

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Lenka Tichá

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Chronický zánět a oxidační stres v patogenezi diabetu mellitu 2. typu,  
úloha deoxysfingoidních bází

Bakalářská práce

---

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2019/2020

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lenka Tichá**  
Osobní číslo: **C17132**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**  
Téma práce: **Chronický zánět a oxidační stres v patogenezi diabetu mellitu 2. typu, úloha deoxysfingoidních bazí**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Zásady pro vypracování

Seznamte se s úlohou a mechanismy působení chronického zánětu a oxidačního stresu v rozvoji diabetu mellitu 2. typu se zaměřením na vznik metabolitů – deoxysfingoidních bazí – jejich možnou úlohu plazmatických markerů, a jejich vztah k senzorické neuropatii, nejčastější chronické komplikaci diabetu.

Provedte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte elektronické databáze Science Direct, NCBI Pubmed, Web of Science.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

---

**prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

## PROHLÁŠENÍ

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 16. 7. 2020

.....

Lenka Tichá

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce MUDr. Vladimíře Novákové Mužákové, PhD. za ochotu, trpělivost, vstřícnost a cenné rady, které mi při zpracování této práce věnovala. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a trpělivost během studia.

## **ANOTACE**

Diabetes mellitus 2. typu je multifaktoriální chronické onemocnění, na jehož vzniku se podílí velké množství faktorů. Tato práce se zabývá mechanismy působení oxidačního stresu a chronického zánětu v patogenezi diabetu mellitu 2. typu. Dále také možnostmi využití stanovení vznikajících metabolitů – deoxysfingoidních bází. Deoxysfingoidní báze jsou produkty metabolismu sfingolipidů, jejichž koncentrace v plazmě je při diabetu mellitu 2. typu zvýšená. Proto byly stanoveny jako nové plazmatické markery, které lze využít k predikci rizika vzniku diabetu 2. typu, a ke sledování léčby diabetických pacientů.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

diabetes mellitus, oxidační stres, chronický zánět, deoxysfingoidní báze

## **TITLE**

Chronic inflammation and oxidative stress in diabetes mellitus, deoxysphingoid bases as markers in diabetes

## **ANNOTATION**

Type 2 diabetes mellitus is a multifactorial chronic disease in which a large number of factors contribute. This work deals with the mechanisms of oxidative stress and chronic inflammation in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Furthermore, the possibilities of using the determination of emerging metabolites – deoxysphingoid bases. Deoxysphingoid bases are products of the metabolism of sphingolipids. Their plasma concentration is increased in type 2 diabetes mellitus. Therefore, they have been identified as new plasma markers that can be used to predict the risk of developing type 2 diabetes and to monitor the treatment of diabetic patients.

## **KEYWORDS**

diabetes mellitus, oxidative stress, chronic inflammation, deoxysphingoid bases

## OBSAH

ÚVOD.....	13
1 DIABETES MELLITUS .....	14
1.1 Epidemiologie .....	14
1.2 Glykémie a její regulace.....	14
1.2.1 Inzulín .....	15
1.3 Diabetes 1. typu.....	16
1.4 Diabetes 2. typu.....	16
1.4.1 Patogeneze DM 2. typu.....	17
1.4.1.1 Stres endoplazmatického retikula.....	19
1.4.1.2 Mitochondriální dysfunkce.....	19
1.4.1.3 Kosterní svalovina v patogenezi DM 2. typu .....	20
1.4.1.4 Játra v patogenezi DM 2. typu.....	20
1.4.1.5 Tuková tkáň v patogenezi DM 2. typu .....	21
1.4.1.6 Centrální nervový systém v patogenezi DM 2. typu .....	23
1.4.1.7 Střevo v patogenezi DM 2. typu.....	23
1.4.1.8 Endotel v patogenezi DM 2. typu.....	23
1.4.2 Rizikové faktory DM 2. typu.....	23
1.4.3 Komplikace DM 2. typu .....	24
1.4.3.1 Diabetická neuropatie .....	25
1.4.3.2 Syndrom diabetické nohy .....	25
1.4.3.3 Diabetická nefropatie.....	26
1.4.3.4 Diabetická retinopatie.....	26
2 OXIDAČNÍ STRES.....	27
2.1 Reaktivní formy kyslíku.....	27
2.2 Reaktivní formy dusíku.....	30
2.3 Oxidační stres a DM 2. typu .....	30
2.3.1 Polyolová cesta .....	31
2.3.2 Autooxidace glukózy .....	33
2.3.3 Konečné produkty pokročilé glykace .....	33
2.3.4 Hexosaminová cesta .....	35
2.3.5 Cesta proteinkinázy C .....	36
2.3.6 Peroxidace lipidů .....	37
2.3.6.1 Neenzymatická peroxidace lipidů .....	37
2.3.6.2 Enzymatická peroxidace lipidů .....	38



2.3.7	Nitrace tyrosinu.....	39
3	ZÁNĚT .....	40
3.1	Záněť v patogenezi DM 2. typu.....	40
3.2	C-Jun NH <sub>2</sub> -terminální kináza .....	41
3.3	Jaderný faktor κ B .....	42
3.4	Tuková tkáň v patogenezi chronického zánětu .....	43
3.5	Jaterní tkáň v patogenezi chronického zánětu.....	44
3.6	Svalová tkáň v patogenezi chronického zánětu .....	44
3.7	Cévní endotel v patogenezi chronického zánětu.....	45
3.8	Úloha sfingolipidů při zánětu.....	46
4	NOVÉ TRENDY V DIAGNOSTICE DM 2. TYPU .....	48
4.1	Deoxysfingoidní báze.....	48
4.2	5-hydroxymethylcytosin .....	49
4.3	3,3'-dityrosin.....	50
4.4	Kyselina 2-aminoadipová.....	50
4.5	Retinol vázající protein 4 a neutrofilní s gelatinázou asociovaný lipokalin .....	50
	ZÁVĚR .....	51
	POUŽITÁ LITERATURA .....	52

