

Anotace disertační práce
Forma studia: prezenční
Školitel: Mgr. Monika Holubová, PhD.

Téma: NK buňky u hematologických malignit – poruchy funkce NK buněk a mechanismy úniku leukemických buněk

Úvod:

NK buňky jsou jedním z klíčových hráčů v protinádorové imunitě. Obvykle jsou charakterizovány jako velké granulární lymfocyty s typickým imunofenotypem CD3-CD56+. Lidské NK buňky mohou být rozděleny do dvou funkčních podskupin podle CD56 exprese. CD56dim buňky mají vyšší cytotoxickou aktivitu, zatímco CD56bright buňky mají zvýšenou imunoregulační funkci. NK buňky jsou součástí vrozené imunitní odpovědi. Nemají přeskupeny specifické receptory, jako je tomu u T nebo B-lymfocytů, ale jsou schopny rozpoznat transformované nebo virem infikované buňky s nepřítomností nebo abnormální expresí HLA molekul. HLA molekuly inhibují cytotoxickou aktivitu NK buněk a tím chrání zdravé buňky proti nežádoucí lýze. NK buňky mají na svém povrchu spousty aktivačních a inhibičních receptorů a rovnováha mezi aktivací a inhibicí je kritický faktor pro správnou funkci NK buněk. Proteolýza ligandů aktivačních receptorů je jedním z mechanismů, jak mohou maligně transformované buňky uniknout imunologickému dozoru.

Leukémie je zhoubné onemocnění krve tvorby. I přes zvyšující se úspěšnost současné léčby je míra relapsů onemocnění stále vysoká. Selhání protinádorové aktivity imunitního systému je způsobeno buď schopností leukemických buněk uniknout imunitní dohledu anebo defektní funkcí NK buněk.

Výzkumné cíle:

Cílem programu bude studování rozdílného chování a funkce NK buněk zdravých dárců a leukemických pacientů. Bude sledován vývoj aktivačních a inhibičních receptorů a cytotoxická aktivita proti nádorovým liniím, které mají vysokou anebo nízkou expresi HLA molekul. Dále bude testován cytotoxický potenciál těchto buněk proti primárním leukemickým buňkám. Dílčím cílem bude sledování mechanismů úniku leukemických buněk imunitnímu dozoru.

Plánované laboratorní metody:

- izolace NK buněk zdravých dárců a hemato-onkologických pacientů (magnetická separace)
- imunofenotypizace subpopulací NK buněk a jejich míry aktivity průtokovou cytometrií
- izolace leukemických buněk pacientů (CLL, AML)
- stanovení exprese stresových ligandů aktivačních receptorů u leukemických buněk pacientů (RT-PCR)
- stanovení cytotoxického potenciálu buněk proti leukemickým liniím a proti primárním kulturám (průtoková cytometrie)
- ELISA stanovení hladin cytokinů (př. INF- γ)
- sortování subpopulací NK buněk (př. CD56dim, CD56bright) a porovnání jejich cytotoxického potenciálu

Kontakt: holubovam@fnplzen.cz