



UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Lek. Agnieszka Lidia Zubkiewicz-Kucharska

Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Znaczenie prognostyczne limfocytów T $\gamma\delta$ w cukrzycy typu 1 u dzieci.
Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor:

Prof. dr hab. Anna Noczyńska

Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Recenzenci:

Prof. dr hab. Alicja Chybicka

Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Prof. dr hab. Waldemar Karnafel

Katedra i Klinika Gastroenterologii i Chorób Przemiany Materii
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wrocław

15. luty 2013

CURRICULUM VITAE

Agnieszka Lidia Zubkiewicz-Kucharska

Data urodzenia: 16.grudzień 1979 r.

Miejsce urodzenia: Wrocław

Wykształcenie i przebieg pracy zawodowej:

1994-1998 Liceum Ogólnokształcące nr VII im. K.K. Baczyńskiego we Wrocławiu

1998-2004 studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

2004-2005 staż podyplomowy w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym nr 1 we Wrocławiu

2005 Lekarski Egzamin Państwowy

Od **1.12. 2005r.** zatrudniona na etacie asystenta w Katedrze i Klinice Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego UMW

2006-2012 specjalizacja w zakresie pediatrii

20.11.2012 uzyskanie tytułu specjalisty w zakresie pediatrii

Dorobek naukowy:

Autor i współautor 26 publikacji pełnotekstowych i 58 doniesień zjazdowych

Streszczenie

Wstęp: Cukrzyca typu 1 (DM1) wynika ze zniszczenia komórek β wysp trzustkowych przez limfocyty T w czasie przewlekłego procesu autoimmunologicznego. Limfocyty $T\gamma\delta$ uczestniczą w mechanizmach obrony przeciwnowotworowej oraz przeciwzakaznej, uważa się mogą brać udział w zapobieganiu rozwojowi *insulitis*. Wykazano korelację między liczbą limfocytów $T\gamma\delta$ a stopniem upośledzenia pierwszej fazy wydzielania insuliny w grupie *prediabetes*, co wydaje się potwierdzać regulatorową rolę tych limfocytów w rozwoju DM1.

Celem pracy było badanie limfocytów $T\gamma\delta$ u dzieci z cukrzycą typu 1 oraz ocena ich prognostycznego znaczenia dla rozwoju i wyrównania cukrzycy.

Pacjenci, materiał i metody: Do badania zakwalifikowano 41 dzieci ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1. Kryterium wykluczenia stanowiło współistnienie w momencie rozpoznania cukrzycy: innej choroby autoimmunologicznej, choroby nowotworowej i aktywnego zapalenia. U wszystkich chorych w momencie rozpoznania i po 12 miesiącach leczenia wykonano jednolity komplet badań w celu rozpoznania i ustalenia stopnia wyrównania cukrzycy, zaawansowania procesu zniszczenia wysp trzustkowych (peptyd c) i statusu immunologicznego. Wywiad obejmował m.in: obecność cukrzycy u krewnych, czas występowania typowych objawów hiperglikemii przed hospitalizacją. Limfocyty $T\gamma\delta$ krwi obwodowej oznaczono przy pomocy cytofluorometru przepływowego metodą podwójnego barwienia. Oznaczono stężenia: IL-2, IFN- γ , sICAM-1 oraz sVCAM-1. Po 24 miesiącach oceniono wyrównanie metaboliczne pacjentów.

Grupę kontrolną stanowiło 14 dzieci zdrowych, normostenicznych, bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej, nie obciążonych chorobą autoimmunologiczną, z ujemnym wywiadem rodzinnym w kierunku cukrzycy. U tych badanych jednorazowo oznaczono limfocyty $T\gamma\delta$ oraz stężenia: IL-2, IFN- γ , sICAM-1 i sVCAM-1.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu oraz indywidualną zgodę opiekunów prawnych dziecka.