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Molekula inzulínu (Patel, 2018).....	16
Obrázek 2: Vliv rizikových faktorů na vznik DM 2. typu (Fletcher, 2002).....	24
Obrázek 3: Molekulární mechanismy oxidačního stresu ve vztahu k DM (Ighodaro, 2018)...	31
Obrázek 4: Polyolová cesta (Singh Grewal, 2015).....	32
Obrázek 5: Hexosaminová cesta (Ighodaro, 2018).....	35
Obrázek 6: Cesta proteinkinázy C (Ighodaro, 2018) .....	36
Obrázek 7: Účinky aktivace JNK v různých tkáních (Yung, 2020) .....	42
Tabulka 1: Přehled reaktivních forem kyslíku (Štípek, 2000).....	28
Tabulka 2: Přehled reaktivních forem dusíku (Štípek, 2000).....	30

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AGE	konečný produkt pokročilé glykace
ATP	adenosintrifosfát
BMI	index tělesné hmotnosti
CoA	koenzym A
DM	diabetes mellitus
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FGF	fibroblastový růstový faktor
GIP	gastrický inhibiční polypeptid
GLP	<i>glucagon-like peptid</i>
GLUT	glukózový transportér
GTPáza	guanosintrifosfatáza
HbA1c	glykovaný hemoglobin
HDL	lipoproteiny o vysoké hustotě
HLA	lidský leukocytový antigen
IL	interleukin
IKK	kináza inhibitoru $\kappa$ B
I $\kappa$ B	inhibitor jaderného faktoru kappa B
JNK	c-Jun NH <sub>2</sub> -terminální kináza
L•	radikál mastné kyseliny
LDL	lipoprotein o nízké hustotě
LH	mastná kyselina
LO•	aloxylový radikál
LOO•	peroxylový radikál
LOOH	lipidový hydroperoxid
MAPK	mitogenem aktivovaná proteinová kináza
MCP	monocytový chemoatrakční protein
M-CSF	faktor stimulující kolonie makrofágů
MIF	faktor inhibující migraci makrofágů
mtDNA	mitochondriální deoxyribonukleová kyselina

mTOR	<i>mammalian target of rapamycin</i>
NAD <sup>+</sup>	nikotinamidadeninukleotid – oxidovaná forma
NADH	nikotinamidadeninukleotid – redukovaná forma
NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát – redukovaná forma
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPáza	sodno-draselná pumpa
NF-κB	jaderný faktor kappa B
NK buňky	<i>natural killers</i> buňky
PARP	poly-ADP-ribózo-polymeráza
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza
PKC	proteinkináza C
PPAR	peroxizomový receptor aktivovaný proliferátory
PUFA	polynenasycená mastná kyselina
RAGE	receptor pro konečné produkty pokročilé glykace
RCS	reaktivní forma chloru
RNS	reaktivní forma dusíku
ROS	reaktivní forma kyslíku
SGLT	<i>sodium glucose transporter</i>
Tc	cytotoxický T lymfocyt
TGF	transformující růstový faktor
Th	pomocný T lymfocyt
TLR	<i>toll like</i> receptor
TNF	tumor nekrotizující faktor
UDP-GlcNAc	uridindifosfát-N-acetylglukosamin
UPR	rozvinutá proteinová odpověď
VEGF	vaskulární endoteliální růstový faktor
VLDL	lipoprotein o velmi nízké hustotě

## ÚVOD

Diabetes mellitus 2. typu je dnes jedním z nejčastějších chronických onemocnění. Počet osob s diabetem se v posledních třech desetiletích ztrojnásobil a jeho prevalence celosvětově dramaticky stoupá. V České republice bylo podle České lékárnické komory v roce 2019 více než 995 tisíc diabetiků, což je alarmující číslo. Dnes je diabetes mellitus devátou nejčastější příčinou úmrtí na světě. Proto se jedná o velmi aktuální téma a je důležité mu věnovat pozornost.

Ke vzniku diabetu mellitu 2. typu přispívá stres, nadměrný příjem energie, nevhodné složení potravy a nedostatek pohybu. Současný nezdravý životní styl velké části populace může vznik diabetu uspišit a komplikovat. Pro svůj častý výskyt v populaci je diabetes mellitus považován za civilizační chorobu. Významnou roli v patogenezi diabetu hrají oxidační stres a chronický zánět.

Oxidační stres je spojen s metabolickými drahami jako jsou polyolová a hexosaminová cesta nebo cesta proteinkinázy C. Dále je zvýšená hladina reaktivních forem kyslíku a dusíku spojena s peroxidací lipidů, nitrací tyrosinu, oxidací glukózy a tvorbou konečných produktů pokročilé glykace.

Chronický zánět se uplatňuje v patogenezi diabetu mellitu 2. typu a přispívá k jeho progresi prostřednictvím zvýšené hladiny reaktantů akutní fáze a prozánětlivých cytokinů. Významný vliv mají změny metabolismu jaderného faktoru  $\kappa$  B a sfingolipidů, a také aktivace c-Jun NH<sub>2</sub>-terminální kinázy.

Tato práce se zabývá mechanismy působení oxidačního stresu a chronického zánětu v patogenezi diabetu mellitu 2. typu. Dále také možnostmi včasné diagnostiky tohoto onemocnění pomocí deoxysfingoidních bází a dalších chemických látek, které lze stanovit v organismu osob s diabetem.

# 1 DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus (DM) je chronické onemocnění, při kterém lidský organismus nedokáže správně hospodařit s glukózou. Dochází zde k nedostatečné sekreci nebo nedostatečnému účinku inzulínu ve tkáních, což vede k hyperglykémii.

## 1.1 Epidemiologie

Celosvětové zvýšení frekvence obezity, fyzické neaktivity a příjmu energeticky bohaté stravy vede k neustálému zvyšování počtu pacientů s DM 2. typu (Chatterjee, 2017). Incidence a prevalence DM 2. typu se liší s různými zeměpisnými oblastmi. Průzkumy prokázaly, že více než 80 % pacientů pochází ze skupiny lidí s nízkým až středním příjmem (Kolb, 2017). V rozvojových a industrializovaných zemích jsou obyvatelé vystaveni vyššímu riziku vzniku diabetu (Fletcher, 2002).

Epidemiologie DM 2. typu je ovlivněna genetickými faktory a faktory prostředí. Genetické faktory uplatňují svůj účinek často až po vystavení nezdravému životnímu stylu, kam se řadí například sedavé chování a nadměrná konzumace cukrů a tuků (Kolb, 2017).

U lidí různého etnického původu se mohou vyskytovat různé specifické fenotypy, které zvyšují predispozici ke kardiovaskulárním chorobám, hypertenzi, inzulínové rezistenci a dyslipidémii (Chatterjee, 2017).

