

## T regulační buňky v pupečnickové krvi dětí diabetických matek

Tereza Ulmannová<sup>1</sup>, Jindra Norková<sup>2</sup>, Jana Včeláková<sup>1</sup>, Dagmar Bartášková<sup>3</sup>, Ivana Špálová<sup>4\*</sup>, Kateřina Štechová<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole

<sup>2</sup>PřF UK

<sup>3</sup>Interní klinika 2. LF UK a FN v Motole

<sup>4</sup>Gyn.-por. klinika 2. LF UK a FN v Motole

\*Přispěly stejným dílem

Korespondenční adresa: doc. MUDr. Kateřina Štechová, PhD., Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5, tel.: +420 224 432 066, fax: +420 224 432 221, e-mail: katerina.stechova@lfmotol.cuni.cz

Publikováno: 11. 5. 2012

Přijato: 23. 3. 2012

Akceptováno: 23. 4. 2012

Actual Gyn 2012, 4, 53-58

ISSN 1803-9588

© 2012, Aprofema s.r.o.

Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Ulmannová T, Norková J, Včeláková J, Bartášková D, Špálová I, Štechová K. T regulační buňky v pupečnickové krvi dětí diabetických matek. Actual Gyn. 2012;4:53-58

## T REGULATORY CELLS IN CORD BLOOD OF CHILDREN OF DIABETIC MOTHERS

### Original paper

#### Abstract

Type 1 diabetes (T1D) develops due to autoimmune pancreatic beta cells destruction. The effect of diabetes on pregnancy outcome is well documented. However, much less is known about the effect of maternal diabetes on the developing foetal immune system. The risk of T1D development in a child of T1D mother who was diagnosed prior pregnancy is lower than e.g. in a child of T1D father. This discrepancy supports the theory that there is some immunoregulatory influence on her baby. For this reason we decided to study T regulatory cells (Tregs) which are important in immunoregulation and for autoimmune diseases pathogenesis. Moreover Tregs cord blood (CB) studies of T1D mothers are limited. Tregs defined as CD45<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD127<sup>(low/-)</sup> in CB samples were investigated in our study by flow cytometry and 17 T1D mothers, 17 gestation diabetes mothers and 42 healthy controls were enrolled. We found just that CB from babies of T1D mothers contained 6,73 % Tregs/total Th-lymfocytes in comparison to 9,25 % in controls ( $p = 0,043$ ). Other differences were not significant.

If an establishment of specific immunological tolerance in foetus of T1D mother really exists, it seems to be rather due to other factors than just to changes in Tregs count (which was moreover found to be decreased). We are currently focused on explanation why children of T1D mothers suffer from diabetes less frequently than other first degree relatives by using functional analysis of Tregs. Insights in to this phenomenon would be useful e.g. for construction of T1D immunointervention therapy.

**Key words:** T regulatory cells, type 1 diabetes, imunotoleration, cord blood

## Původní práce

### Abstrakt

Diabetes 1. typu (DM1) vzniká jako následek autoimunitní destrukce beta buněk pankreatu. Vliv diabetu na celkový výsledek těhotenství je poměrně dobře prostudován. Mnohem méně se toho však ví o vlivu diabetu matky na vyvíjející se imunitní systém plodu. Riziko rozvoje DM1 u dětí diabetických matek (pokud onemocněly před těhotenstvím) je nižší než např. u dětí diabetických otců. Tato diskrepance podporuje teorii, že by mohlo docházet k určitému navození imunotolerance u dětí DM1 matek. Z tohoto důvodu jsme si pro náš výzkum vybrali T regulační buňky (Tregs), které hrají důležitou roli v imunoregulaci a patogenezi mnoha autoimunitních onemocnění. Studie Tregs pupečnickové krve DM1 matek jsou navíc ojedinělé.

Pomocí průtokové cytometrie jsme analyzovali zastoupení Tregs (definovaných jako CD45<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD127<sup>(low/-)</sup>) ve vzorcích pupečnickové krve od 17 matek s DM1, 17 s gestačním diabetem a 42 zdravých kontrol.

