

Abstrakt

Úvod: Diabetes mellitus 1. typu je chronické metabolické onemocnění způsobené autoimunitní destrukcí beta buněk pankreatu. Aktuálně přijímaná teorie vzniku onemocnění vychází zejména ze studia průběhu onemocnění u non-obese diabetic (NOD) myši, kdy k rozvoji cukrovky dochází následkem poruchy v regulaci imunitního systému. Experimentální a klinická data ukazují, že autoimunita může být utlumena až potlačena prostřednictvím imunitní intervence. Ta, pakliže je zahájena včas, může zpomalit probíhající zánik beta buněk a zachovat zbytkovou sekreci inzulínu. K nastolení normoglykémie ale samotná imunointervence většinou nestačí. Jak prokázalo několik intervenčních studií na zvířecích modelech, je současně nutná stimulace proliferace anebo regenerace beta buněk.

Cíl práce: Zjistit, zda zkombinováním látky s imunosupresivním účinkem (myši anti-thymocytární globulin (mATG), gusperimus), s látkou, která podporuje obnovu pankreatických beta buněk (sitagliptin), dojde ke zpomalení či zvrácení průběhu diabetu. A jakým mechanismem dané látky působí.

Materiál a metody: K pokusům byly použity samice myšního kmene NOD/ShiLtJ (H2^{g7}). U těchto myši jsme v den 0, 7, 14 a 28 stanovovali glykémie, subpopulace T-lymfocytů pomocí průtokové cytometrie, míru zánětu a přítomnost endokrinních buněk imunohistochemickým vyšetřením řezů pankreatu. Dále jsme stanovovali koncentraci dipeptidyl peptidázy IV (DPP-IV) a transformujícího růstového faktoru β (TGF β) v krvi, profil genové exprese ve splenocytech a intraperitoneální glukózový toleranční test.

Výsledky: Ve skupině léčené mATG se remise vyskytla u 3 zvířat z 28. V gusperimové, sitagliptinové a v diabetické kontrolní skupině se remise vyskytla po jednom případě. Ve skupině s kombinovanou léčbou nebylo dosaženo remise u žádného z pokusných zvířat. Jediný vliv léčby na populaci regulačních T-lymfocytů jsme zaznamenali ve skupině léčené mATG, kde byl patrný výrazný vzestup 7. den pokusu z hodnoty 8,8 (6,2 – 10,0) % v den 0 na 14,9 (12,3 – 23,4) %; $P < 0,01$. Ve stejné době došlo ve skupině léčené mATG k razantnímu poklesu populace CD8+ T-lymfocytů z původní hodnoty 16,7 (10,9 - 21,9) % na 4,9 (1,8 - 8,5) %; $P < 0,001$. Koncentrace DPP-IV byla v den ukončení pokusu nejvyšší ve skupině léčené gusperimem a činila 885,3 (183,4 – 2175,4) ng/ml, nejnižší byla koncentrace DPP-IV u myši, které dosáhly remise a činila 321,8 (277,0 - 737,5) ng/ml se signifikantním rozdílem mezi těmito dvěma skupinami; $P < 0,01$. Hodnota TGF β byla nejvyšší ve skupině myši v remisi, kde činila 81172,0 (66779,9 - 132703,9) pg/ml, čímž se výrazně lišila od hodnoty naměřené u skupiny léčené sitagliptinem, kde byla hodnota nejnižší a činila 36670,2 (4627,5 - 64787,5) pg/ml; $P < 0,001$.

Závěr: V případě již manifestního diabetu se žádná z terapií nejeví dostatečně účinná k jeho zvrácení či alespoň zpomalení průběhu choroby a ani zkombinováním dvou odlišně působících látek se nepodařilo dosáhnout lepších výsledků. Výskyt remise diabetu byl pouze ojedinělý a byl spojen se sníženou koncentrací DPP-IV a zvýšenou koncentrací TGF β v krvi. Podávání sitagliptinu vedlo naopak ke snížení hodnot TGF β . Pozitivní vliv na hodnotu TGF β a žádoucí změnu v subpopulacích T-lymfocytů jsme zaznamenali pouze při podávání mATG. Gusperimus udržoval zánětlivý proces v aktivní fázi se zvýšenou hodnotou DPP-IV.

Klíčová slova: Diabetes mellitus 1. typu, NOD myš, DPP-IV, TGF β , mATG, gusperimus, sitagliptin, Tregs, autoimunita