## 1.2 Glykémie a její regulace

Glukóza je monosacharid, který patří do skupiny aldohexóz. Je hlavním energetickým zdrojem pro většinu buněk v lidském těle. Zásadní význam má pro mozek a erytrocyty, kde je jediným zdrojem energie. Do většiny buněk přechází usnadněnou difúzí pomocí specifických přenašečů. Ve svalové a tukové tkáni je její transport závislý na množství inzulínu v krvi. V trávicím systému dochází k přenosu glukózy kotransportem se sodíkem pomocí přenašeče SGLT-1, ve druhém kroku přenosu se zapojuje glukózový transportér GLUT 2 (Thorens, 2015).

Fyziologická hladina glukózy v krvi je udržována mezi hodnotami 3 až 8 mmol/l. Na lačno jsou fyziologické hodnoty mezi 3,5 a 5,5 mmol/l. Po jídle by glykémie neměla přesahovat 10 mmol/l, což je ledvinový práh pro glukózu. Při jeho překročení dochází ke glykosurii.

Glykémii udržují různé regulační mechanismy. Řízení je úzce spojeno s metabolismem proteinů a lipidů. Jako regulátory se uplatňují hormonální vlivy, autoregulace a nervové vlivy.

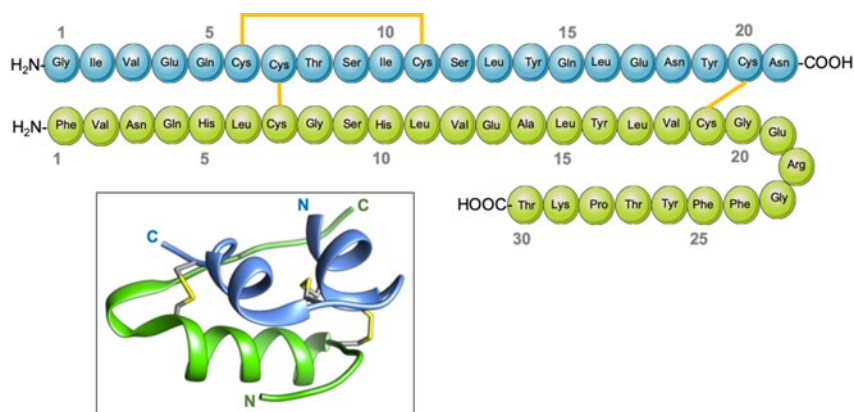
Při hyperglykémii dochází ke stimulaci odsunu glukózy do tkání a k blokaci její produkce v játrech a ledvinách. Při hypoglykémii je účinek opačný. V nervové regulaci glykémie se uplatňuje vegetativní nervový systém. Pomocí aferentních vláken parasymptiku získává mozek informaci o koncentraci glukózy. Nervová zakončení parasymptiku v játrech jsou lokalizována v Disseho prostorech, membráně hepatocytů a portální véné. Díky tomu mohou neurony v centru parasymptiku (laterálním hypothalamu) okamžitě reagovat na pokles nebo zvýšení hladiny glukózy v portální krvi. Aktivace parasymptiku vede ke snížení glykémie, zatímco aktivace symptiku má hyperglykemizující účinek. Největší význam má však hormonální regulace.

### 1.2.1 Inzulín

Inzulín je peptidický hormon produkováný beta buňkami Langerhansových ostrůvků slinivky břišní. Účastní se metabolismu sacharidů, lipidů a proteinů. Jednou z jeho základních funkcí je zprostředkování vstupu glukózy do buněk v příčně pruhované svalovině a tukové tkáni. Dále také působí na jaterní buňky, kde inhibuje glukoneogenezi. Tím se podílí na udržení hladiny glukózy v krvi nalačno. Je to hormon anabolický, který podporuje proteosyntézu, inhibuje lipolýzu, podporuje vstup draslíku do buněk, zvýšení aktivity symptiku nebo umožnění transportu některých aminokyselin přes membránu buněk.

Inzulín se uplatňuje také v metabolismu minerálů. Vede k zadržování sodíku a draslíku v organismu, zvyšuje aktivitu  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPázy, má podíl na udržování gradientu mezi intracelulárním a extracelulárním prostředím, v distálním tubulu ledvin podporuje reabsorpci sodíku (Pelikánová, 2018).

Na obrázku 1 je znázorněna stavba molekuly inzulínu. Jedná se o hormon složený z 51 aminokyselin. Skládá se ze dvou řetězců. Řetězec A obsahuje 21 aminokyselin (modře), řetězec B obsahuje 30 aminokyselin (zeleně). Tyto řetězce jsou spojeny dvěma disulfidickými můstky (žlutě), třetí disulfidický můstek stabilizuje první ze řetězců.



Obrázek 1: Molekula inzulínu (Patel, 2018)

Inzulín koluje v krvi, po navázání na inzulínový receptor umožňuje transport glukózy do buňky. Tento transport se děje pomocí glukózového transportéru GLUT 4. Ve výzkumech bylo zjištěno, že na inzulínu je závislý také přenašeč GLUT 12 (Purcell, 2011). Inzulínový receptor je glykoprotein tvořený dvěma  $\alpha$  a dvěma  $\beta$  podjednotkami. Po navázání inzulínu na receptor dojde ke kaskádě reakcí, která vede k otevření glukózového transportéru.

Diabetes mellitus je podle Světové zdravotnické organizace rozdělen na čtyři hlavní typy. Jedná se o diabetes prvního a druhého typu, gestační diabetes a ostatní specifické typy diabetu (Pelikánová, 2018).

### 1.3 Diabetes 1. typu

Diabetes 1. typu neboli inzulín-dependentní diabetes mellitus tvoří 5 až 10 procent ze všech případů diabetu (American Diabetes Association, 2012). Největší část pacientů je v dětském nebo dospívajícím věku (Rogers, 2017).

DM 1. typu bývá obvykle způsoben mechanickým nebo autoimunitním poškozením Langerhansových ostrůvků pankreatu, což vede k absolutnímu nedostatku inzulínu. Pacienti s DM 1. typu mají v krevním séru protilátky proti některým složkám Langerhansových ostrůvků nebo protilátky přímo proti inzulínu (Rogers, 2017; American Diabetes Association, 2012; Rees, 2017). U některých pacientů, zejména u dětí a adolescentů bývá prvním projevem nemoci ketoacidóza (American Diabetes Association, 2012).

