

## SOUHRN

SDN vzniká na základě komplexu patofyziologických pochodů, které nalézáme u pacientů s pozdními komplikacemi diabetu, významně zvyšuje morbiditu i mortalitu nemocných a výrazně zhoršuje kvalitu života těchto pacientů.

Téma dizertační práce, imunologické abnormality a infekční komplikace u pacientů se SDN a terapie SDN odlehčením, bylo dále rozděleno do 3 celků:

- abnormality imunitních funkcí ve vztahu k diabetu a jeho komplikacím, zejména SDN
- infekční komplikace SDN
- terapie SDN odlehčením.

Problematika poruch imunitních funkcí ve vztahu k diabetu a SDN byla řešena v 5 studiích, infekční komplikace SDN ve 3 studiích a terapie SDN odlehčením rovněž ve 3 studiích.

### **Abnormality imunitních funkcí ve vztahu k diabetu a jeho komplikacím, zejména SDN**

První studie se zabývala efektem akutní hyperglykémie a/nebo hyperinzulinémie na funkce PMN buněk u zdravých osob. Cílem studie bylo posoudit účinek krátkodobých akutních metabolických změn na fagocytózu a oxidativní vzplanutí PMN buněk in vivo u zdravých dobrovolníků. Akutní hyperglykémie a/nebo hyperinzulinémie byly navozeny třemi clampovými studiemi- HHC, HEC a HGC s endogenní blokadou sekrece inzulinu somatostatinem. PMN fagocytóza a oxidativní vzplanutí byly stanoveny průtokovou cytometrií za bazálních podmínek a po stimulaci E.coli. Výsledky nalezené během clampových studií byly porovnány s daty získanými během kontrolního clampu. Imunitní funkce PMN buněk nebyly podstatně ovlivněny krátkodobou hyperglykémií a/nebo hyperinzulinémií u zdravých dobrovolníků v porovnání s kontrolním clampem.

Druhá studie byla zaměřena na zjištění možných abnormalit PMN funkcí způsobených krátkodobými metabolickými změnami navozenými in vivo u pacientů s diabetes mellitus 1.typu. Akutní hyperglykémie a hyperinzulinémie byly indukovány čtyřhodinovým HHC. Stanovení PMN funkcí bylo provedeno obdobně jako ve studii 1. Indexy oxidativního vzplanutí detekované po stimulaci E.coli a všechny fagocytární indexy se významně nelišily během HHC oproti kontrolnímu clampu. Krátkodobá hyperglykémie s hyperinzulinémií indukovaná in vivo u pacientů s diabetes mellitus 1.typu neovlivnila významně imunitní funkce PMN buněk.

Následující dvě studie zkoumaly potenciální vliv dekompenzace diabetu a chronického zánětu u pacientů se SDN na funkce nespecifického i specifického imunitního systému.

Mezi pacienty se SDN a zdravými dobrovolníky nebyly nalezeny významné rozdíly oxidativního vzplanutí PMN buněk detekované za bazálních a stimulovaných podmínek, pouze procento fagocytujících PMN buněk detekované po stimulaci E.coli bylo u nemocných se SDN významně nižší v porovnání se zdravými kontrolami.

U pacientů se SDN byly nalezeny významně vyšší hodnoty markerů zánětu (CRP, počet leukocytů a neutrofilů) ve srovnání se zdravými kontrolami, avšak toto zvýšení bylo ve většině případů v rámci normy nebo jen lehce nad normou. Z imunologických abnormalit byly nalezeny u pacientů se SDN vyšší procento cytotoxických (CD8+) T-lymfocytů a nižší imunoregulační index, který pozitivně koreloval s HbA1c. U diabetiků se SDN byly prokázány také významně vyšší hladiny IgA, IgG a CIK, zatímco hodnoty IgM, C3 a C4 složek komplementu se významně nelišily od hodnot zdravých dobrovolníků.

V páté studii jsme posuzovali změny mikronutrientů a jejich možný vliv na nespecifický imunitní systém u pacientů se SDN. Významně redukováné hladiny vitamínu C byly nalezeny u pacientů se SDN oproti pacientům s diabetem 2.typu bez komplikací a zdravým kontrolám. Významně vyšší hladiny Cu a nižší hladiny Mg byly prokázány u obou skupin diabetiků při porovnání se zdravými kontrolami. Sérové hladiny ostatních

mikronutrientů (vitamín E, jeho izomery, Zn a Fe) se signifikantně nelišily mezi sledovanými skupinami. Ze sledovaných mikronutrientů signifikantně korelovaly s parametry oxidativního vzplanutí PMN buněk u všech subjektů pouze Cu a Mg.