Signifikantní rozdíl jsme našli jen v zastoupení Tregs z Th lymfocytů, kde v pupečnickové krvi zdravých matek činil tento poměr 9,25 % a u matek s DM1 6,73 % ( $p=0,043$ ). Ostatní rozdíly nedosáhly significance.

Pokud tedy dochází k navození specifické imunotolerance, je tato patrně podmíněna jinak než změnou počtu Tregs. Pokračujeme proto ve funkční analýze Tregs s cílem nalézt vysvětlení pro nižší výskyt diabetu u dětí DM1 matek ve srovnání s ostatními prvostupňovými příbuznými DM1 pacientů. Pochopení tohoto jevu by mohlo přispět např. i k vytvoření imunointervenční terapie DM1.

**Klíčová slova:** T regulační buňky, diabetes 1. typu, imunotolerance, pupečnicková krev

### Úvod

Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je orgánově specifické autoimunitní onemocnění, u kterého dochází k nevratné destrukci beta buněk pankreatu produkujících inzulín. Pacient s tímto typem diabetu je celoživotně závislý na exogenně podávaném inzulínu.

Co je konkrétním impulsem spouštějícím destruktivní inzuliniditu, je stále předmětem výzkumu. K rozvoji onemocnění dochází u geneticky predisponovaných jedinců a na vzniku choroby se významně podílí i faktory zevního prostředí. Diskutovány jsou v tomto kontextu např. virové infekce či nutriční faktory (např. vliv časně expozice proteinům kravského mléka).

Incidence DM1 celosvětově stále stoupá a navíc se manifestace tohoto onemocnění přesouvá do nižších věkových kategorií, což představuje významný socioekonomický problém. Tento trend můžeme jasně sledovat i v populaci českých dětí, kde ve věkové kategorii 0 až 14 let vzrostla incidence DM1 z 6,8/100 000 dětí/rok (v roce 1989) až na 18,5 (v roce 2009) s tím, že nejvyšší podíl nárůstu nových případů byl zaznamenán u dětí předškolního věku (1,2). V ČR trpí aktuálně diabetem 1. typu téměř 56 tis. pacientů (všech věkových kategorií), což odpovídá 6,9 % všech evidovaných diabetiků (3).

Děti, které mají prvostupňového příbuzného trpícího DM1, vykazují zvýšené riziko rozvoje diabetu 1. typu. Je zde však zásadní rozdíl mezi dětmi diabetických matek, které mají riziko jen mezi 2–3 %, a dětmi jejichž otcové (nebo sourozenci) onemocněli DM1, u nichž se riziko rozvoje tohoto onemocnění udává mezi 6–9 %. Toto platí ale pouze v případě, že matka onemocněla diabetem ještě před těhotenstvím a dítě se tedy de facto vyvíjelo „v autoimunitně laděném prostředí“. Pokud se u matky manifestoval DM1 až po těhotenství, je riziko vzniku tohoto typu diabetu u jejího dítěte srovnatelné jako u dítěte diabetického otce nebo sourozence diabetického dítěte (4). Tyto údaje logicky vedou k úvahám o původu tohoto rozdílu. Nabízí se možnost, že během prenatálního vývoje dochází k určitému imunomodulačnímu působení, kterým mateřský or-

ganismus ovlivňuje navození tolerance imunitního systému plodu vůči beta buňkám pankreatu.