### 1.4 Diabetes 2. typu

Diabetes mellitus 2. typu neboli non inzulín dependentní diabetes mellitus je charakterizován relativním nedostatkem inzulínu způsobeným dysfunkcí beta buněk pankreatu a inzulínovou rezistencí v cílových orgánech. Z celkového počtu diabetiků trpí asi 90 %



pacientů diabetem 2. typu. Ve srovnání s lidmi bez diabetu, mají pacienti s DM 2. typu asi o 15 % vyšší riziko úmrtí (Chatterjee, 2017).

U této formy diabetu často není nutná léčba inzulínem, protože u pacientů je zachována určitá schopnost produkce inzulínu. U pacientů s DM 2. typu se zřídka vyskytuje ketoacidóza, ta obvykle vzniká pouze v důsledku stresu nebo jiné nemoci (Inzucchi, 2012).

#### **1.4.1 Patogeneze DM 2. typu**

Při DM 2. typu dochází k poruše transportu glukózy a mechanismů, které regulují tkáňovou senzitivitu na inzulín. U tohoto typu diabetu mají genetické defekty a určité vlivy prostředí za následek inzulínovou rezistenci, což je stav, při kterém dochází ke snížení odpovědi tkání na inzulín, přestože v plazmě je ho normální množství (Asmat, 2016). Podle příčiny vzniku se inzulínová rezistence dělí na primární a sekundární.

Primární inzulínová rezistence je dána geneticky. DM 2. typu je onemocnění vyskytující se často familiárně, proto se předpokládá, že existují genové mutace zodpovědné za vznik inzulínové rezistence. Rozvoje inzulínové rezistence se mohou účastnit mechanismy ovlivňující expresi genů jako jsou methylace, acetylace, fosforylace nebo ubikvitinace DNA a histonů.

Sekundární inzulínová rezistence je důsledkem metabolických a hormonálních změn. Velký vliv má hyperinzulinémie, v jejímž důsledku dochází k *down* regulaci inzulínových receptorů.

Dalšími faktory ovlivňujícími vznik inzulínové rezistence jsou hyperglykémie, zvýšení koncentrace volných mastných kyselin nebo kontraregulačních hormonů, poruchy acidobazické rovnováhy, akumulace ektopického tuku, hyperosmolarita, tvorba protilátek proti inzulínu nebo proti inzulínovým receptorům. Významný vliv může mít produkce prozánětlivých cytokinů, interleukinů (IL), tumor nekrotizujícího faktoru  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ), rezistinu, a řady dalších látek secernovaných buňkami endotelu, tukové tkáně, střevní sliznice nebo imunokompetentními buňkami (Pelikánová, 2018).

Inzulínová rezistence postihuje především tkáně, ve kterých se nachází GLUT 4, tedy kosterní svalovinu, tukovou a jaterní tkáň. Pokud dojde k překročení kapacity tukové tkáně, dochází k akumulaci tuků v ostatních tkáních obsahujících GLUT 4 (Polák, 2008).

Inzulínová rezistence mění metabolismus lipidů. Vede k dyslipidémii a vzniku tzv. lipidové triády, což je zvýšení hladiny triacylglycerolů a lipoproteinů o nízké hustotě (LDL) se současným snížením hladiny lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL).

Zvýšení triacylglycerolů v séru vzniká vlivem zvýšené hladiny volných mastných kyselin a vlivem nedostatečného účinku inzulínu, který vede k nadprodukci VLDL. Koncentraci VLDL zvyšuje také jejich snížená *clearance* z plazmy, protože lipoproteinová lipáza není dostatečně aktivována inzulínem. V důsledku nízkého účinku lipoproteinové lipázy obsahují částice VLDL při inzulínové rezistenci více triacylglycerolů a jsou větší. Triacylglyceroly z VLDL jsou vyměňovány za estery cholesterolu z LDL. LDL jsou tedy obohaceny o triacylglyceroly. V játrech jsou napadány hepatální lipázou, která odštěpuje triacylglyceroly. Vznikají tak malé denzní LDL. Malé denzní LDL obsahují větší množství apoproteinu B<sub>100</sub>. Prostřednictvím LDL receptorů jsou katabolizovány až desetkrát pomaleji než běžné LDL. Podléhají více oxidaci a glykaci. Jejich zvýšení je aterogenní (Pelikánová, 2010).

Výměna triacylglycerolů a esterů cholesterolu je při hypertriacylglycerolémii urychlena také mezi HDL a ostatními lipoproteiny. Pokles HDL je tedy důsledkem zvýšení koncentrace triacylglycerolů, které jsou při inzulínové rezistenci rychleji vyměňovány za estery cholesterolu. Cholesterol se vrací do VLDL a LDL, a částice HDL jsou obohaceny o triacylglyceroly. Obohacené HDL jsou rychleji degradovány hepatální lipázou (Pelikánová, 2010).

Ke změnám dochází i v metabolismu cholesterolu. Celková hladina cholesterolu se příliš nemění. Bylo však prokázáno, že jeho endogenní syntéza je zvýšena a v gastrointestinálním traktu klesá jeho vstřebávání (Pelikánová, 2010).

Inzulínová rezistence také snižuje produkci oxidu dusnatého v endotelu, stimuluje uvolňování prokoagulačních faktorů a způsobuje endotelovou dysfunkci. Lipidová triáda spolu s dysfunkcí cévního endotelu zvyšuje riziko vzniku aterosklerotických plaků. Byla zjištěna vysoká míra korelace mezi inzulínovou rezistencí a rizikem vývoje kardiovaskulárních onemocnění. Inzulínová rezistence je zodpovědná i za některé poruchy na buněčné úrovni. Příkladem je poškození mitochondrií nebo endoplazmatického retikula (Ormazabal, 2018).

### 1.4.1.1 Stres endoplazmatického retikula

V endoplazmatickém retikulu probíhá množství metabolických procesů, jako jsou syntéza, úpravy a transport sekrečních a membránových proteinů, dále syntéza a uložení glykogenu, ale i dalších látek. Při hypoxii, hladovění, infekci nebo přebytku živin dochází k přetížení kapacity endoplazmatického retikula a vzniká stav, zvaný stres endoplazmatického retikula. V tomto stavu je aktivována řada signálních drah, které vedou k obnovení homeostázy. Soubor těchto signálních drah se nazývá *unfolded protein response* (UPR) (Iurlaro, 2016).