### **Infekční komplikace SDN**

V šesté studii jsme se zabývali infekčními komplikacemi u různých skupin pacientů se SDN. Cílem bylo zjistit možné rozdíly ve výskytu mikrobiálních agens v diabetických ulceracích a rozdíly jejich ATB rezistence mezi transplantovanými, dialyzovanými a ostatními pacienty se SDN. Výskyt jednotlivým mikrobiálních agens se významně nelišil mezi studovanými skupinami, avšak sledované skupiny pacientů se signifikantně lišily ve výskytu bakteriální ATB rezistence. Transplantovaní pacienti měli signifikantně více kmenů stafylokoků rezistentních k oxacilinu, imipenemu, kotrimoxazolu a erytromycinu a enterokoků rezistentních k ampicilinu, piperacilinu a ticarcilin/kys.klavulanové v porovnání s ostatními skupinami. Pseudomonádové bakterie byly rezistentnější k piperacilinu a cefpiromu u dialyzovaných nemocných se SDN oproti zbylým dvěma skupinám.

Cílem sedmé studie bylo zjistit, zda rezistence k perorálním ATB může být riziková pro výskyt amputací. Do studie byli konsekutivně zařazeni všichni pacienti léčení během 1 roku v podiatrické ambulanci IKEM pro diabetické ulcerace a měli alespoň jeden pozitivní stěr z rány. V postupné regresní analýze byla spolu s OM a ICHDK signifikantním rizikovým faktorem rezistence k perorálním ATB, její asociace s amputacemi byla signifikantní zejména u nemocných bez OM.

Mykotická agens mohou přispět ke vzniku diabetických ulcerací a mohou zpomalit proces jejich hojení. Cílem osmé studie bylo zpřesnit diagnostiku mykóz u pacientů se SDN. Byly porovnány výskyty mykotických agens z oblasti hyperkeratóz a spodin ulcerací, shoda mikroskopických a kultivačních vyšetření mykóz a kultivační mykotické nálezy z hyperkeratóz a spodin ulcerací. Kultivační a mikroskopické nálezy si u pacientů neodpovídaly, konkordance kultivačních nálezů mykóz z ulcerací a z hyperkeratóz u téhož pacienta byla pouze 56%.

### **Terapie SDN odlehčením**

Jedním z faktorů přispívajícím k hojení SDN je vhodně zvolená metoda odlehčení dolních končetin. Cílem deváté studie bylo zhodnotit účinnost léčby SDN pomocí r-TCC u pacientů s neuropatickými ulceracemi, akutní ChaO a neuropatickými frakturami. Signifikantně kratší dobu se hojili nemocní s neuropatickými frakturami oproti zbylým dvěma skupinám, rovněž počet zhojených pacientů byl v této skupině nejvyšší. Terapie pomocí r-TCC byla ale úspěšná i u pacientů s neuropatickými ulceracemi (došlo ke zmenšení ulcerací) a s akutní CHaO (došlo k redukci aktivity onemocnění).

Cílem desáté studie bylo stanovit četnost komplikací léčby r-TCC a sledovat vliv TCC na hojení OM a na riziko rozvoje nové OM u pacientů se SDN. Nejčastějšími komplikacemi terapie r-TCC byly technické komplikace a rozvoj nové otlakové ulcerace. Progrese lokálního nálezu byla nalezena u 17% nemocných léčených r-TCC. Ostatní komplikace včetně mykotické infekce a bolestí kloubů se vyskytovaly jen zřídka. Počet pacientů se zhojenou OM byl signifikantně vyšší v porovnání s počtem nemocných s nově rozvinutou OM. Pacienti s nezhojenou OM byli charakterizováni zejména lokalizací OM v tarzálních kostech a pacienti s nově vzniklou OM hlubšími ulceracemi infikovanými rezistentními patogeny.

Cílem jedenácté studie bylo porovnat terapii odlehčením pomocí r-TCC a speciální ortézy RCW. Signifikantně vyšší počet zhojených pacientů s OM a nižší počet nemocných s nově rozvinutou OM byl nalezen u pacientů léčených r-TCC oproti nemocným léčeným RCW. Risk/benefit ratio byl signifikantně nižší u nemocných léčených r-TCC oproti nemocným léčeným RCW.