Tolerance imunitního systému k vlastním strukturám organismu je zajišťována na dvou úrovních. První úroveň je navození centrální tolerance, k jejímuž nastavení dochází v centrálních orgánech imunitního systému (pozn. - T lymfocyty se vyvíjejí v thymu a B lymfocyty v kostní dřeni). Z populace T lymfocytů jsou v tomto procesu v thymu odstraňovány ty, které váží příliš silně nebo slabě vlastní peptidové sekvence prezentované na MHC molekulách. Tato selekce zaručuje eliminaci potenciálně autoreaktivních buněk. K tomuto účelu dochází v thymu, ve speciálních stromálních buňkách k produkci periferních autoantigenů, tedy proteinů normálně plnicích různorodé funkce mimo thymus. Jedním z typických periferních antigenů je mimo chodem také inzulín. Po následné prezentaci autoantigenů dochází v thymu k tzv. negativní selekci, čili procesu eliminace autoreaktivních T buněk. Druhou úroveň zajišťující autotoleranci je navození periferní tolerance, která je zaměřená na buňky již uvolněné do periferie a má za úkol utlumit či přímo eliminovat potenciálně autoreaktivní lymfocyty, které by přeci jen unikly mechanismům navozujícím centrální toleranci. Na zajištění periferní tolerance se významně podílí i tzv. T regulační buňky (Treg), které mají za úkol bránit rozvoji autoimunitní reakce a to sice svou schopností potlačovat aktivitu jiných efektorových T lymfocytů (5). T regulační buňky, které jsou většinou charakterizovány expresí povrchových znaků CD4<sup>+</sup> (koreceptor) a CD25<sup>+</sup> (alfa řetězec receptoru pro interleukin 2) a jaderného transkripčního faktoru FoxP3, jsou velmi zájímavá a intenzivně studovaná skupina T lymfocytů. Jejich významný vliv byl pozorován nejen u autoimunitních onemocnění, ale poruchy na jejich úrovni se mohou uplatňovat např. i při vzniku nádorových onemocnění. Snížený počet (případně narušená funkce) Tregs byla prokázána například u systémového lupusu, roztroušené sklerózy nebo právě DM1 (6,7). Lidé, kteří nejsou schopni produkovat funkční T regulační buňky, vyvíjejí závažný syndrom IPEX (immunodysregulation polyendocrinopathy entero-

pathy X-linked syndrome) (8). Schopnost Tregs kontrolovat imunitní odpověď se podílí i na navození fetu-maternální tolerance v průběhu těhotenství (9). Existují i další skupiny buněk, které na periférii mají imunoregulační funkci. Jejich výčet navíc jistě ještě není konečný, ale pro přehlednost se dále v článku budeme zabývat výlučně výše charakterizovanou skupinou buněk, která bezesporu patří z hlediska zajištění periferní autotolerance k nejdůležitějším.

### Materiál a metody

Analyzováno bylo celkem 76 vzorků pupečnickové krve. Z toho 17 vzorků bylo od DM1 matek, 17 vzorků od matek s jinou formou diabetu (GDM nebo DM2, všechny na inzulinoterapii) a 42 vzorků bylo získáno od zdravých matek (ZK). Do souboru byly zařazeny pouze matky, které porodily po ukončeném 35. týdnu gestace a neprodělaly žádné závažnější komplikace. Zastoupení císařských řezů v jednotlivých skupinách a věky matek jsou uvedeny v **Tab. 1** níže. Medián glykovaných hemoglobinů matek byl dle IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) v 1. trimestru 4,6 (4,3–6,3) %, v druhém trimestru 4,4 (3,4–5,6) % a v třetím trimestru 4,9 (3,5–7,6) %.

**Tab. 1** Charakteristika souboru

	Děti zdravých matek	Děti matek s GDM nebo DM2	Děti matek s DM1
Počet pupečnickových krví (N)	42	17	17
Věk matek (průměr ± sd)	31,24 ± 3,19	34,5 ± 1,79	29,14 ± 1,84
Porod	Vaginální	13	9
	Císařský řez	9	4

Všechny matky podepsaly informovaný souhlas se studií schválený místně příslušnou etickou komisí. Mononukleární buňky pupečnickové krve byly do 24 hodin po odběru izolovány hustotní gradientovou centrifugací na ficollu (Ficoll-Paque PREMIUM, GE Healthcare, Fairfield, USA). Ke značení pro průtokovou cytometrii byly použity následující protilátky za použití postupu doporučeného výrobcem: CD3 FITC, CD25 PE, CD45 PerCp,

**Tab. 2** Přehled použitých lymfocytárních znaků

lymfocyty	CD45 <sup>+</sup>
T lymfocyty	CD45 <sup>+</sup> , CD3 <sup>+</sup>
pomocné T lymfocyty (Th)	CD45 <sup>+</sup> , CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup>
T regulační lymfocyty (Treg)	CD45 <sup>+</sup> , CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> , CD25 <sup>+</sup> , CD127 <sup>(low/-)</sup>

