

## Abstrakt

Transplantace inzulín produkující tkáně je v současnosti jedinou léčebnou metodou umožňující diabetikům 1. typu dosáhnout dlouhodobé nezávislosti na aplikaci inzulínu. Alternativní metodu k orgánové transplantaci pankreatu představuje transplantace izolovaných Langerhansových ostrůvků (LO) do jater, která je bezpečnější, ale méně účinná. Důvodem je výrazná ztráta ostrůvků během krátkého času po transplantaci způsobená nespecifickou zánětlivou reakcí IBMIR (z angl. instant blood-mediated inflammatory reaction). Hlavní příčinou této reakce je tkáňový faktor exprimovaný na povrchu buněk LO, který po kontaktu s krví příjemce přímo aktivuje koagulační kaskádu tzv. vnější cestou. Dochází k agregaci trombocytů, aktivaci komplementu a infiltraci ostrůvků leukocyty, což má za následek zničení až 60 % transplantované tkáně a vznik ischemických oblastí v játrech. Tkáňový faktor kromě koagulace ovlivňuje také angiogenezi a jeho přítomnost na povrchu buněk LO v pozdějším stádiu po transplantaci je naopak nezbytná pro jejich revaskularizaci. Inhibice genu pro tkáňový faktor v izolovaných LO pomocí RNA interference nabízí možnost krátkodobého potlačení exprese tohoto proteinu, což by znamenalo ochranu ostrůvků v raném posttransplantačním období a současně později nebránilo napojení kapilár na cévní systém příjemce. Zvýšení podílu přihojené tkáně by přitom mohlo vést ke zvýšení efektivity transplantace LO jakožto léčebné metody a tím i k významnému zvýšení dostupnosti transplantační léčby.

V předkládané práci byla v první části analyzována genová exprese v izolovaných potkaních LO, na jejímž základě byl vybrán gen *Ppia* jako vhodná endogenní kontrola pro následné experimenty zaměřené na potlačení exprese tkáňového faktoru. Poté byl vytvořen nový experimentální model pro zobrazování rozsahu ischemie jater po transplantaci LO u potkanů *in vivo* založený na podvazu jaterních tepen, který lze s výhodou využít pro monitorování rozsahu IBMIR. V poslední části práce byla využita metoda RNA interference pro potlačení exprese tkáňového faktoru v izolovaných LO pomocí transfekčních metod

mikroporace a lipofekce a její účinnost *in vivo* byla ověřena transplantací diabetickým potkanům. Ukázalo se, že rozsah ischemie jater po transplantaci LO ošetřených siRNA proti tkáňovému faktoru je výrazně nižší než u nativních LO. V případě použití lipofekce jsou výsledky transplantace srovnatelné s nativními ostrůvky, dochází k rychlé a stabilní kompenzaci diabetu, a dokonce se ukazuje mírná výhoda LO ošetřených siRNA proti tkáňovému faktoru oproti nativním LO z hlediska dřívější normalizace glykémie příjemců.

**Klíčová slova:** transplantace Langerhansových ostrůvků (LO), IBMIR, ischemie jater, tkáňový faktor, RNA interference, siRNA