

tukem a v případě nepituitární produkce působí jako cytokin. U prolaktinu byly v letošním roce mimo jeho primárních funkcí spojených s přípravou mammy na laktakci popsány také jeho účinky na  $\beta$ -buňky pankreatu, kde bylo po jeho působení popsáno zvýšení počtu těchto buněk i zvýšení sekrece inzulínu. Dále jsme na námi vyšetřovaném souboru porozovali výraznou (14,93x) a statisticky signifikantní ( $P=0,008$ ) downregulaci jeho genové exprese ve visc. tuku u žen s GDM-I. Tyto lokální změny exprese ve viscerální tukové tkáni ovšem nekorelovaly s celkovými koncentracemi prolaktinu v mateřském organizmu, což podporuje spíše domněnku o jeho parakrinním působení v případě periferní produkce. Přímé účinky PRL na zralé adipocyty nebyly dosud uspokojivě popsány.

LDLR je receptor pro LDL partikule (OMIM 606945). Exprese LDLR byla v námi vyšetřovaném souboru proti zdravým těhotným v s.c. tuku signifikantně zvýšena u žen s GDM-I i GDM-D ( $P=0,008$ , resp.  $P=0,003$ ). Zvýšení LDLR v s.c. tukové tkáni při GDM může být časnou známkou nedostatečného zásobení adipocytů s.c. tukové tkáně glukózou, které je kompenzováno zvýšenou poptávkou adipocytů po lipidech získávaných jejich redistribucí cestou lipoproteinů syntetizovaných v játrech.

## 6 SOUHRN

---

Dizertační práce se zabývá studiem možného podílu tukové tkáně na ovlivnění inzulínové senzitivity prostřednictvím svých působků – adipokinů, a to zejména u těhotných žen s klinicky rozvinutým gestačním diabetem mellitem (GDM). Byla tvořena dvěma základními částmi: První se věnovala charakterizaci změn sérových koncentrací jednoho ze základních adipokinů – adiponektinu – v souboru šesti žen během celého fyziologicky probíhajícího menstruačního cyklu. Druhá část byla zaměřena na studium změn genové exprese produktů tukové tkáně u těhotných s GDM oproti zdravým těhotným (14 vs. 13 žen). Sledována byla exprese adipokinů a jejich receptorů (ADIPOQ, ADIPOR1, ADIPOR2, LEP, RETN, TNF $\alpha$ , CFD a PAI1), a dále genů s prokázanou či předpokládanou účastí na etiopatogenezi GDM a DM 2. typu ve vzorcích placenty, subkutánní a viscerální tukové tkáni získaných během operačního porodu. Změny genové exprese byly hodnoceny dvěma metodami: Na vybraném podsouboru žen s GDM a kontrol byly charakterizovány rozdílně exprimované geny v placentě, subkutánní a viscerální tukové tkáni pomocí expresních arrays zaměřených na signální dráhu inzulínového receptoru. Vybrané geny s rozdílnou expresí v arrays a některé další dlouhodobě studované regulátory inzulínové senzitivity byly následně analyzovány pomocí qPCR na celém souboru těhotných žen. Výsledky změn v genové expresi byly korelovány s vyšetřenými sérovými koncentracemi sledovaných parametrů (adiponektin, leptin, resistin, inzulín, C-peptid, glukóza, glykovaný hemoglobin, IGF1, IGFBP1, TAG, prolaktin, estradiol) z periferní žilní maternální a pupečnickové krve odebraných při porodu.

V naší práci jsme charakterizovali změny adiponektinemie v průběhu menstruačního cyklu u zdravých žen. Ukázali jsme, že přes podstatné individuální kolísání koncentrací ADIPOQ v séru nejsou tyto rozdíly ovlivněny změnami v koncentracích pohlavních hormonů během fyziologicky probíhajícího menstruačního cyklu.

Na základě vyšetření 112 genů v iniciálním souboru pomocí expresních arrays bylo identifikováno 26 genů s rozdílnou expresí alespoň v jedné tkáni. Kromě genů zapojených zejména v signálně transdukční cestě postreceptorové aktivace inzulínového receptoru (Ras-Raf a MAP-kináz), byly geny se signifikantně změněnou expresí zahrnuty do kvantifikace exprese pomocí qPCR na celém souboru studovaných osob. Kvantifikace genové exprese u 27 studovaných genů (za použití 3 house-keeping genů) metodou qPCR prokázala statisticky signifikantní změny u 17 z nich (Tab.1).

