

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Název práce: **Immune system dysregulation in type 1 diabetes**

Autor: **Mgr. Zuzana Paračková**
2. lékařská fakulta, Studijní program: Imunologie,
Univerzita Karlova v Praze

Vypracovala: Mgr. Marcela Vlková, Ph.D.
LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

Předložená práce: „Dysregulace imunitní odpovědi u diabetu mellitu 1. typu“, je zaměřena na různé změny v reakci buněk nespecifické i adaptivní imunity u pacientů s diagnózou diabetes mellitus 1. typu (DM1)

Disertační práce je rozdělena na několik částí: v teoretickém úvodu autorka podává aktuální literární přehled o patogenezi DM1 a s ní související dysregulací imunitního systému, která byla zjištěna u neutrofilů, antigen prezentujících buněk a také u T-lymfocytů a B-lymfocytů. V dalších částech jsou prezentovány jednotlivé publikace, u nichž je Mgr. Zuzana Paračková prvním autorem nebo spoluautorem a které tvoří základ předkládané disertační práce.

První publikace: Neutrophil extracellular trap induced dendritic cells activation leads to Th1 polarization in type 1 diabetes poukazuje na roli neutrofilních extracelulárních pastí (NETs) v patologii DM1. NETs produkované neutrofilů pacientů působí na antigen prezentující buňky (APC), které poté při aktivaci T-lymfocytů upřednostňují jejich polarizaci do Th1 efektorové odpovědi. Dále bylo zjištěno, že NETs vzniklé z neutrofilů pacientů s DM1 takto působí i na APC zdravých dárců.

Druhá publikace s názvem Monocytes contribute to DNA sensing through the TBK1 signalling pathway in type 1 diabetes patients je zaměřena na změněnou funkci monocytů a plazmocytoidních dendritických buněk u pacientů s DM1. Práce ukazuje, že monocyty u DM1 pacientů produkují prozánětlivé cytokiny po expozici mikrobiální i autologní DNA jako Ag. Obvykle bývá DNA rozeznávána receptorem TLR9, ale pomocí metody image cytometry se ukázala ko-lokalizace DNA a cytosolického receptoru pro DNA STING. STING dále aktivuje TBK1 kinázu, která iniciována signální kaskádu vedoucí k aktivaci a transkripci genů pro prozánětlivé cytokiny.

Třetí práce s názvem: Enhanced STAT3 phosphorylation and PD-L1 expression in myeloid dendritic cells indicates impaired IL-27Ralpha signalling in type 1 diabetes, upozorňuje na zvýšenou expresi podjednotky receptoru IL-27 a to IL-27Ralfa, která byla detekována pomocí mRNA v purifikovaných myeloidních DC (mDC) v reakci na stimulaci IL-27. Vyšší fosforylace STAT3 u pacientů s DM1 byla také doprovázena zvýšenou expresí inhibičních molekul PD-L1, PD-L2 a PD-1 na mDC1, což může naznačovat nejen imunomodulační mechanismy IL-27 v DM1, ale také kompenzační úsilí dendritických buněk zaměřené proti pokračujícímu zánětu.

Ve čtvrté práci s názvem Changes in innate and adaptive immunity over the first year after the onset of type 1 diabetes je dokumentován pokles leukocytů, zejména neutrofilů a vzestup Treg a plazmocytoidních dendritických buněk v průběhu prvního roku po diagnóze DM1.

Pátá práce: T regulatory lymphocytes in type 1 diabetes: Impaired CD25 expression and IL-2 induced STAT5 phosphorylation in paediatric patients upozorňuje na sníženou expresi CD25 na T regulačních lymfocytech (Treg). Tyto lymfocyty také vykazují nižší fosforylaci STAT5 po stimulaci Treg pomocí IL-2.

Změny v B-lymfocytárních populacích jsou u pacientů s DM1 dokumentovány v šestém článku: Alteration of B-cell subsets and the receptor for B cell activating factor (BAFF) in paediatric patients with type 1 diabetes. , kde byl sledován pokles počtu raných vývojových fází B-lymfocytů a zvýšený počet plazmablastů v periferní krvi pediatrických DM1 pacientů. Zároveň byla u těchto pacientů pozorována zvýšená proliferace transientních a naivních B-lymfocytů po stimulaci přes BAFF v porovnání se zdravou kontrolní skupinou.

Další dva články popisují funkci NET a to časopise Alergie a Vesmír.

Disertační práce se tedy opírá o 8 originální prací, přičemž u čtyřech z nich je Zuzana Paračková uvedena jako první autor, (impakt faktory (IF): 5,05; 4,11; 2,63; a 3,01). U dalších dvou článků je Zuzana Paračková uvedena jako spoluautor (IF: 6,65; 3,42). Další dva články byly publikovány v českém a slovenském časopise bez IF. Dizertační práce dále obsahuje seznam pěti publikací, na kterých se podílela Zuzana Paračková v průběhu svého doktorandského studia jako první autorka a dalších tří prací, kde je uvedena jako spoluautor, které přímo nesouvisí s tématem předkládané dizertační práce Všechny publikované články vypovídají o vysoké kvalitě zpracovávaného vědeckého projektu.

Za hlavní přednost práce považují zvládnutí širokého spektra laboratorních metod používaných v této dizertační práci, z čehož vyplývá objemné množství dat, které je třeba analyzovat a schopnost autorky využít těchto metod k získání nových informací pro lepší pochopení dysregulace imunitní odpovědi u pacientů a s DM1. Rovněž obsáhlý seznam 234 citovaných prací, z nichž autorka jasně a přehledně podává potřebné informace, dokazuje dobrou orientaci předkladatelky práce v současné literatuře.

Otázky oponenta:

1. Jaké je autorčino spekulativní vysvětlení nižší koncentrace myeloperoxidázy v NETech pacientů s DM1?
2. Čím si autorka vysvětluje vyšší aktivitu non-TLR9 receptorů pro DNA u DM1 pacientů v porovnání se zdravou kontrolou?

Závěr: Předložená práce Mgr. Zuzany Paračkové podle mého názoru poskytuje všechny náležitosti velmi kvalitně zpracované dizertační práce. Předkladatelka prokázala více než dostatečnou schopnost samostatné vědecké práce, která je podložena řadou kvalitních publikací vyjadřujícím se k široké problematice buněk imunitního systému o onemocnění DM1. K formálnímu zpracování nemám žádné připomínky. Z těchto důvodů lze bez výhrad doporučit disertační práci k obhajobě Ph.D.