V endoplazmatickém retikulu pankreatických beta buněk dochází ke změnám konformace molekul inzulinu. Hlavní náplní beta buněk pankreatu je proinzulín. Ten z endoplazmatického retikula migruje do Golgiho aparátu, kde je následně zabalen do sekrečních granulí, a je prostřednictvím endopeptidáz přeměňován na inzulin. Při chronické expozici beta buněk volným mastným kyselinám dochází k poruchám přesunu proinzulinu mezi endoplazmatickým retikulem a Golgiho aparátem. Pokud dojde k překročení kapacity UPR, dochází k akumulaci nefunkčních, špatně složených bílkovin. Hromadění nefunkčních produktů často končí smrtí a dysfunkcí beta buněk (Biden, 2014).

Chronický stres endoplazmatického retikula v tukové tkáni může být důsledkem obezity. Stres endoplazmatického retikula je zde vyvolán uvolňováním volných mastných kyselin a vede ke zvýšené expresi prozánětlivých cytokinů jako je TNF  $\alpha$  a IL-6. Obezita způsobuje hypoxii v adipocytech, což také vede ke vzniku stresu endoplazmatického retikula. Stres endoplazmatického retikula indukovaný obezitou je spojen s inhibicí leptinového receptoru. Má význam ve vývoji rezistence na leptin, která je způsobena nedostatečnou regulací mitofusinu 2. Mitofusin 2 je GTPáza nutná pro fúzi a dynamiku mitochondrií a pro interakce mezi mitochondriemi a endoplazmatickým retikulem (Ariyasu, 2017).

### 1.4.1.2 Mitochondriální dysfunkce

Mitochondrie hrají důležitou roli v inzulinové rezistenci. Jsou místem tvorby ATP a jedním z největších zdrojů reaktivních forem kyslíku (ROS). Při hyperglykémii se zvyšuje produkce ROS a dochází ke vzniku oxidačního stresu a k poškození tkání. Zvýšená produkce ROS při hyperglykémii zhoršuje patologické metabolické cesty, což vede k mikrovaskulárním i makrovaskulárním diabetickým komplikacím. Vysoká hladina glukózy může vést k její zvýšené oxidaci, kdy dochází k vyšší tvorbě pyruvátu a NADH. Kromě toho jsou ROS uvolňovány z mitochondriálních komplexů I a III (Rovira-Llopis, 2017).

Bylo prokázáno, že snížení oxidace mastných kyselin negativně koreluje s inzulínovou rezistencí, obezitou a zánětlivými cytokiny (Heinonen, 2015). U pacientů s inzulínovou rezistencí bylo popsáno zvýšení peroxidace lipidů a snížení mitochondriální funkce. Byla u nich pozorována *down* regulace genů podílejících se na oxidativní fosforylaci a biogenezi mitochondrií. U obézních pacientů byla prokázána *down* regulace mitochondriálních oxidačních drah a zároveň *down* regulace mtDNA, translačního systému závislého na mtDNA a hladiny proteinů aparátu oxidativní fosforylace (Rovira-Llopis, 2017).

DM 2. typu je spojen se snížením exprese mitofusinu 2, což souvisí se zhoršením funkce mitochondrií v kosterní svalovině. Mitochondrie tvoří dynamickou síť, která neustále prochází štěpnými a fúzními ději. Tyto jevy udržují zdravou mitochondriální populaci schopnou reagovat na energetické požadavky buněk a jsou označovány jako mitochondriální dynamika. Spolu se zvýšenou hladinou glykovaného hemoglobinu HbA1c u pacientů s DM 2. typu bylo prokázáno zvýšené mitochondriální dělení v leukocytech. Vcestovávání leukocytů do cévní stěny se zvýšilo zároveň s hladinou glykovaného hemoglobinu HbA1c. Tyto výsledky ukazují, že mitochondriální dynamika je ovlivněna hyperglykemií při DM 2. typu. Při hyperglykémii dochází ke stimulaci interakce leukocytů a endotelu, což zvyšuje riziko kardiovaskulárních chorob (Diaz-Morales, 2016).

Při zkoumání mitochondrií bylo pozorováno, že v kosterním svalu diabetiků a obézních osob jsou mitochondrie menší, hůře strukturované, s menšími kristami a omezenou funkcí. Navíc se ve svalových vláknech diabetiků vyskytuje velké množství vakuol, které byly detekovány jako degenerované mitochondrie. U štíhlých osob se tyto vakuoly nevyskytují (Kelley, 2002).

#### **1.4.1.3 Kosterní svalovina v patogenezi DM 2. typu**

Po přijetí potravy dochází k odsunu glukózy z krve v největší míře do kosterní svaloviny (Chatterjee, 2017). Z tohoto důvodu je svalová tkáň významným místem, kde se inzulínová rezistence projevuje. Dochází zde ke snížení syntézy glykogenu a ke katabolismu proteinů (Piřhová, 2008). Dále vznikají defekty v inzulínové signalizační kaskádě, snižuje se funkce GLUT 4 a je narušena aktivace některých enzymů nutných pro metabolismus glukózy (Pelikánová, 2018).

#### **1.4.1.4 Játra v patogenezi DM 2. typu**

Na zvýšení glykémie nalačno i postprandiální hyperglykémii se podílí zvýšená glukoneogeneze a snížené vychytávání glukózy játry (Chatterjee, 2017; Ormazabal, 2018).

Bylo prokázáno, že izolovaná porucha účinku inzulínu v hepatocytu indukuje rozvoj inzulínové rezistence v tukové tkáni a kosterní svalovině. Játra tedy mohou hrát významnou roli ve vyvolání inzulínové rezistence. Játra mají schopnost regulovat koncentraci inzulínu. Dokážou vychytat asi jednu třetinu inzulínu, který je v portální krvi (Pelikánová, 2018).

#### **1.4.1.5 Tuková tkáň v patogenezi DM 2. typu**

Izolovaný defekt účinku inzulínu v adipocytech vede k rozvoji inzulínové rezistence v kosterní svalovině, játrech a beta buňkách pankreatu. Uvažují se dva mechanismy ovlivnění inzulínové rezistence, a to endokrinní aktivita tukové tkáně a nedostatečná inhibice lipolýzy inzulínem, spojená se zvýšeným uvolňováním volných mastných kyselin (Pelikánová, 2010).

