

STRESZCZENIE

Jednym z najistotniejszych problemów współczesnej farmakoterapii cukrzycy jest zagadnienie pośredniego i bezpośredniego oddziaływania leków stosowanych w leczeniu tego schorzenia na rozwój przewlekłych powikłań cukrzycy, zwłaszcza powstających na podłożu makroangiopatii, stanowiących jakże częstą przyczynę zgonów wśród chorych na cukrzycę. Dapagliflozyna jest lekiem przeciwcukrzycowym stosunkowo niedawno wprowadzonym do lecznictwa. Jej wpływ, zarówno bezpośredni na rozwój przewlekłych powikłań cukrzycy, jak i na progresję insulinoporności obwodowej czy też dysfunkcji komórek β wysp trzustki nie został jeszcze jednoznacznie wyjaśniony. Dane epidemiologiczne i wyniki badań klinicznych sugerują, że stosowanie tego leku może korzystnie oddziaływać zmieniając istotnie przebieg choroby.

Z tego powodu głównym celem badań, których wyniki przedstawiono w niniejszej dysertacji była ocena bezpośredniego i pośredniego potencjalnego działania dapagliflozyny na wczesne fazy rozwoju powikłań w układzie sercowo-naczyniowym, na podstawie rezultatów eksperymentu na zwierzętach laboratoryjnych. Dla przeprowadzenia analizy wybrano zarówno czynniki charakteryzujące wczesne etapy zmian zachodzących w ścianach naczyń tętniczych oraz w mięśniu sercowym pod wpływem cukrzycy typu 2, a także czynniki związane z ryzykiem rozwoju insulinoporności obwodowej – wątrobowej i w mięśniach szkieletowych. Oceniano: 1) ekspresję czynników związanych ze śródbłonkowym czynnikiem wzrostu naczyń (VEGF) – jego stężenie w surowicy oraz ekspresję mRNA dla VEGF w poszczególnych tkankach, a także ekspresję mRNA dla podtypów 1 i 2 receptora dla śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń; 2) dystrybucję progenitorowych komórek śródbłonka (c-EPC) oraz komórek śródbłonka (c-EC) we krwi; 3) ekspresję czynników związanych z transformującym czynnikiem wzrostu β (TGF- β) – jego stężenie w surowicy oraz ekspresję mRNA dla TGF- β 1 w poszczególnych tkankach; 4) ekspresję sirtuiny 1 w poszczególnych tkankach. Uzupełniającym celem badań była próba wskazania mechanizmu działania dapagliflozyny w mięśniu sercowym, w ścianie aorty, w wątrobie oraz w mięśniach szkieletowych, a dla jego realizacji przeprowadzono analizę dystrybucji kontrtransportera sodowo-glukozowego 2 w tych tkankach.

Doświadczenie przeprowadzono na 39 szczurach rasy Wistar, przydzielonych losowo do jednej z trzech grup: D – zwierząt, u których wyindukowano cukrzycę typu 2 i podawano dapagliflozynę; C – zwierząt, u których wyindukowano cukrzycę typu 2 i podawano *placebo*; K – zwierząt stanowiących grupę kontrolną bez cukrzycy, którym podawano *placebo*. Eksperyment główny trwał 8 tygodni. W tym czasie zwierzętom z grupy D podawano dożołądkowo dapagliflozynę (1 mg/kg m.c.), a pozostałym zwierzętom równoważną objętość *placebo*. W dniu zakończenia eksperymentu

pobrano krew i tkanki: mięsień sercowy, ścianę aorty, mięszs wątroby, mięsień szkieletowy. Pomiaru glikemii u szczurów dokonano z użyciem glukometru. Stężenie HbA_{1c} oznaczono metodą immuno-turbidymetryczną, Stężenie insuliny, peptydu C, VEGF, TGF-β1 w surowicy oznaczono metodą immunoenzymatyczną. Względną ekspresję mRNA dla VEGF, VEGF-R1, VEGF-R2 oraz dla TGF-β1 w tkankach oznaczono stosując reakcję łańcuchową polimerazy DNA z detekcją fluorescencji w czasie rzeczywistym. Oznaczanie ekspresji białek sirtuiny 1 i kotransportera sodowo-glukozowego 2 (SGLT2) w tkankach przeprowadzono metodą *Western blot*. Oznaczenia odsetka krążących komórek śródbłónka i krążących komórek progenitorowych śródbłónka dokonano metodą cytometrii przepływowej.

Ekspresja mRNA dla VEGF w mięśniu sercowym w grupie otrzymującej dapagliflozynę była podobna do obserwowanej w grupie bez cukrzycy, a u zwierząt z cukrzycą otrzymujących *placebo* była znacznie niższa w porównaniu do pozostałych grup. Ekspresja mRNA dla VEGFR-2 w tej samej tkance była znacznie wyższa w grupie otrzymującej dapagliflozynę w porównaniu do pozostałych grup. W wątrobie, ekspresja mRNA dla VEGF-R1 w grupie otrzymującej dapagliflozynę była znacząco wyższa w porównaniu do grupy C, jak i do K. Ekspresja mRNA dla TGF-β1 w mięśniu sercowym oraz w wątrobie była zbliżona w grupach D i K i znacznie niższa w obu tych grupach niż w grupie C. W wątrobie ekspresja sirtuiny 1 w grupie otrzymującej dapagliflozynę była porównywalna z grupą bez cukrzycy, a w grupie z cukrzycą otrzymującej *placebo* była ona znacznie niższa. Odsetek cEPC w grupie D był znacznie wyższy w porównaniu do grupy C, jak również w porównaniu do grupy K. Liczebność cEC w grupie otrzymującej dapagliflozynę była niższa niż w grupie z cukrzycą otrzymującej *placebo* i porównywalna z obserwowaną w grupie bez cukrzycy. Ekspresja SGLT2 w miokardium i w wątrobie była znacznie wyższa w porównaniu do ekspresji SGLT2 w aorcie, jak też w mięśniu szkieletowym.

Wnioski: 1) dapagliflozyna może wywierać korzystny, proangiogeny wpływ w obrębie mięśnia sercowego u zwierząt z cukrzycą; 2) dapagliflozyna normalizuje ekspresję mRNA dla TGF-β1 w mięśniu sercowym, potencjalnie zapobiegając jego zwłóknieniu; 3) dapagliflozyna koryguje wywołane cukrzycą zaburzenia funkcji śródbłónka oceniane na podstawie liczebności krążących progenitorowych komórek śródbłónka i krążących komórek śródbłónka; 4) w wątrobie, dapagliflozyna zwiększając ekspresję mRNA dla VEGF-R1 może przyczyniać się do zwiększenia zdolności regeneracji hepatocytów; 5) poprzez modyfikację ekspresji mRNA dla TGF-β1 oraz ekspresji sirtuiny 1 w wątrobie dapagliflozyna może ograniczać wywołane cukrzycą procesy stłuszczenia i włóknienia wątroby; 6) dapagliflozyna nie wywiera znaczącego wpływu na podstawową czynność komórek β wysp trzustki, aczkolwiek prawidłowe funkcjonowanie komórek β może mieć znaczenie dla niektó-

rych efektów działania dapagliflozyny w tkankach; 7) prawdopodobny mechanizm działania dapagliflozyny w obrębie mięśnia sercowego i wątroby jest związany z inhibicją SGLT2 w tych tkankach; 8) nie zaobserwowano znamiennej zmiany wpływu dapagliflozyny na czynniki związane z patomechanizmem przewlekłych powikłań cukrzycy w obrębie ściany naczyń tętniczych i mięśni szkieletowych.

01.10.2018r.
A. Stelmach