

Oponentský posudek disertační práce

MUDr. Kristýny Böhmové

**Cytokinový profil pupečníkové krve novorozenců v riziku rozvoje T1D
- monitoring buněčné autoreaktivity s využitím protein microarray**

Práce je zaměřena na okolnosti vzniku diabetu 1. typu (T1D), který je závažným onemocněním se stále narůstající incidencí v celém světě. Studium cytokinového prostředí u novorozenců se zvýšeným rizikem tohoto onemocnění přispívá k poznání patogeneze onemocnění a může mít prognostické využití. Jde tedy o tematiku aktuální se značným potenciálním významem pro klinickou medicínu. Ke řešení vytčených cílů byl použit vhodný metodický přístup, který je vhodný i pro studium jiných imunopatologických stavů.

Kandidátka uveřejnila v mezinárodních impaktovaných časopisech 5 původních prací, z nichž u jedné je první autorkou. Tyto práce jsou přiloženy k disertaci a všechny se týkají T1D. Vlastní text disertace však podrobně pojednává pouze o problematice publikace, kde je K. Böhmová první autorkou. To je jistě škoda, protože všechny práce dohromady tvoří pěkný tematický celek. Pokud nebyly všechny práce probrány jednotlivě, měly být alespoň zavzaty do diskuse.

Text disertace se tedy zabývá pouze cytokiny u novorozenců ve vztahu k T1D a je členěn na souhrn, úvod, výsledky, diskusi, závěr a literaturu (52 citací). V úvodu je stručné pojednání o diabetu a jeho patogeneze, o vývoji T lymfocytů a modulaci imunitní odpovědi v průběhu těhotenství. Vzhledem k tomu, že je práce zaměřena na novorozence, mohlo být ontogenetickým otázkám a vztahu matka – plod věnováno v úvodu více prostoru. Vhodné by bylo také podrobnější pojednání o diabetogenních autoantigenech protože testování specifické stimulace buněk novorozence těmito antigeny představuje závažnou a zajímavou část disertace. Podrobně je v úvodu pojednáno o možných

metodických přístupech pro stanovení autoreaktivních T lymfocytů a tvorby cytokinů. Dále je součástí úvodu vytčení cílů práce (cíle jsou vhodné a dobře formulované) a uvedení použitých metod – tyto dvě kapitoly se zpravidla do úvodu nezahrnují a uvádějí se samostatně.

Studovaný soubor obsahoval 22 novorozenců se zvýšeným rizikem onemocnění T1D (nemocný někdo z rodičů nebo oba) – skupina označena jako T1DR a 15 kontrolních novorozenců zdravých rodičů. Ke studiu cytokinového prostředí byly použity proteinové microarraye a v několika případech ELISPOT. Byla sledována bazální tvorba cytokinů a tvorba po stimulaci mononukleárních buněk pupečnickové krve in vitro. Pro zjištění rizikového genotypu byla prováděna také typizace HLA, ale není zřejmé, prováděla-li ji sama autorka. Prosím autorku, aby upřesnila způsob stanovení bazální produkce cytokinů (v jakém materiálu, za předpokladu, že v supernatantech kultur, po jak dlouhé kultivaci).

Za významné výsledky pokládám zjištění nižší bazální tvorby všech 23 zjištěných cytokinů a chemokinů u novorozenců se zvýšeným rizikem T1D ve srovnání s kontrolami, v 10 případech jde o snížení signifikantní. Velmi důležité je zjištění rozdílů v reaktivitě mezi buňkami kontrol a skupiny T1DR po specifické stimulaci diabetogenními autoantigeny. Pomocí genotypizace je možné děti ze skupiny T1DR dále rozdělit do skupin s vysokým a nízkým rizikem. Tomuto rozdělení odpovídají fenotypické rozdíly v bazální tvorbě cytokinů a po specifické stimulaci je u dětí s vysokým rizikem výrazněji zvýšena tvorba cytokinů typu Th1. Výsledky ukazují na rozdíly ve zralosti a reaktivitě lymfocytů u dvou uvedených skupin. Použité postupy jsou dobře využitelné pro studium časné patogeneze T1D a pro posouzení velikosti rizika budoucího rozvoje onemocnění. Výsledky je však třeba ještě potvrdit vyšetřením většího počtu jedinců. K přesnější interpretaci výsledků by též přispělo dlouhodobé sledování vyšetřených novorozenců, což má autorka zřejmě v plánu. Výsledky získané pomocí ELISPOT jsou zajímavé, ale mají pouze pilotní charakter, protože byly provedeny na malém počtu jedinců.

V diskusi jsou výsledky kriticky zhodnoceny a je posuzován jejich vztah k cytokinovému prostředí matky. Je jen škoda, že nejsou do diskuse zahrnuty výsledky studia imunologických vlastností starších dětí a dospělých s T1D, které jsou obsaženy v dalších příložených publikacích. Tento nedostatek by mohl být napraven při obhajobě.

Po formální stránce je práce dobře provedena, pouze popisy k obrázkům nejsou dostatečně samovysvětlující. Pokud jde o název práce, domnívám se, že by bylo lépe použít místo zkratky T1D celý název onemocnění.

Závěr

Disertační práce přináší původní výsledky týkající se časné patogeneze T1D a imunologické reaktivity novorozencům se zvýšeným rizikem pozdějšího rozvoje T1D, což má význam pro základní výzkum i klinickou medicínu. Jsou splněny podmínky týkající se publikace výsledků v mezinárodních impaktovaných časopisech. Proto doporučuji přijetí práce jako podkladu pro udělení vědecké hodnosti PhD.

Doc. MUDr. Ludmila Prokešová, CSc

Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK v Praze

Praha 10. 5. 2008