

ABSTRAKT

Diabetes mellitus je heterogenní skupina onemocnění, jejichž společnou charakteristikou je porucha metabolismu glycidů, tuků a bílkovin, která je zapříčiněna absolutním nebo relativním nedostatkem inzulínu. Nedostatek inzulínu vede k hyperglykémii. Glukóza a inzulín, které se v těle fyziologicky vyskytují, jsou při onemocnění diabetem v nerovnováze. Těhotným ženám diabetičkám hrozí 7-10x vyšší riziko vzniku vrozené vady u jejich potomků a 2-5x vyšší riziko úmrtí novorozence, než ženám zdravým. Již nějaký čas se vedou spory, zda teratogenní potenciál přisuzovat inzulínu, glukóze, nebo zda se u těchto látek teratogenní účinek vzájemnou interakcí potencuje. Otázkou je, do jaké míry se na vzniku vrozených vad může podílet také diabetem narušený metabolismus mateřského organismu. V experimentu na savcích nelze studovat embryotoxické účinky samotného inzulínu, neboť není možné odlišit efekt látky samotné od efektu narušeného metabolismu matky. Zcela jedinečnou možností, představuje testování na kuřecím zárodku, který se vyvíjí mimo mateřský organismus. Proto jsme si jako cíl této diplomové práce stanovili otestovat metodou CHEST (jednorázová aplikace 2. - 5. embryonální den) a metodou Sandwich (chronická aplikace 2. embryonální den) embryotoxicitu samostatně působícího inzulínu a inzulínu v interakci s glukózou. Inzulín byl aplikován jednorázově v pěti dávkách v rozmezí 3,0 - 0,0003 μ g. Při testování glukózy v interakci s inzulínem byla podána 10 minut před aplikací inzulínu jednorázová dávka 30 μ g glukózy. Je známo, že ani takto vysoká dávka glukózy nemá embryotoxický efekt na kuřecí zárodek, pouze navozuje hyperglykemické prostředí. Kontrolním zárodkům bylo aplikováno rozpustidlo (aqua pro injectione). Začátek pásma embryotoxicity samostatně působícího inzulínu i při interakci s glukózou byl shodný: v rozmezí dávek 0,03 - 0,003 μ g. U obou skupin převažovala zárodečná smrt nad vznikem malformací, jejichž spektrum bylo u obou skupin také obdobné. Nejčastěji zastoupenou malformací byl syndrom kaudální regrese.

Při metodě Sandwich se dvoudenní kuřecí zárodky kultivují *in vitro*, a testovaná látka se přidává do živného média. Otestovali jsme účinek 4 různých dávek inzulínu v rozmezí 5,0 - 0,005mg na 50ml média, a jeho působení jsme hodnotili za 24 a 48h. Ve srovnání s kontrolami došlo po 24 hodinové kultivaci u zárodků kultivovaných na mediu s dávkou inzulínu 0,5mg/50ml k signifikantnímu zkrácení novotvořené kaudální části ($P < 0,01$). Po 48 hodinové kultivaci došlo k signifikantnímu zkrácení i u dávky 0,05mg/50ml média

($P < 0,01$) a k nedostatečnému napojení vitelinních cév a krevním výronům do tkání kaudální části zárodku. V porovnání s metodou CHEST byl začátek pásma embryotoxicity nižší o jeden dávkový řád.

Na základě výsledků testování přímé embryotoxicity inzulínu a inzulínu v interakci s glukózou na zárodku kuřete můžeme uzavřít, že silným teratogenem je inzulín. Glukóza podaná ve vysoké dávce kuřecímu zárodku nezvýšila účinek následně podaného inzulínu. Naše experimentální výsledky naznačují, že během léčby diabetu u těhotných je třeba důsledně dbát na častou kontrolu glykémie a opatrné dávkování inzulínu, které by se mělo optimalizovat ještě před otěhotněním.