



UNIVERZITA KARLOVA
I. lékařská fakulta

Oponentský posudek na disertační práci MUDr. Anny Grohové

V předložené disertační práci nazvané „Imunoterapie diabetu 1. typu pomocí tolerogenních dendritických buněk. Role a možnost terapeutického využití tolerogenních dendritických buněk a dalších imunosupresivních buněk u autoimunitních onemocnění se zaměřením na diabetes 1. typu“ se autorka věnuje charakterizaci vybraných subpopulací buněk myeloidního původu s imunoregulačními vlastnostmi. Tato práce je příkladnou ukázkou propojení laboratorní práce s klinickou praxí, kdy je využito zázemí a zkušenosti laboratoře s GMP protokoly pro získání buněk a zároveň klinická část je klíčová pro identifikování vhodných dobrovolníků pro ověření imunosupresivních vlastností tDC a M-MDSC u zdravých jedinců a pacientů s T1D. Řešená problematika je velmi aktuální i s ohledem na očekávaný konsistentní nárůst pacientů s T1D a potřebou hledání dalších efektivnějších terapeutických protokolů pro léčbu těchto pacientů, neboť současná rutinní terapie spočívá pouze s suplementací insulinu.

Předložená závěrečná práce je psaná v českém jazyce s minimem chyb a překlepů, což s ohledem na takto obsáhlou práci je obdivuhodné. Samotná práce má standardní členění na úvod (úvod do problematiky), cíle práce, metody, výsledky, diskuzi, závěr a přílohy. Velmi oceňuji přehledně zpracovanou úvodní kapitolku, kde autorka srozumitelně představuje problematiku T1D včetně současné dostupné terapie, následují oddíly věnované tDC a MDSC, na které se zaměřuje experimentální část práce. Autorka si vytkla dva hlavní cíle: 1) optimalizovat protokol pro získávání tDC v režimu GMP a ověřit potenciální využití tDC v terapii T1D a 2) charakterizovat MDSC včetně jejich imunoregulačního potenciálu u pacientů s T1D. Jedná se o velmi ambiciózní cíle, které se podařilo splnit, jak je dokumentuje kapitolka „Výsledky“. Oceňuji uvedení kapitolky „Metody“, kde autorka stručně uvedla hlavní metodické přístupy použité k dosažení vytčených cílů práce. V oddíle „Výsledky“ autorka uvádí hlavní dosažené výsledky na úctyhodných 39 stránkách. V oddíle diskuze jsou diskutovány dosažené výsledky v kontextu světové literatury a následně v závěru jsou shrnuty nejpodstatnější výsledky. Část práce „Přílohy“ je rovněž obsáhlá a dokumentuje výraznou publikační aktivitu autorky. Vzhledem k rozsahu příloh by možná bylo vhodnější propojit jednotlivé části kapitolky výsledky vždy s příslušnou přílohou a jednotlivé publikace v příloze očíslovat (a např. vyzdvihnout ty klíčové).

Na autorku mám následující otázky:

Ve výsledcích popisujete imunoregulační vlastnosti tDC (ve Vaší práci Obr. 10 na str. 61). Zajímalo by mě, zda jste pozorovala rovněž vyšší kapacitu (či genovou expresi)IDO (indolamin 2,3 dioxygenázy) při přípravě tDC Vaším protokolem v režimu GMP? Rovněž popisujete zvýšení exprese TLR2, ale následně stimulujete tDC LPS a dokumentuje zvýšenou tvorbu IL-10 (str. 71). Pozorovali jste zvýšení IL-10 i po stimulaci peptidoglykanem?

V práci uvádíte možnost modulace mikrobiomu jako jeden z možných terapeutických přístupů léčby T1D v budoucnosti. Myslíte si, že případné „primování“ DC (tDC) antigeny probiotik nové generace by bylo přínosné při generaci tDC pro potenciální terapii pacientů s T1D? (Kromě některých probiotik jsou známy i další skupiny bakterií se schopností preferenčně podporovat vznik Treg.)

Na str. 73 popisujete tDC připravené z PBMC dobrovolníků účastnících se studie. Byl by rozdíl v imunoregulačních vlastnostech tDC připravených z PBMC a přímo izolovaných z periferní krve, pokud by to bylo reálné?

V případě terapeutického protokolu založeného na tDC předpokládáte jednorázové podání tDC či bude nutné opakovat podání tDC?

Velmi mě zaujala pozitivní korelace mezi M-MDSC a schopnosti CD4+ T lymfocytů tvořit IL-17 a IFN-gama. Rovněž oceňuji elegantní studii porovnávající imunosupresivní potenciál M-MDSC získaných od pacientů s nádory a T1D (str. 94/95). Je možné, že za pozorovaným rozdílem stojí odlišná terapie pacientů?

Studovala jste MDSC, které jste rozdělila na dvě hlavní skupiny M-MDSC a G-MDSC. Máte nějaká data o imunoregulačních schopnostech G-MDSC a jejich potenciálnímu využití v terapii T1D?

V práci navrhuje jako jeden z možných mechanismů působení tDC schopnost tDC indukovat Treg. Je známo, že pacienti s T1D mají odlišné proporční a funkční vlastnosti přirozených (nTreg) či spíše indukovaných (i/aTreg) regulačních T lymfocytů?

Předložená disertační práce je založena na původních výsledcích publikovaných v několika mezinárodních časopisech s přísným recenzním řízením, což dokumentuje kvalitu dosažených výsledků. Získané výsledky o imunoregulačních vlastnostech tDC a M-MDSC posouvají hranice našeho poznání s jasným dopadem do rutinní klinické praxe včetně zavedení protokolu diferenciac tDC v režimu GMP. Předložená závěrečná práce splňuje nároky kladené na disertační práci a prokazuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci. Disertační práci hodnotím jako velmi zdařilou a jednoznačně doporučuji k přijetí k obhajobě a po úspěšné obhajobě doporučuji udělení titulu Ph.D. za jménem.