Wyniki: U dzieci chorych na cukrzycę typu 1 populacja limfocytów $T\gamma\delta$ i limfocytów $T\gamma\delta$ CD8⁺ we krwi obwodowej była mniejsza niż u dzieci zdrowych. Wielkość populacji limfocytów $T\gamma\delta$ i limfocytów $T\gamma\delta$ CD25⁺ zależała od stanu klinicznego chorych na cukrzycę typu 1: najmniej liczne były limfocyty $T\gamma\delta$ i limfocyty $T\gamma\delta$ CD25⁺ u dzieci z najcięższą postacią kwasicy ketonowej i długotrwałym okresem objawowym, ponadto najmniej było limfocytów $T\gamma\delta$ u chorych mających wysokie stężenie hemoglobiny glikowanej i niskie stężeniem peptydu c. Obecność autoprzeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego i przeciw wyspom trzustkowym nie wpływała na wielkość populacji

limfocytów T $\gamma\delta$ i ich frakcji. Stwierdzono mniejszy odsetek limfocytów T $\gamma\delta$, limfocytów T $\gamma\delta$ „podwójnie negatywnych” u chorych z rodzin nieobciążonych cukrzycą w porównaniu do chorych dzieci z rodzin obciążonych, co może wiązać się z dłuższym okresem objawowym i bardziej zaawansowanym naciekiem zapalnym w obrębie wysp trzustkowych (*insulitis*). Natomiast różnice profili komórkowych limfocytów T $\gamma\delta$, limfocytów T $\gamma\delta$ „podwójnie negatywnych” i limfocytów T $\gamma\delta$ CD25⁺ oraz odmienności w przebiegu choroby między grupą DM1 (w rodzinie występuje cukrzyca typu 1), a grupą DM2 (w rodzinie obecna jest cukrzyca typu 2) mogły zależeć od odmiennego profilu genowego w obciążonych rodzinach. U dzieci chorych na cukrzycę stężenie IL-2 i sVCAM1 było większe niż u zdrowych. Po 12 miesiącach obserwacji dzieci chorych na cukrzycę stwierdzono dalsze zmniejszenie się populacji limfocytów T $\gamma\delta$ we krwi obwodowej, co może wynikać z nasilenia procesu autodestrukcji komórek β w przebiegu *insulitis*. Za taką tezę przemawiałoby zwiększenie liczby dzieci z nieoznaczalnym peptydem c. Najlepszymi czynnikami prognostycznymi prawidłowego wyrównania metabolicznego po 1 roku leczenia były odsetki limfocytów: T $\gamma\delta$ CD4⁺CD8⁻, T $\gamma\delta$ CD4⁺CD8⁺ oraz T $\gamma\delta$ CD25⁺, który miał również największą czułość. Natomiast po dwóch latach leczenia odsetek limfocytów T $\gamma\delta$ CD25⁺ był, obok stężenia IL-2 i czasu trwania okresu objawowego, najlepszym dyskryminatorem wyrównania metabolicznego. Z kolei limfocyty T $\gamma\delta$ i T $\gamma\delta$ „podwójnie negatywne”, pH krwi i stężenie peptydu c przy zachorowaniu były najlepszymi czynnikami predykcyjnymi remisji choroby u dzieci z cukrzycą typu 1.

Wnioski: 1. Wielkość populacji limfocytów T $\gamma\delta$ we krwi obwodowej chorych na cukrzycę typu 1 przed leczeniem ma istotne znaczenie prognostyczne. Najlepszymi czynnikami prognostycznymi prawidłowego wyrównania metabolicznego po 1 roku leczenia są odsetki limfocytów: T $\gamma\delta$ CD4⁺CD8⁻, T $\gamma\delta$ CD4⁺CD8⁺ oraz T $\gamma\delta$ CD25⁺, który ma również największą czułość. Po dwóch latach leczenia odsetek limfocytów T $\gamma\delta$ CD25⁺ jest również, obok stężenia IL-2 i czasu trwania okresu objawowego, najlepszym dyskryminatorem wyrównania metabolicznego. **2.** Limfocyty T $\gamma\delta$ i T $\gamma\delta$ „podwójnie negatywne”, pH krwi i stężenie peptydu c przy zachorowaniu są najlepszymi czynnikami predykcyjnymi remisji choroby u dzieci z cukrzycą typu 1.

Słowa kluczowe: limfocyty T $\gamma\delta$, cukrzyca typu 1, czynnik prognostyczny, wyrównanie metaboliczne, remisja