CD127 APC (vše Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Německo); CD4 Alexa Fluor® 700, CD45RA FITC a CD45RO APC (všechny EXBIO Praha a.s., ČR) a CD71 PE (IMMUNOTECH a.s., Praha, ČR). Vzorky byly měřeny na průtokovém cytometru LSR II (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, USA). K vyhodnocení byl použit program Summit v 4.3. (Dako, Glostrup, Dánsko) a statistická analýza byla provedena v programu SPSS 17.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

### Výsledky

#### Zastoupení T regulačních lymfocytů

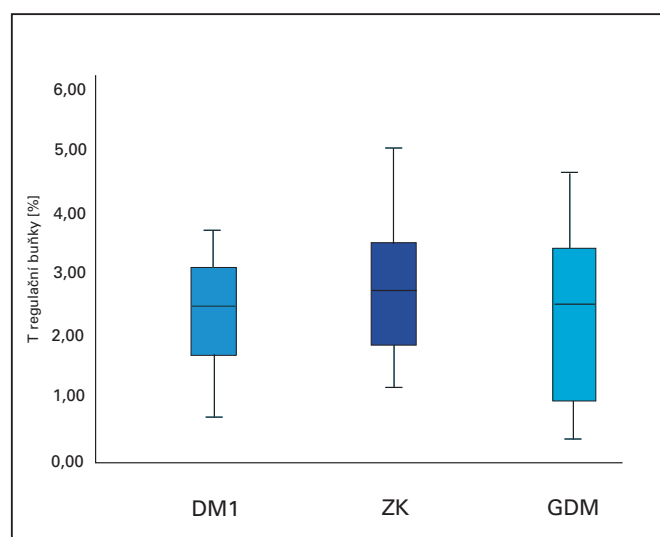
Zastoupení Tregs se nelišilo výrazněji mezi jednotlivými skupinami (zdravé kontroly, matky s DM1 a matky s GDM resp. DM2). U zdravých kontrol činil průměr 2,7 % Tregs z celkového počtu lymfocytů, 2,4 % pro DM1 a 2,3 % pro GDM a DM2 (viz. **Graf 1**).

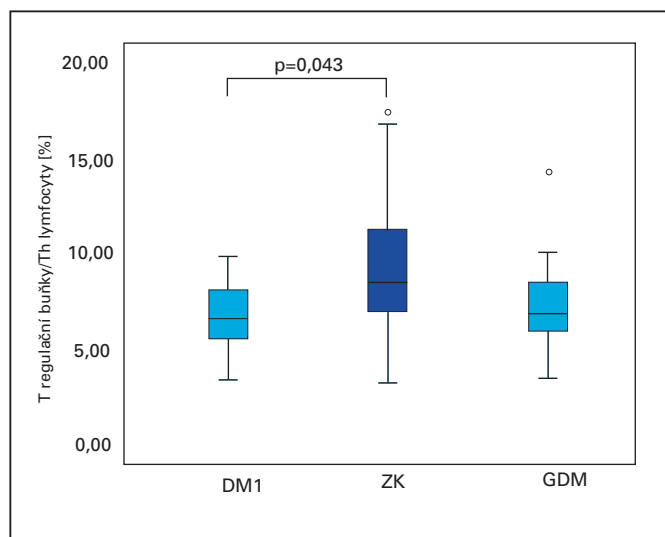
Ani v zastoupení pomocných (Th) lymfocytů (tj. CD45<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> buňky) z celkového počtu lymfocytů (všechny CD45<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> buňky) jsme nenalezli signifikantní rozdíl mezi jednotlivými skupinami.

Pouze při vyjádření Tregs z celkového počtu Th lymfocytů jsme našli signifikantní rozdíl a to ve smyslu mírně sníženého zastoupení Tregs u matek s DM1 vůči zdravým

**Graf 1** Boxplot ukazuje procentuální zastoupení populace T regulačních buněk

(CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>(low/-)</sup>) z celkového počtu lymfocytů (CD45<sup>+</sup>) v jednotlivých skupinách





**Graf 2** Procentuální zastoupení populace T regulačních buněk ( $CD45^+CD3^+CD4^+CD25^+CD127^{low/-}$ ) z Th lymfocytů ( $CD45^+CD3^+CD4^+$ ) v jednotlivých skupinách

kontrolám. Průměrné zastoupení T regulačních buněk z Th lymfocytů bylo 6,7 % u pupečnickové krve matek s DM1 oproti 9,3 % v pupečnickové krvi zdravých matek ( $p = 0,043$ ) (viz **Graf 2**).