Prvním mechanismem je produkce látek proteinové povahy tukovou tkání, makrofágy a dalšími imunokompetentními buňkami. Tyto látky jsou nazývány adipokiny a působí parakrinně nebo jsou uvolňovány do systémové cirkulace a mají endokrinní efekt. Hlavními zástupci jsou adiponektin, leptin a TNF  $\alpha$  (Polák, 2008).

Adiponektin podporuje transport a utilizaci glukózy a mastných kyselin v játrech, svalech i tukové tkáni. Zvyšuje senzitivitu na inzulín a má protizánětlivé a antiapoptotické vlastnosti. Kromě toho působí v mozku, kde stimuluje výdej energie, a tím podporuje úbytek hmotnosti (Fasshauer, 2015). Význam má také v ochraně stěn artérií před vznikem aterosklerotických plaků, kde brání transformaci makrofágů na pěnové buňky. Má schopnost adheze k poškozené cévě, čímž omezuje proliferaci buněk hladké svaloviny. U osob s nadbytkem tuku jsou jeho koncentrace a účinek sníženy (Polák, 2008).

Leptin má významný podíl na udržování tělesné hmotnosti. Působí na centra sytosti a hladu v hypothalamu. Stimuluje syntézu anorexigenních a inhibuje syntézu orexigenních peptidů, což vede ke snižování chuti k jídlu (Fasshauer, 2015). V beta buňkách pankreatu inhibuje tvorbu inzulínu a v jaterní tkáni pomáhá regulovat syntézu lipoproteinů. U osob s poškozeným leptinovým receptorem nebo s vrozeným deficitem leptinu se vyskytuje těžká obezita, dyslipidémie a inzulínová rezistence (Polák, 2008). Chronická expozice Langerhansových ostrůvků leptinu indukuje uvolňování IL-1, což vede k narušení funkce buněk a k apoptóze (Maedler, 2008).

TNF  $\alpha$  je prozánětlivý adipokin, který stimuluje lipolýzu v tukové tkáni, což zvyšuje plazmatickou hladinu volných mastných kyselin. Také indukuje vznik inzulínové rezistence přímým působením na inzulínovou signalizační kaskádu a na sekreci inzulínu. U obézních jedinců jsou koncentrace a účinky TNF  $\alpha$  zvýšeny (Fasshauer, 2015).

Druhým mechanismem je jev označovaný jako lipotoxicita. Nízký vliv inzulínu snižuje inhibici hormon senzitivní lipázy. Lipolýza v tukové tkáni je tedy inhibována jen částečně, a proto dochází k uvolňování volných mastných kyselin do cirkulace (Svačina, 2007; Piřhová, 2008). Zvýšení hladiny volných mastných kyselin stimuluje sekreci inzulínu. Vlivem působení volných mastných kyselin je celková hladina inzulínu v krvi vyšší oproti koncentraci, která by odpovídala vlivu samotné glukózy. V této situaci následuje útlum sekrece inzulínu stimulované glukózou.

Chronické zvýšení koncentrace volných mastných kyselin vede ke zvýšené apoptóze beta buněk a ke snížení syntézy a sekrece inzulínu. Konečným důsledkem je snížení plazmatické koncentrace inzulínu, které prohlubuje inzulínovou rezistenci (Wilcox, 2005; Piřhová, 2008).

Plazmatické volné mastné kyseliny způsobují aktivaci zánětlivých cytokinů a stimuluji sekreci růstových faktorů a TNF  $\alpha$ . Dále zabraňují vstupu pyruvátu do Krebsova cyklu na základě substrátové kompetice, kterou prokázal již v roce 1963 Randle. Byla také prokázána negativní korelace koncentrace volných mastných kyselin v krvi na lačno se senzitivitou na inzulín (Shulman, 2000). Podle výzkumů působí volné mastné kyseliny inhibičně přímo na GLUT 4. Navíc dochází k inhibici enzymu hexokinázy, což snižuje účinnost fosforylace glukózy. Díky tomu je omezen vstup glukózy do svalové tkáně (Polák, 2008; Hainer, 2011). V případě nadbytku volných mastných kyselin v krvi a zvýšení jejich absorpce myocyty dochází k hromadění toxických forem lipidů, včetně ceramidů a diacylglycerolů ve svalech. Zvýšení koncentrace ceramidů uvnitř myocytů vede k aktivaci proteinové fosfatázy 2A, která defosforyluje a inaktivuje proteinkinázu B. Zvýšení intramuskulárních diacylglycerolů způsobuje zvýšení aktivity proteinkinázy C-PII a proteinkinázy C-9, které fosforylací serinových zbytků v substrátu inzulínového receptoru mohou narušit signální dráhu inzulínu (Matulewicz, 2016). Takto narušený metabolismus glukózy vede ke vzniku chronické hyperglykémie, která kromě jiného způsobuje i oxidační stres a zánět, což vede k dalšímu poškození buněk.

#### **1.4.1.6 Centrální nervový systém v patogenezi DM 2. typu**

V patogenezi DM 2. typu a hyperglykémie má významnou roli centrální nervový systém. Vliv zde mají různé mechanismy. V hypothalamu může dojít k poškození centra hladu a sytosti, což vede ke vzniku obezity a rozvoji inzulínové rezistence. Hypothalamus také reguluje glykémii. Prostřednictvím *nervus vagus* (aférentní vlákna parasymptiku) dostává informaci o hladině glukózy v periferních tkáních, a díky nervovým zakončením v játrech získává informace o koncentraci glukózy v portální krvi (Abraham, 2014). Centrální nervový systém ovlivňuje pomocí vegetativního nervového systému tvorbu inzulínu, transport glukózy z krve do svalů a tvorbu glukózy v játrech. Tato regulace je pravděpodobně ovlivňována i humorální cestou. Porucha některé z úrovní tohoto řízení může způsobit hyperglykémii (Pelikánová, 2018).

#### **1.4.1.7 Střevo v patogenezi DM 2. typu**

Střevní sliznice produkuje hormony enteroinzulínární osy, ovlivňující sekreci a účinek inzulínu. Nejdůležitější pro řízení sekrece glukagonu a inzulínu jsou inkretiny. Konkrétně se jedná o *glucagon-like peptid 1* (GLP-1) a gastrický inhibiční polypeptid (GIP). Nejvíce jsou produkovány postprandiálně. U pacientů s DM 2. typu dochází ke snížení produkce GLP-1 a snížení citlivosti beta buněk pankreatu vůči GLP-1 a GIP. To má za následek vzestup glykémie (Szabó, 2012). Střevo také produkuje prozánětlivé cytokiny, které mohou vyvolat inzulínovou rezistenci. Dále produkuje enterostatin, ghrelin, oxyntomodulin a některé další látky ovlivňující chuť k jídlu (Pelikánová, 2018).