### **Závěrem můžeme shrnout:**

**Abnormality imunitních funkcí ve vztahu k diabetu a jeho komplikacím, zejména SDN**

Akutně navozená hyperglykémie a/nebo hyperinzulinémie během clampových studií neovlivnily významně funkce nespecifického imunitního systému ani u zdravých dobrovolníků, ani u pacientů s diabetes mellitus 1. typu.

Tento model korespondoval lépe s reálnými podmínkami u pacientů s diabetes mellitus nežli dosud publikované in vitro testy.

*Pacienti s chronickou infekcí při SDN měli z hlediska imunitních funkcí:*

- Mírně snížené procento fagocytujících PMN buněk po stimulaci E.coli ve srovnání se zdravými kontrolami.
- Signifikantně vyšší hladiny IgA a IgG ve srovnání se zdravými kontrolami.
- Vyšší počet CD8+T-lymfocytů a signifikantně nižší imunoregulační index ve srovnání se zdravými kontrolami.
- Pouze mírnou elevaci typických zánětlivých markerů (CRP a leukocytů), v 69% a 83% v rámci normy.

Na podkladě těchto nálezů je možné předpokládat, že aktivace imunitního systému a zánětlivá reakce u těchto pacientů není dostatečná, přestože nebyly zjištěny významnější imunodeficity.

*Pacienti s chronickou infekcí při SDN měli následující změny mikronutrientů spojených s imunitními funkcemi:*

- Signifikantně nižší hladinu vitamínu C v porovnání se zdravými kontrolami a pacienty s diabetem 2. typu bez pozdních komplikací.
- Signifikantně vyšší hladiny Cu a nižší hladiny Mg v porovnání se zdravými kontrolami. Tytéž nálezy byly přítomny i u pacientů s diabetes mellitus 2. typu bez pozdních komplikací.

Tyto změny mohou mít vztah k imunitním funkcím především ve smyslu ovlivnění redox potenciálu, diferenciaci imunitních buněk a produkce ROI.

### **Infekční komplikace SDN**

Byl nalezen vyšší výskyt mikrobiální ATB rezistence, především u transplantovaných pacientů ve srovnání s dialyzovanými a ostatními nemocnými se SDN. Na základě těchto nálezů je možné modifikovat empirickou ATB terapii u rizikových skupin nemocných se SDN.

U pacientů se SDN byly posouzeny rizikové faktory pro amputace dolních končetin – dle regresní analýzy k nim patřily nejen OM a ICHDK, ale také mikrobiální rezistence k perorálním ATB. Proto doporučujeme tento fakt vzít v úvahu a ATB terapii provádět zejména u rizikových skupin nemocných dostatečně účinně.

Nebyla prokázána shoda mikroskopických a kultivačních mykotických nálezů z hyperkeratóz a z diabetických ulcerací. Kultivační nálezy ze vzorků z hyperkeratóz a z ulcerací byly u téhož pacienta odlišné.

Proto doporučujeme provádět ke stanovení mykotických agens u SDN kultivační vyšetření spíše než mikroskopické a vyšetřovat jak vzorky z ulcerace, tak vzorky z jejího okolí.

### **Terapie SDN odlehčením**

Potvrdili jsme dobrý efekt terapie speciální kontaktní fixací (r-TCC), především u pacientů s neuropatickými frakturami, ale i u pacientů s ChaO a diabetickými ulceracemi. Během studie jsme zjistili poměrně vysoký počet především technických komplikací, proto jsme původní metodu modifikovali.

Na rozdíl od „tradičních indikací“ jsme ověřili, že lze tuto metodu úspěšně použít i u pacientů s OM, jelikož benefit této terapie je vyšší nežli riziko rozvoje nové OM u pacientů se SDN, ovšem za předpokladu jejich pečlivé kontroly (! OM v tarzálních kostech a ulcerace W3 infikované multirezistentními patogeny).

U pacientů s OM se jeví pro léčbu odlehčením vhodnější použití r-TCC než-li speciální ortézy RCW.

Výsledky dizertační práce přispěly jak k objasnění některých patogenetických souvislostí SDN, především v oblasti imunologických poruch a infekce, tak ke zlepšení terapie především v oblasti speciálních forem odlehčovacích metod. Prioritou je zejména posouzení akutního vlivu hyperglykémie a hyperinzulinémie in vivo na imunologické parametry, zjištění souvislostí ATB rezistence s komplikacemi SDN a možnou modifikací empirické terapie, zejména u rizikových skupin nemocných a zavedení metody odlehčení pomocí r-TCC v České republice.