Tabulka 1. Přehled statisticky významných změn ( $P < 0,05$ ) genové exprese sledovaných genů ve skupinách těhotných s gestačním diabetem mellitem kompenzovaným inzulínem (GDM-I) nebo pouze dietou (GDM-D) proti zdravým těhotným kontrolám v době porodu v subkutánní (s.c.) a viscerální (visc.) tukové tkáni a v placentě. + zvýšení exprese  $< 2x$ ; +++ zvýšení exprese  $> 2x$ ; - snížení exprese  $< 2x$ ; --- snížení exprese  $> 2x$  proti kontrolám

| gen (mRNA)                               | s.c. tuková tkáň |       | visc. tuková tkáň |       | placenta |       |
|--|------------------|-------|-------------------|-------|----------|-------|
|  | GDM-I            | GDM-D | GDM-I             | GDM-D | GDM-I    | GDM-D |
| Adiponektinový receptor 2 (ADIPOR2)      |                  |       |                   | +     |          |       |
| Leptin (LEP)                             |                  |       | +++               |       |          |       |
| Lidský placentární laktogen (CSH1)       |                  |       |                   |       |          | ---   |
| Prolaktin (PRL)                          |                  |       | ---               |       |          |       |
| Adipsin (CFD)                            |                  |       |                   |       |          | +++   |
| Il-6                                     | +++              |       |                   | ---   |          |       |
| Il-8                                     | +++              |       |                   |       |          |       |
| CD68                                     |                  | ---   |                   |       |          |       |
| Inzulín-receptor substrát 2 (IRS2)       | -                |       | -                 |       |          |       |
| Inzulináza (IDE)                         |                  | +++   |                   | +++   |          | -     |
| Hormon-senzitivní lipáza (LIPE)          |                  | ---   |                   |       |          |       |
| LDL receptor (LDLR)                      | +++              | +++   |                   |       |          |       |
| Estrogenní receptor 1 (ESR1)             | -                |       |                   |       |          |       |
| Estrogenní receptor 2 (ESR2)             | -                | +     |                   |       |          |       |
| Inhibitor aktivátoru plasminogenu (PAI1) | +                |       |                   |       |          |       |
| IGF vazebný protein 1 (IGFBP1)           |                  |       | ---               |       |          |       |
| Inducibilní NO syntáza (NOS2A)           |                  |       | +++               |       |          |       |

Z hodnocených sérových koncentrací byly u všech těhotných proti netěhotným ženám signifikantně zvýšené sérové koncentrace inzulínu, triacylglycerolů, prolaktinu a estradiolu a signifikantně nižší sérové koncentrace adiponektinu.

V těhotenství se v závislosti na přítomnosti GDM signifikantně lišily proti zdravým těhotným sérové koncentrace leptinu, resistinu a glukózy a % glykovaného hemoglobinu.

Geny uvedené v tabulce 1, v jejichž expresi byly nalezeny signifikantní rozdíly mezi pacientkami s GDM a zdravými těhotnými zahrnují ve většině případů geny, které byly až dosud v souvislosti s inzulínovou rezistencí diskutovány poměrně ojediněle a pro zhodnocení významnosti jejich funkce v etiopatogenezi diabetu mellitu, resp. GDM jako modelové situace časné fáze rozvoje inzulínové rezistence, je nutný další výzkum.

Získané výsledky naznačují, že v rozvoji GDM má viscerální a subkutánní tuková tkáň odlišnou úlohu. Změny provázející GDM se projevují i na odlišném expresním vzorci buněk syncytiotrofoblastu. Třebaže vysvětlení všech zaznamenaných změn není možné shrnout do jednoznačných stanovisek formulujících jejich podíl na vzniku a rozvoji GDM, domníváme se, že výsledky této poměrně unikátní studie přinášejí zajímavý pohled na změny doprovázející rozvoj GDM a jeho vztahu k jak k obezitě tak DM 2. typu a budou stimulem pro další výzkum nejen naší pracovní skupiny.