

Abstrakt

Do předkládané studie byly vybrány geny, jejichž proteinové produkty významně ovlivňují kalciofosfátový metabolismus v ledvinách, a u nichž se předpokládá vliv na patogenezi jak samotného diabetu, tak ledvinného poškození. Receptor vitamínu D (VDR) patří do velké rodiny nukleárních receptorů a transkripčních faktorů. VDR je exprimován ve velkém množství buněk různých tkání a jeho aktivace ligandem 1, 25 – dihydroxyvitamínem D₃, ovlivňuje expresi mnoha genů. V genu pro VDR byly pomocí restrikčních endonukleáz *Bsm I*, *Fok I*, *Taq I* a *Apa I* nalezeny polymorfizmy, u kterých byla prokázána asociace s některými chronickými onemocněními, jako je diabetes 1. a 2. typu nebo karcinom plic. Tyto studie umožnily identifikovat polymorfizmy délky restrikčních fragmentů pomocí restrikčních endonukleáz *Bsm I*, *Fok I*, *Taq I* a *Apa I*. Mezi nejvýznamnější regulátory kalciového a fosfátového metabolismu patří též parathyreoidní hormon. Alelový polymorfismus genu *PTH* zahrnuje alely B/b a D/d, které se rovněž mohou spolupodílet na patogenezi ledvinných komplikací.

Cíle: Naším cílem bylo zjistit, zda se určité kombinace VDR a PTH genotypů nevyskytují s vyšší frekvencí mezi skupinou diabetiků s ledvinnými komplikacemi než u diabetiků bez ledvinných komplikací. U VDR byla rovněž provedena expresní analýza na úrovni mRNA. Byl sledován vliv kombinace jednonukleotidových polymorfizmů na expresi VDR na úrovni RNA.

Metody: DNA byla izolována vysolovací metodou a pomocí PCR byly amplifikovány specifické fragmenty genů pro VDR a PTH. Amplifikovaný produkt byl poté štěpen restriktázou specifickou pro každou alelu. Pro gen VDR byly použity restriktázy: *Bsm I*, *Apa I*, *Taq I* a *Fok I*, pro parathyreoidní hormon restriktázy *Bst BI* a *Dra II*. Poté byl hodnocen polymorfismus délky restrikčních fragmentů.

Určení hladiny exprese VDR v plné krvi na úrovni mRNA bylo provedeno pomocí metody Real – Time PCR.

Výsledky: Kombinace alel BBDD se zdá být predispozičním genotypem pro rozvoj diabetu 2. typu, ale nikoliv diabetické nefropatie. Genotyp bbDd má protektivní roli v rozvoji diabetu a jeho komplikací.