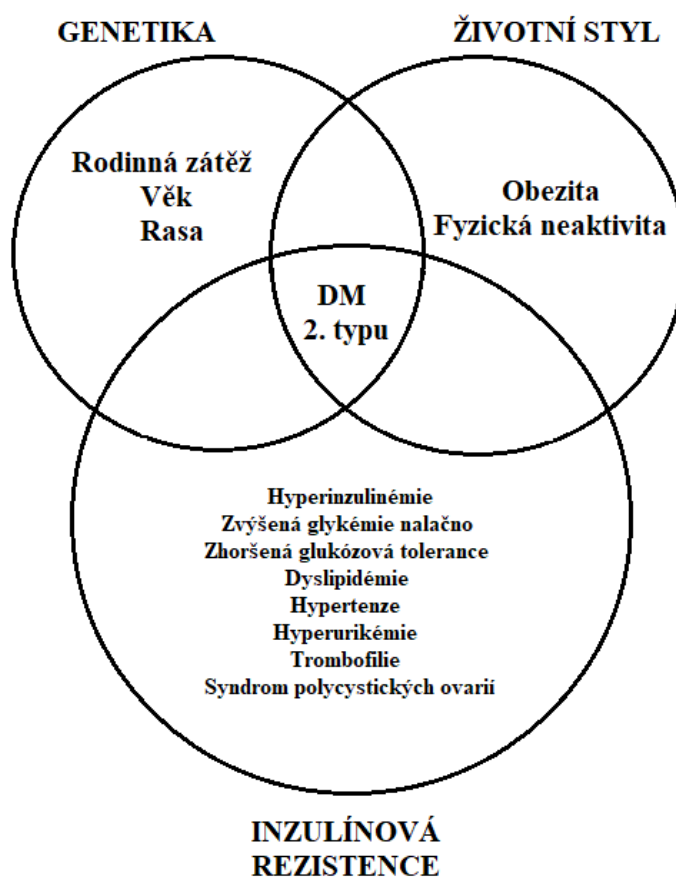
#### **1.4.1.8 Endotel v patogenezi DM 2. typu**

Buňky endotelu produkují vazoaktivní látky, které ovlivňují trombogenezí a mohou zastávat funkci mediátoru inzulínové rezistence v dalších tkáních. Endotelové buňky také obsahují inzulínovou signalizační kaskádu i přes to, že přesun glukózy do nich je na inzulínu nezávislý. Při aktivaci této kaskády cestou proteinkinázy B se tvoří oxid dusnatý, který způsobuje vazodilataci. Defekt vazodilatace může být při inzulínové rezistenci příčinou snížení transportu glukózy do kosterní svaloviny (Pelikánová, 2018).

### **1.4.2 Rizikové faktory DM 2. typu**

K vývoji DM 2. typu přispívají genetické, environmentální a metabolické rizikové faktory, které jsou ve vzájemném vztahu. Významnými rizikovými faktory jsou pozitivní rodinná anamnéza, vyšší věk, špatné stravovací návyky, obezita a fyzická nečinnost. Ženy, u kterých se objevil gestační diabetes a děti těchto žen jsou vystaveny vyššímu riziku progresu

DM 2. typu. DM 2. typu je multifaktoriální dědičné onemocnění. Jeho vznik je důsledkem interakce mezi faktory vnějšího prostředí a geny. Jak přesně tyto geny interagují mezi sebou a prostředím není stále dostatečně objasněno (Ali, 2013). Vliv různých faktorů na vznik DM 2. typu je znázorněn na obrázku 2.



Obrázek 2: Vliv rizikových faktorů na vznik DM 2. typu (Fletcher, 2002)

### 1.4.3 Komplikace DM 2. typu

U diabetiků se zvyšuje riziko rozvoje makrovaskulárních chorob (např. ischemická choroba srdeční, mrtvice, periferní vaskulární onemocnění), ale také chorob mikrovaskulárních (diabetická neuropatie, retinopatie a nefropatie). Často se objevuje hyperosmolární syndrom (Shaw, 2012; Asmat, 2016).

Hyperglykemický hyperosmolární syndrom je život ohrožující komplikace vyplývající z dekompenzace DM 2. typu. Vlivem snížení účinku inzulínu a zvýšení koncentrace kontraregulačních hormonů dochází ke stimulaci glukoneogeneze a glykogenolýzy v játrech a k nedostatečné absorpci glukózy v periferních tkáních. Hladina glukózy se zvyšuje a pokud překročí renální práh pro glukózu, způsobuje glykosurii. Glykosurie vede ke ztrátám vody



a elektrolytů, dehydrataci, sníženému průtoku krve ledvinami a snížení *clearance* glukózy. Dochází ke zhoršení hyperglykémie spojenému s poruchami vědomí až kómatem. Jelikož se inzulín v určitém množství tvoří, zůstává zachována inhibice hormon senzitivní lipázy a nedochází k lipolýze a ketogenezi (Milanesi, 2018).

#### **1.4.3.1 Diabetická neuropatie**

Jedna z nejčastějších komplikací diabetu je diabetická periferní neuropatie. Jedná se o onemocnění senzitivních, motorických i vegetativních nervů periferního nervového systému (Ziegler, 2020). Diabetická neuropatie postihuje 85 – 90 % diabetických pacientů. Klinické příznaky závisejí na délce a typu poškozeného nervového vlákna (Mazanec, 2009). Pacienti často trpí velkými bolestmi dolních končetin (Volmer-Thole, 2016). Dalšími symptomy jsou svalová slabost, brnění, lehká paréza a křeče svalů. V pokročilejším stadiu dochází k atrofii svalů a deformitám (Ehler, 2009).

