

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci MUDr. Rudolfa Horvátha nazvanou: „Dendritic cells in health and disease“

Disertační práce má 74 stran, seznam použité literatury čítá 117 citací, převážně originálních publikací v mezinárodních časopisech, práce zahrnuje 3 publikace otištěné v kvalitních mezinárodních časopisech, u jedné je Dr. Horváth prvním autorem. Sepsána je kvalitní angličtinou bez gramatických chyb a překlepů s odpovídající grafickou formou.

V úvodu je vymezena úloha antigen-prezentujících buněk a detailněji rozepsány znalosti o dendritických buňkách. Kromě základních vlastností dendritických buněk jsou popsány jednotlivé subpopulace vzniklé maturací a zevními vlivy. Zmíněny jsou i subpopulace myších dendritických buněk, kde se kromě myeloidního původu u části z nich předpokládá i původ lymfoidní. Popsán je fenotyp dvou hlavních subpopulací lidských dendritických buněk, plasmocytoidních a myeloidních (konvenčních) a možnosti jejich in vitro diferenciaci z periferních monocytů a dále základní mechanismy, kterými tyto buňky internalizují antigenní materiál. V části věnované maturaci dendritických buněk jsou vymezeny nejdůležitější signály, jednak Toll-like receptory s dalšími membránovými a cytoplasmatickými receptory, dále pak nepřímé mechanismy rozpoznání nebezpečí a signály z aktivovaných lymfocytů. V části věnované maturaci dendritických buněk jsou popsány morfologické změny, proces migrace, opracování antigenu, exprese adhezivních a kostimulačních molekul a produkce cytokinů. Autor dále popisuje interakce mezi dendritickou buňkou a T lymfocitem a úlohu antigen-specifického signálu, kostimulace a cytokinů včetně jejich polarizační role. Diskutována je také úloha dendritických buněk v navození periferní tolerance a jejich vztah k T regulačním buňkám. Závěrečná část literárního úvodu je zaměřena na poznatky o dendritických buňkách s ohledem na klinickou praxi, zmíněn je pokles jejich zastoupení v periferní krvi při nádorových onemocněních a při aGvHD, popsána jejich úloha u transplantací orgánů a krvetvorných buněk a také jsou definovány primární imunodeficity spojené s poruchou TLR signalizace nezbytné pro činnost dendritických buněk. Při popisu účinku různých imunosupresiv na dendritické buňky je uveden jak vliv antiproliferativních látek tak i kalcineurinových inhibitorů a glukokortikoidů.

Hlavním cíle práce je přispět k poznatkům o dendritických buňkách v kontextu klinické imunologie a tomuto tématu jsou věnovány všechny 3 přiložené publikace.

První studie analyzuje profil dendritických buněk při rekonstituci v průběhu prvního roku po transplantaci krvetvorných buněk a při aGvHD. Práce ukázala, že jak myeloidní tak i plasmocytoidní buňky se objevují v cirkulaci velmi časně a dosahují nejvyšších počtů mezi 19-25 dnem po transplantaci. Zajímavé je také zjištění, že mezi 15. a 35. dnem dochází k dočasnému zvýšení exprese kostimulačních molekul, zejména CD83 a CD86. Pacienti, u kterých došlo k aGvHD měli v cirkulaci méně dendritických buněk a právě jejich pokles předcházela rozvoj klinických projevů minimálně o den.

Další práce prokazuje, že při X-vázané agamaglobulinemii dochází u myeloidních dendritických buněk k poruše tvorby IL-6 a TNF alfa v odpovědi na stimulaci TLR-8 pomocí ssRNA. Výsledky podporují hypotézu, že Brutonova tyrosin kináza, jejíž defekt je podstatou

tohoto primárního imunodeficitu, může mít úlohu i v signalizaci přes TLR receptory. Tímto mechanismem mohou být částečně vysvětleny fatální enterovirové infekce u těchto pacientů.

Třetí práce je věnována účinku glukokortikoidů na dendritické buňky. Na in vitro modelu prokázala, že kortikosteroidy závažně ovlivňují diferenciaci a maturaci dendritických buněk a vedou k poruše tvorby p70 podjednotky IL-12, TNF alfa a také inhibují schopnost stimulovat T lymfocyty. I když byla prokázána zvýšená exprese TLR-2,-3,-4 na dendritických buňkách, stimulace přes tyto receptory neindukovala v přítomnosti kortikosteroidů proces maturace. U pacientů léčených kortikosteroidy byl pak zaznamenán pokles jak myeloidních tak zejména plasmocytoidních dendritických buněk v cirkulaci.

K velmi kvalitní disertační práci nemám žádné závažné připomínky, dovoluji si několik dotazů:

1. Čím si vysvětlujete dočasné zvýšení exprese kostimulačních molekul v průběhu 3.-5. týdne po transplantaci krvetvorných buněk?
2. Co by mohlo být příčinou selektivní inhibice tvorby TNF alfa a IL-6 oproti nulovému efektu v případě produkce IL-12p70 a IL-10 u pacientů s X-vázanou agamaglobulinemií při stimulaci přes TLR-8?
3. Ve studii sledující vliv glukokortikoidů na výskyt dendritických buněk v periferní krvi došlo téměř k vymizení plasmocytoidních dendritických buněk z cirkulace, u myeloidních došlo pouze k poklesu. Je něco známo o vlivu kortikosteroidů na různou expresi chemokinových receptorů u obou subpopulací DC?

Závěrem je možné konstatovat, že autor prokázal schopnost samostatné vědecké práce, zvládl celou řadu imunologických metodik a dokázal své výsledky zpracovat do publikací v kvalitních mezinárodních časopisech. Proto doporučuji, aby předložená disertační práce byla přijata jako podklad k udělení titulu Ph.D.

V Praze dne 26.6.2009

Doc. MUDr. Ilja Stříž, CSc.
Pracoviště klinické a transplantační imunologie
IKEM
Václavská 1958/9
14021 Praha 4