Naměřené hodnoty Tregs odpovídaly ve všech skupinách normálnímu rozložení. K ověření, zda zvolené výběry odpovídají normálnímu rozdělení, jsme použili Kolmogorov-Smirnovův test.

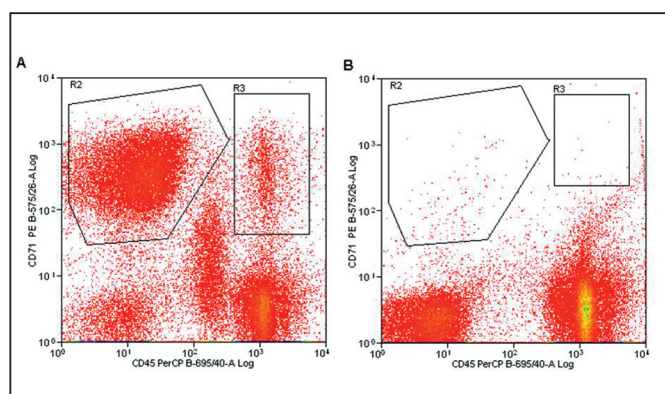
#### Zastoupení paměťových lymfocytů

Při porovnání buněčné populace  $CD4^+CD45RA^+$  (naivní Th buňky) a  $CD4^+CD45RO^+$  (paměťové Th buňky) nebyl přítomen signifikantní rozdíl.

#### Zastoupení erytroblastů

Ve vzorcích pupečnickové krve po separaci mononukleárních buněk gradientovou hustotní centrifugací bylo pozorováno velké množství erytroblastů, čímž se tyto vzorky zásadním způsobem lišily od periferní žilní krve zpracované stejným postupem, která erytroblasty ( $CD45-CD71^+$ ) prakticky neobsahuje (viz **Obr. 1**).

**Obr. 1** Zastoupení erytroblastů ( $CD45-CD71^+$ ) a aktivovaných lymfocytů ( $CD45^+CD71^+$ ) v pupečnickové krvi (A) a periferní krvi (B)



#### Diskuze

T regulační buňky byly studovány hlavně u dospělých pacientů trpících různými autoimunitními chorobami a mezi nimi samozřejmě i diabetem 1. typu. Na rozdíl od mnoha jiných autoimunit je totiž DM1 jasně diagnostikovatelný a jeho výskyt je relativně častý. Navíc je jeho imunopatogeneze poměrně dobře zmapována a DM1 tedy představuje dobrý modelový příklad pro studium imunologických mechanismů podmiňujících vznik autoimunitních chorob. Již realizované studie zaměřené na význam Tregs u DM1 se poněkud liší ve svých závěrech. Závěry se rozcházejí v tom, zda se jedná u pacientů s DM1 o deficit hlavně početní (7,10) či pouze o funkční abnormality Tregs (11). Otázkou ovšem je, zda tato diskrepance ve výsledcích není dána odlišným designem studií (porovnávání různě starých osob s různou délkou trvání diabetu apod.) (12). Výsledky dosud provedených studií zaměřených na problematiku Tregs u pacientů s DM1 (a to včetně našich vlastních výsledků) však v každém případě ukazují, že T regulační buňky hrají roli při vzniku DM1 (7,11). Pokud se tedy jejich snížené množství či porucha funkce podílí na rozvoji DM1, pak jejich zvýšené množství či zvýšení aktivity by mohly mít naopak efekt ochranný.

