hsp 70 na synoviálních buňkách podobných fibroblastům u pacientů s RA a JIA. Autoři analyzují možné příčiny jejich přítomnosti, jak z hlediska možné tvorby a uvolňování, tak i z hlediska vyšší exprese receptorů pro Hsp. Z receptorových molekul nacházejí nárůst receptoru CD91 a prokazují i jeho společnou přítomnost s molekulou Hsp70 na buňkách z kultur synoviální tkáně pacientů s RA.

Pokud bych měla něco vytknout, je to např. rozdílné použití zkratk pro stresové proteiny (HSP x Hsp) v literárním úvodu a v publikacích. Dále malý formát doložených publikací, který ztěžuje čtení zejména u obrázků. Po přečtení úvodní části mám následující připomínky:

- 1) Velmi bych při obhajobě vítala podrobnější uvedení všech typů interakcí stresový protein a antigenní peptid na dendritických buňkách a jejich zapojení do mechanismu presentace a zkřížené presentace (jako rozvedení obr. 7).
- 2) Zvýšená exprese Hsp proteinů je znakem aktivace, je spojena s výskytem infekcí, autoimunitními a některými nádorovými onemocněními. Můžete uvést, při jakém léčebném postupu jsou získané výsledky s využitím Hsp nebo protilátek proti těmto molekulám nejpokročilejší a zda přinášejí naději na úspěch?

Závěrem lze konstatovat, že disertační práce je sepsána jasně a přehledně. Z uvedených prací je zřejmé, že autorka prostudovala pečlivě odbornou literaturu a zvládla moderní metodické přístupy, které využila pro získání původních výsledků. Předložená práce splňuje veškeré požadavky kladené na disertační práce. Práci doporučuji k přijetí do oponentního řízení pro získání vědecké hodnosti PhD.

V Praze dne 12.12.2007

Doc. RNDr. Ludmila Tučková, DrSc.
Sektor imunologie a gnotobiologie,
Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.
Praha