

Karolína Soukupová  
1.LF UK, děkanát, odd.pro vědeckou činnost  
Kateřinská 32, 12108, Praha 2

**Věc: Posudek disertační práce**

Název práce: „Imunointervenční terapie nově vzniklého autoimunitně podmíněného diabetu u NOD myši

OR: Biologie a patologie buňky

Studentka: **MUDr.Lenka Vargová**, 1.LF UK

Posudek vypracován 1.5.2016

Disertační práce po formální stránce: Práce je členěna klasickým způsobem a obsahuje části Úvod, Cíl projektu (včetně stanovení hypotéz), Materiál a metody, Statistické vyhodnocení Experiment 1-4, Diskuzi, Závěr. Jako přílohy jsou doloženy v plném znění dva články, které se vztahují k tématu disertační práce a byly publikovány v časopise majícím IF. V obou případech je studentka prvním autorem. **Po formální stránce nemám k práci výhrady.**  
Výběr tématu: Práce se zaměřuje na velmi aktuální téma a to je diabetes 1.typu, který v současnosti pro pacienta znamená doživotní nutnost aplikace injekcí inzulínu. I přes veškerý léčebný pokrok (zavedení léčby inzulínovou pumpou, používání inzulínových analog, kontinuální monitorace koncentrace glukózy) znamená nyní tato diagnóza zkrácení očekávané doby dožití o cca 12 let a rovněž i zhoršení kvality života. Ideální by bylo zastavit proces destruktivní inzultidy ještě v klinicky němé fázi prediabetu. V okamžiku stanovení klinické diagnózy již není reálné očekávat, že by se pacient zbavil někdy zcela nutnosti inzulínoterapie vzhledem k omezeným regeneračním schopnostem beta buněk pankreatu. Nicméně je jednoznačně prokázáno, že i zachování zbytkové sekrece by bylo z hlediska prognózy velmi užitečné, a to především s ohledem na oddálení nebo zabránění rozvoje vzniku chronických diabetických komplikací, který významně přispívají ke zvýšené morbiditě a časnější mortalitě DM1 pacientů. Výzkum v posledních letech ale ukázal, že je velmi složité (a zatím bohužel nemožné) vytvořit takovou imunointervenční strategii, která by byla dostatečně efektivní a přitom pacienta nepoškodila jiným způsobem. Cílem disertační práce bylo zjistit, zda, pokud se zkombinuje látka s imunointervenčním účinkem (konkrétně myši antithymocytární globulin resp. gusperimus) s látkou podporující obnovu beta buněk (sitagliptin tj. inhibitor dipeptidyl peptidázy IV - DPP-IV), dojde ke zpomalení nebo dokonce zvrácení rozvoje autoimunitně podmíněného diabetu v experimentálním myším modelu. **Jedná se tedy o velmi zajímavé a potřebné téma, ale nelehké na zpracování.**

Metodologie: Byly použity tyto metody: průtoková cytometrie (byly stanovovány subpopulace cytotoxických, pomocných a rovněž T regulačních lymfocytů), imunohistochemie, v krvi zvířat pak byla stanovována koncentrace DPP-IV a cytokinu TGF-beta, v buňkách sleziny pak byl stanovován jejich genový expresní profil (exprese vybraných 11 genů pomocí RT-PCR) a rovněž byl prováděn glukózotoleranční (intraperitoneální) test, myším byla stanovována glykémie. **Byla použita celá paleta náročných laboratorních testů a po této stránce nemám k práci připomínky.**

Výsledky: Bohužel výsledky potvrdily to, že se stále imunointervenční strategie i po letech výzkumů nepřiblížily praktickému efektivnímu klinickému použití. Výskyt remise diabetu u pokusných zvířat byl ojedinělý. Pozitivní efekt v buněčných subpopulacích měl pouze mATG; gusperimus ani přidání sitagliptinu pozitivně nezapůsobilo (spíše naopak). Musíme si ovšem uvědomit, že i negativní výsledek je výsledkem, pouze se hůře publikuje. Podobně

dopadly i velké mezinárodní studie zaměřené na pacienty (namátkově vakcinace GAD-65, použití protilátky anti-CD3 apod.).

**Práci bych vytkla to, že studentka měla v Úvodu ještě více rozebrat současnou situaci stran imunointervenčních studií u člověka (imunomodulačních i imunosupresních). Naopak velmi dobře je zpracována diskuze.**

**Disertační práce ale i přes to dle mého přesvědčení prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“, které tímto rozhodně doporučuji.**

**Otázky:**

1. Můžete přehledně shrnout stav současného poznání stran imunointervenčních studií u člověka?
2. Které imunointervenční studie u člověka ve světě nyní konkrétně probíhají a kdy jsou očekávány výsledky?
3. Je model autoimunitního diabetu u NOD myši plně aplikovatelný na situaci u člověka? Specifikujte případné rozdíly.
4. Diabetické myši nebyly léčeny inzulinem. Domníváte se, že včasné zahájení inzulinoterapie by mohlo zlepšit výsledky tím, že by zbývající beta buňky nebyly tak přetížené?
5. Můžete specifikovat, kterou část laboratorních experimentů jste prováděla Vy sama?

D

Interní klinika  
UK 2.LF a FN v Motole  
[katerina.stechova@lfmotol.cuni.cz](mailto:katerina.stechova@lfmotol.cuni.cz), +420602194803

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
2. lékařská fakulta  
Interní klinika  
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5  
IČO: 00216203 DIČ: CZ00216203