V této souvislosti se nabízí velmi zajímavá otázka, zda by právě Tregs mohly být oním klíčovým faktorem, který by uspokojivě vysvětlil nižší výskyt DM1 u potomků diabetických matek ve srovnání s ostatními skupinami prvostupňových příbuzných DM1 pacientů. Přestože tento jev (nižší výskyt DM1 u potomků matek s touto chorobou) je velmi dobře popsán, je zajímavé, že problematika Tregs u těchto dětí nebyla dosud příliš důkladně studována. K tomuto tématu existuje de facto jen jedna validní studie švédské skupiny Holma a kol. (13). Na souboru matek s DM1 zkoumala tato skupina odraz diabetu matky v pupečnickové krvi jejího dítěte. Nejzajímavějším výsledkem byl právě nález zvýšeného počtu Tregs v pupečnickové krvi dětí matek s DM1. Rozhodli jsme se proto toto pozorování ověřit u našich pacientek. V našich výsledcích se však zvýšený počet Tregs nepotvrdil. Na rozdíl od Holmovy studie jsme se pokusili definovat populaci T regulačních buněk přesněji. Švédská skupina charakterizovala Tregs pomocí kombinace povrchových znaků  $CD4^+$  a  $CD25^+$ . My jsme používali ještě další marker a to povrchový znak  $CD127^{low/-}$ , který inverzně koreluje se znakem FOXP3 (14,15).

Dále je potřeba komentovat velikost studovaného souboru a to v našem i ve švédském případě. Porody žen s DM1 nejsou sice výjimečnou záležitostí, ale přesto není zcela jednoduché vyšetřit opravdu reprezentativní počet vzorků. S větší frekvencí než u zdravých žen se vyskytují komplikace těhotenství a určité procento vzorků není možné tudíž použít z důvodu nízkého gestačního věku dítěte či kvůli dalším okolnostem, které by mohly významně zkreslit následné hodnocení. S tímto problémem se potýkala nejen švédská skupina, ale i my v naší práci a tudíž v obou případech je počet vzorků limitovaný. Tregs se podílejí na udržení fetu-maternální tolerance a proto jsme nepřijímali do studie vzorky od žen, které porodily před 35. týdnem (imunitní systém by zde navíc byl ještě značně nezralý). Tento problém byl tedy společný oběma studiím, ale námi sledovaná skupina se mohla lišit od švédské v některých dalších aspektech. Hlavní otázka je, zda kompenzace diabetu žen v obou studiích byla srov-

natelná, protože neznáme kompletní švédská diabetologická data. Právě kompenzace diabetu přitom mohla hrát důležitou roli. Sama hyperglykémie ovlivňuje imunitní systém matky a to se může odrážet v pupečnickové krvi dítěte. V naší předchozí studii zaměřené na analýzu reaktivity mononukleárních buněk pupečnickové krve vůči diabetogenním autoantigenům jsme prokázali vliv glykémie a kompenzace diabetu matky na výsledky (16).

Nezanedbatelný je i fakt, že imunitní systém je reaktivnější v době manifestace diabetu a ještě nějakou dobu poté. V různém a individuálně odlišném časovém odstupu od manifestace DM1 agresivita reakce imunitního systému klesá a může tedy pravděpodobně docházet k rozdílné transplacentární stimulaci imunitního systému plodu. V našem souboru jsme sice korelaci mezi Tregs a dobou trvání diabetu před těhotenstvím nepozorovali, ale tento výsledek zřejmě nelze vzhledem k velikosti studovaného souboru považovat za průkazný.

Další otázkou je, co je efekt „diabetu“ (míněno hyperglykémie) a co vlastního autoimunitně laděného mateřského prostředí v případě žen s DM1. Z tohoto důvodu byly do studie zařazeny i matky s jinými formami diabetu (GDM a DM2), ale nepozorovali jsme podstatný vliv typu diabetu matky na výsledky. Švédská skupina našla rozdíl v počtu Tregs v pupečnicích dětí pacientek s DM1 v porovnání jak se zdravými kontrolami tak s GDM. O poměru mezi GDM a zdravými kontrolami se nevyjadřují. Předpokládáme tedy, že ani oni signifikantní rozdíl nenalezli (13).

Naše výsledky (tj. zkonstatování, že není rozdíl mezi koncentrací Tregs v pupečnickové krvi zdravých a diabetických matek) částečně ovšem podporuje i studie Svenssona a kol., která stanovovala Tregs v pupečnickové krvi matek trpících autoimunitní thyreoiditidou. Tato skupina také nenalezla signifikantní rozdíl mezi pupečnickovými krvemi žen trpících touto autoimunitní chorobou a zdravými kontrolami (17).

