

## Abstrakt

Lokální produkce reaktivních forem kyslíku (ROS, z angl. *reactive oxygen species*) a změny v oxidačně-redukčním prostředí mají vliv na metabolismus a funkci  $\beta$  buněk Langerhansových ostrůvků (LO). Změna poměru mezi redoxními partnery NAD(P)H/NAD(P)<sup>+</sup> významně ovlivňuje citlivé proteiny a tvorbu ROS. ROS jsou schopné reversibilně modifikovat některé aminokyselinové zbytky (např. Cys, Met) antioxidantních enzymů a jejich interakčních partnerů. Takováto signální kaskáda umožňuje přenos signálu na delší vzdálenosti a může zasahovat i do ovlivnění genové exprese. Unikátní enzym NADPH oxidáza 4 (NOX4) je přítomen na membránách uvnitř  $\beta$  buněk a konstitutivně vytváří H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na základě přítomnosti NAD(P)H. Po stimulaci glukózou stoupá hladina NAD(P)H i exprese genu *Nox4*. Jak bylo již dříve zjištěno v naší laboratoři, myši C57BL/6J se specifickou delecí *Nox4* v  $\beta$  buňkách (MUT, z angl. *mutant*) mají porušen dvoufázový výlev inzulínu a vykazují inzulínovou rezistenci v tuku a svalové tkáni. Zjistili jsme, že absence NOX4 má vliv na architekturu LO. Kontrolní (WT, z angl. *wild type*) myši na normální převážně sacharidové stravě (ND, z angl. *normal diet*) mají nejvíce drobných LO o ploše do 5 000  $\mu\text{m}^2$  (měřeno na histologických řezech). Vysokotuková strava (HFD, z angl. *high fat diet*) u WT po 8 týdnech vede k rozvoji diabetického fenotypu a hypertrofii LO (LO > 5 000  $\mu\text{m}^2$ ). U MUT myši pozorujeme hypertrofii LO již na ND. Absence NOX4 u nich současně zabraňuje negativnímu působení HFD na dalším rozvoji hypertrofie LO. Stejně výsledky jsme zaznamenali u dospělých i mladých čtyřtýdenních myši. Snížení exprese *Nox4* u INS-1E  $\beta$  buněk pomocí siRNA vedlo i při nízkých hladinách glukózy (2,5 mM glukóza/ 1 hodina) ke zvýšené bazální tvorbě proinzulínu, nikoliv však zralého inzulínu. Snížení exprese *Nox4* pomocí siRNA zvyšuje u INS-1E buněk hladinu mRNA transkripčního faktoru pankreatického duodenálního homeobox proteinu 1 (PDX1). Nezaznamenali jsme výrazné ovlivnění hladin mRNA dalšího transkripčního faktoru *Musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homologu A* (MAFA), mRNA inzulínového genu 1 a enzymů sestřihu proinzulínu na inzulín prohormon konvertázy 1 (PC1), proprotein konvertázy 2 (PC2) a karboxypeptidázy E (CPE). Na základě našich poznatků přisuzujeme ROS pocházejícím z aktivní NOX4 důležitou signální roli ve správné funkci  $\beta$  buněk a celých Langerhansových ostrůvků. Snížení hladiny NOX4 v  $\beta$  buňkách vede na buněčné úrovni k narušení GSIS, ovlivňuje genovou expresi a úplná absence u hlodavců způsobuje nárůst velikosti LO.