

ABSTRAKTY POSTERŮ

HSCRP AKO BIOMARKER PRE HNF1A-MODY

Terézia Valkovičová¹, Martina Škopková¹, Miroslava Jučková¹, Iwar Klimeš¹, Juraj Staník², Daniela Gašperíková¹

¹Laboratórium Diabgene, Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

²Detská klinika LF UK a NÚDCH, Bratislava

Úvod: CRP (C-reaktívny proteín) je zápalový proteín, ktorého koncentrácia v plazme sa zvyšuje počas zápalovej reakcie v tele. Expresia CRP proteínu prebieha v pečeni za účasti transkripčného faktora HNF1 (hepatocyte nuclear factor 1 alpha). Pacienti s HNF1A-MODY diabetom, ktorí majú mutácie v géne *HNF1A*, majú nižšiu plazmatickú koncentráciu hsCRP (metodika high-sensitivity CRP) v porovnaní s ostatnými ľuďmi s diabetom. Nízke hsCRP by tak mohlo slúžiť ako biomarker pre jednoduchšiu diagnostiku pacientov s HNF1A-MODY diabetom.

Cieľom práce bolo zistiť prevalenciu HNF1A-MODY s využitím hsCRP ako biomarkera, a to v rámci celonárodného projektu pre pacientov s diabetom na Slovensku.

Súbor a metódy: Z celkového počtu 3539 pacientov sme vyselekovali 50 pacientov s diagnostikovaným diabetom medzi 8.–40. rokom života a hsCRP < 0,25 mg/l. DNA analýzu génu *HNF1A* sme vykonali pomocou Sangerovho sekvenovania, ako aj metódou MLPA slúžiacou pre detekciu väčších delécií a inzercií v génoch.

Výsledky: Pomocou Sangerovho sekvenovania sme u troch pacientov identifikovali HNF1A varianty c.737T>G (p.V246G), c.1373_1388dup (p.Q463H fs) a c.1573A>T (p.T525S). Koncentrácia hsCRP v plazme bola u jednotlivých pacientov 0,02, 0,01 a 0,07 mg/l. Vek nástupu diabetu bol 17, 18 a 20 rokov, pričom všetci traja pacienti boli v čase DNA analýzy liečení inzulínom a klasifikovaní ako DM1. Napriek tomu, že u pacientov s MODY diabetom zväčša nebýva diagnostikovaný metabolický syndróm, u prvého pacienta sme zaznamenali hypertenziu v kombinácii s BMI 28 kg/m², a u zvyšných dvoch pacientov hypercholesterolémiu na liečbe statínmi pri BMI menej ako 25 kg/m².

Záver: Na základe celonárodného skríningu diabetu realizovaného na území Slovenska sme identifikovali troch HNF1A-MODY pacientov z 3539 ľudí s DM, čo predstavuje prevalenciu 0,08 % HNF1A-MODY. Výskyt znakov metabolického syndrómu u nosičov mutácií v géne *HNF1A* je komplikujúcim faktorom pre klinickú diagnostiku MODY, no zároveň ukazuje aditívnu hodnotu hsCRP v diagnostike HNF1A-MODY.

Podporené: Centrum výskumu závažných ochorení a ich komplikácií ITMS 26240120038, VEGA 1/0211/18.

VLIV INHIBITORŮ SEKREČNÍCH DRAH NA AKTIVNÍ SEKRECI VISFATINU

Petr Svoboda¹, Denisa Nikodemová², Diana Rayová², Vladimíra Pavlíčková², Silvie Rimpelová², Martin Haluzík³, Vojtěch Škop¹

¹Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha/Centrum experimentální medicíny, IKEM, Praha

²Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

³Centrum experimentální medicíny a Centrum diabetologie, IKEM, Praha/Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, VFN a 1. LF Univerzity Karlovy, Praha

Úvod: Visfatin neboli nikotinamidfosforibosyltransferáza (Nampt) je protein, který intracelulárně působí jako esenciální enzym účastnící se syntézy NAD. Kromě toho je považován za adipokin a byl detekován také v extracelulárním prostředí, kde ovlivňuje imunitní systém a buněčný metabolismus, včetně metabolismu glukózy a inzulínové senzitivity. Mechanismus jeho sekrece však není doposud odhalen. Naše předchozí práce ukázala, že visfatin je aktivně sekretován buňkami imunitního systému. Dosavadní studie vyloučily možnost sekrece konvenční sekreční dráhou a přiklání se spíše k některé z nekonvenčních sekrečních drah. Cílem naší práce bylo sledovat vliv inhibitorů sekrečních drah na sekreci visfatinu.

Metodika: Jako modelová buněčná linie byly použity monocytů a makrofágy U937. Diferenciace monocytů U937 trvala 4 dny s pomocí aktivačního činidla forbol-12-myristát-13-acetátu. Buňky monocytů byly připraveny s produkcí visfatinu ve fúzi se zeleným fluorescenčním proteinem (GFP-visfatin), který je možné pozorovat pomocí fluorescenční mikroskopie. Množství visfatinu v médiu a buněčném lyzátu bylo stanoveno metodou imunoblotu a bylo vždy vztaženo na množství cytosolického proteinu GAPDH, aby se vyloučilo pasivní uvolnění v důsledku buněčné smrti.

Výsledky: Inhibitory konvenční sekreční dráhy, bBrefeldin A a mMonensin, způsobily signifikantní snížení sekrece visfatinu. Dále byl testován vliv L-asparaginu, inhibitoru nekonvenční sekreční dráhy na principu autofagie, který také signifikantně snížil sekreci visfatinu. Fluorescenční mikroskopii byla sledovaná intracelulární lokalizace a transport GFP-visfatinu v makrofázích U937. Neovlivněné buňky měly GFP-visfatin lokalizován v blízkosti cytoplazmatické membrány. Použití brefeldinu A a monensinu zastavilo transport GFP-visfatinu k membráně makrofágů U937 a bylo možné pozorovat koncentraci GFP-visfatinu v blízkosti jádra.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že sekrece visfatinu je pravděpodobně spojena s konvenční dráhou sekrece,