Náš výzkum byl přínosný i v tom, že jsme ověřili použitelnost některých imunologických metod pro práci s pupečnickovou krví. Jednotlivé vzorky pupečnickové krve se od sebe velmi liší a naprosto zásadně se hlavně odlišují od periferní krve, na práci s níž je většina metod validována. Ačkoliv naše pacientky byly poměrně dobře kompenzované, jistě nebyly vždy zcela normoglykemické a vliv hyperglykemií byl jasně patrný na zvýšeném zastoupení erytroblastů v pupečnickové krvi, který, jak již bylo uvedeno, následné zpracování vzorků znesnadňoval. Plod vystavený hyperglykémii je ovlivněn v důsledku aktivace kompenzačních mechanismů dalšími stresovými faktory a děti matek s diabetem například častěji trpí hypoxií a dochází u nich k excesivnímu vyplavování erytroblastů (18). Erytroblasty, jako jaderné buňky, nelze dostatečně účinně odstranit standardně používanou hustotní gradientovou centrifugací na ficollu a kontaminují proto vzorek mononukleárních buněk.

Dalším naprosto zásadním faktorem ovlivňujícím imunitní systém novorozence je akutní stres způsobený porodem a tím, co mu předcházelo. Jednotlivé porody se od sebe liší a není tedy možné zohlednit všechny faktory, které mohou plod ovlivnit (např. délku a náročnost porodu, Apgar skóre novorozence a jeho antropometrická data). Diabetičky navíc rodí častěji císařským řezem (CS) než zdravé ženy, a proto jsme porovnávali výsledky císařských řezů proti vaginálním porodům. Nicméně výraznější rozdíl jsme však mezi CS a vaginálními porody nenalezli.

Pokud se nepotvrdí ani změněná funkčnost Tregs v pupečnickové krvi diabetických matek, můžeme uvažovat ještě mnohé imunitní změny, které by mohly být příčinou případného navození imunotolerance u dítěte matky s DM1. Studovány jsou v souvislosti s autoimunitními chorobami například antigen prezentující dendritické buňky (19) nebo tzv. přirození zabíječi (NK buňky) (20). To by mělo být předmětem dalšího výzkumu stejně tak jako pokus o funkční studii, kdy je ale potřeba nejprve vyřešit výše nastíněné technické problémy dané např. vyšší koncentrací erytroblastů.

## Závěr

Naše výsledky ukazují, že navození případné tolerance u dětí diabetických matek vůči diabetogenním stimulům pravděpodobně není způsobeno zvýšeným počtem Tregs. Je ovšem možné, že jsou přítomny jejich funkční odchylky, které by mohly vysvětlovat nižší výskyt diabetu u dětí matek s DM1 ve srovnání s ostatními skupinami prvostupňových příbuzných DM1 pacientů. Otevírají se i další otázky - např. zda by se jednalo o povšechné zvýšení funkce T regulačních lymfocytů nebo pouze o specificky vyšší toleranci vůči strukturám pankreatických beta buněk. Přínos vysvětlení mechanismu, kterým je sníženo riziko rozvoje diabetu u dětí diabetických matek, by byl velký. Toto poznání by mohlo přispět k vývoji imunointervence, která by de facto kopírovala fyziologické autotoleranční mechanismy.

## Literatura

1. Cinek O. Molekulární epidemiologie dětského diabetu 1. typu, 2010. <http://www.lmg.cz/cteni/cteni15.pdf>
2. Cinek O, Šumník Z, Vavřínek J. Continuing increase in incidence of childhood-onset type 1 diabetes in the Czech Republic 1990-2001. *Eur J Pediatr.* 2003 Jun;162(6):428-9
3. [www.uzis.cz](http://www.uzis.cz). Péče o nemocné cukrovkou 2010. <http://www.uzis.cz/katalog/zdravotnicka-statistika/pece-nemocne-cukrovkou>
4. Warram JH, Krolewski AS, Gottlieb MS, Kahn CR. Differences in risk of insulin-dependent diabetes in offspring of diabetic mothers and diabetic fathers. *N Engl J Med.* 1984 Jul 19;311(3):149-52
5. Hořejší V. Základy imunologie. 4. vyd. Praha: Triton, 2009. 316 s.
6. Lourenço EV, La Cava A. Natural regulatory T cells in autoimmunity. *Autoimmunity.* 2011 Feb;44(1):33-42. Epub 2010 Nov 23. Review
7. Vrabelova Z, Hrotekova Z, Hladikova Z, Bohmova K, Stechova K, Michalek J. CD 127- and FoxP3+ expression on CD25+CD4+ T regulatory cells upon specific diabetogeneic stimulation in high-risk relatives of type 1 diabetes mellitus patients. *Scand J Immunol.* 2008 Apr;67(4):404-10. Epub 2008 Feb 1
8. Van der Vliet HJ, Nieuwenhuis EE. IPEX as a result of mutations in FOXP3. *Clin Dev Immunol.* 2007;2007:89017. Review
9. Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol.* 2010 Jul;10(7):490-500. Epub 2010 Jun 18. Review
10. Michalek J, Vrabelova Z, Hrotekova Z, Kyr M, Pejchlova M, Kolouskova S, Faresjö M, Stechova K. Im-

- immune regulatory T cells in siblings of children suffering from type 1 diabetes mellitus. *Scand J Immunol*. 2006 Nov;64(5):531-5
11. Lindley S, Dayan CM, Bishop A, Roep BO, Peakman M, Tree TI. Defective suppressor function in CD4(+)CD25(+) T-cells from patients with type 1 diabetes. *Diabetes*. 2005 Jan;54(1):92-9
  12. Santner-Nanan B, Seddiki N, Zhu E, Quent V, Kelleher A, Fazekas de St Groth B, Nanan R. Accelerated age-dependent transition of human regulatory T cells to effector memory phenotype. *Int Immunol*. 2008 Mar;20(3):375-83. Epub 2008 Jan 14
  13. Holm BC, Svensson J, Akesson C, Arvastsson J, Ljungberg J, Lynch K, Ivarsson SA, Lernmark A, Cilio CM; Diabetes Prediction Study in Skåne (DiPiS). Evidence for immunological priming and increased frequency of CD4+ CD25+ cord blood T cells in children born to mothers with type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2006 Dec;146(3):493-502
  14. Stechova K, Spalova I, Durilova M, Bartaskova D, Cerny M, Cerna M, Pithova P, Chudoba D, Stavikova V, Ulmannova T, Faresjö M. Influence of maternal hyperglycaemia on cord blood mononuclear cells in response to diabetes-associated autoantigens. *Scand J Immunol*. 2009 Aug;70(2):149-58
  15. Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S, Gottlieb PA, Kapranov P, Gingeras TR, Fazekas de St Groth B, Clayberger C, Soper DM, Ziegler SF, Bluestone JA. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J Exp Med*. 2006 Jul 10;203(7):1701-11
  16. Seddiki N, Santner-Nanan B, Martinson J, Zaunders J, Sasson S, Landay A, Solomon M, Selby W, Alexander SI, Nanan R, Kelleher A, Fazekas de St Groth B. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J Exp Med*. 2006 Jul 10;203(7):1693-700
  17. Svensson J, Oderup C, Akesson C, Uvebrant K, Hallengren B, Ericsson UB, Arvastsson J, Danska JS, Lantz M, Cilio CM. Maternal autoimmune thyroid disease and the fetal immune system. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011 Jul;119(7):445-50
  18. Jabor A, a kol. Vnitřní prostředí. 1. vyd. Praha: Grada, 2008. 560 s.
  19. Calderon B, Unanue ER. Antigen presentation events in autoimmune diabetes. *Curr Opin Immunol*. 2012 Feb;24(1):119-28. Epub 2011 Dec 15
  20. Shi FD, Zhou Q. Natural killer cells as indispensable players and therapeutic targets in autoimmunity. *Autoimmunity*. 2011 Feb;44(1):3-10. Epub 2010 Aug 11. Review
- Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN Motol).*