Ke vzniku diabetické neuropatie vede velké množství mechanismů. Zapojuje se zde například polyolová a hexosaminová cesta, neenzymová glykace makromolekul, dále cesta proteinkinázy C, oxidační stres, zánět a porucha v metabolismu esenciálních mastných kyselin (Nagaraju, 2020; Mazanec, 2009). Zvýšení hladiny ROS a RNS způsobuje poškození lipidů v myelinizovaných strukturách nervů. Následkem je degenerace nebo ztráta axonů v periferním nervovém systému a mikrovaskulární přerušování (Vinik, 2006). Axony neuronů jsou velmi citlivé na oxidační poškození, protože obsahují velké množství mitochondrií. Toto poškození periferních nervů vede ke zvýšené vzrušivosti aferentních nociceptorů a centrálních neuronů. Díky tomu v axonech a dorzálních kořenových gangliích vznikají spontánní impulsy a vzniká neuropatická bolest (Kasznicki, 2012; Sifuentes-Franco, 2017).

#### **1.4.3.2 Syndrom diabetické nohy**

Ulcerace nohou diabetiků je velmi závažnou komplikací. Rizikovými faktory pro vznik vředů v oblasti nohou jsou diabetická polyneuropatie, ischemická choroba dolních končetin a infekce (Volmer-Thole, 2016). Jakmile dojde k rozvoji neuropatie, výrazně se urychluje tvorba vředů. Neuropatická a ischemická tkáň je velice náchylná vůči poraněním a infekcím. Nejčastěji se na vzniku infekce podílejí stafylokoky, streptokoky, pseudomonády a další anaerobní mikrobi. Léčba infekcí diabetické nohy je obtížná, protože průtok krve končetinou je narušen a podaná antibiotika se těžko dostávají do postižené oblasti. Navíc je imunita diabetiků snižena, což léčbu komplikuje. Diabetické ulcerace často předchází amputaci končetiny, v některých případech vedou i k úmrtí pacienta (Murphy-Lavoie, 2019).

### 1.4.3.3 Diabetická nefropatie

Diabetická nefropatie bývá hlavní příčinou chronického renálního selhání (Pokrivčák, 2013). Při postižení ledvin dochází ke snižování jejich funkce a zvyšuje se riziko pro vznik aterosklerózy. Vlivem aktivace některých růstových faktorů dochází k expanzi v mesangiální oblasti glomerulu. Největší vliv mají transformující růstový faktor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) a vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF). Tyto faktory způsobují kumulaci mesangiální matrix, množení hmoty bazální membrány glomerulu a mohou způsobovat i poruchy funkce podocytů (Bouček, 2008).

### 1.4.3.4 Diabetická retinopatie

Diabetická retinopatie označuje pozdní mikrovaskulární komplikaci diabetu, lokalizovanou v oční sítnici, která nejčastěji končí slepotou. Symptomy diabetické retinopatie jsou odlišné u různých pacientů. Může se stát, že pacient s mírným makulárním edémem postihujícím *foveu* jednoho oka bude mít zhoršené vidění, zatímco nemocný s těžkou proliferativní retinopatií nebude mít žádné příznaky a problémy se zrakem, dokud nedojde ke krvácení do sítnice (Cohen, 2015).

Příčinou zhoršení zraku a slepoty je krvácení z novotvořených kapilár a makulární edém. Hlavním spouštěčem vaskulárních změn a progresu diabetické retinopatie je chronická hyperglykémie. Mechanismů, kterými se uplatňuje, je několik. Hyperglykémie má přímý účinek na buněčné struktury, a uplatňují se i produkty metabolismu glukózy. Jedná se o tvorbu konečných produktů pokročilé glykace, neenzymatickou glykaci, zvýšení sorbitolu, zvýšení polyolové cesty, tvorbu hexosaminu a aktivaci proteinkinázy C. Vliv mají ale i genetické predispozice a metabolické změny. Tyto faktory vedou ke změnám funkce a morfologie buněk oka. Poškození buněk u diabetické retinopatie se kromě endotelu a cévní stěny týká také neuronů, glií, fotoreceptorů a imunokompetentních buněk. U většiny těchto buněk je energetický metabolismus závislý na oxidaci glukózy. Glukóza je do nich transportována pomocí GLUT 1 nezávisle na inzulínu, proto tyto buňky nedokážou plně regulovat vstup glukózy a nemohou se bránit jejímu negativnímu vlivu při hyperglykémii (Pelikánová, 2016). Důsledkem jsou změny vedoucí k poruchám regulace krevního průtoku a buněčného růstu. Dochází k proliferaci bazální membrány, poškození těsných spojení epitelu, ztrátám pericytů, zániku buněk hladkého svalstva, zvýšené propustnosti kapilár a tvorbě mikroaneurysmat (Scanlon, 2019).

## 2 OXIDAČNÍ STRES

Oxidační stres vzniká při narušení rovnováhy mezi tvorbou oxidantů a antioxidační aktivitou v buňkách a plazmě. Narušení může nastat na obou stranách rovnováhy. Může se tedy jednat o abnormálně vysokou tvorbu oxidantů, o nedostatek antioxidantů nebo obojí zároveň (Škrha, 2010a; Burton, 2011). Bylo prokázáno, že oxidační stres je způsoben podmínkami jako je UV záření, hyperglykémie a vysoký příjem volných mastných kyselin, a může vést k aktivaci některých metabolických drah (Rains, 2011).

Volné radikály jsou atomy nebo molekuly obsahující v elektronovém obalu jeden nebo více nepárových elektronů. Díky těmto volným elektronům jsou vysoce reaktivní, a zároveň velmi nestabilní. Mohou být produkovány endogenními i exogenními zdroji (Racek, 1999). Vznikají reakcemi organických sloučenin s kyslíkem, oxidační fosforylací v mitochondriích, produkcí neutrofilů a makrofágů, působením ROS a RNS, vlivem ionizujícího záření nebo působením chemikálií. Volné radikály jsou fyziologicky velmi důležité pro aktivaci signálních drah uvnitř buňky. Například mitogenem aktivované proteinové kinázy (MAPK) a extracelulární signálně redukované kinázy mění expresi genů a ve spolupráci se superoxiddismutázou iniciují buněčnou smrt (Asmat, 2016). Volné radikály mohou ale působením nepárového elektronu vyvolat i poškození. Důsledkem jejich patologického působení je narušení funkce a struktury buněk a poškození buněčných složek. Aby byly účinky volných radikálů zmírněny nebo zcela potlačeny, má lidský organismus mnoho mechanismů, kterými produkuje antioxidanty. Ty pomáhají prevenci nemocí, neutralizují zvýšené množství volných radikálů a chrání buňky před jejich toxickými účinky.

Původce oxidačního stresu lze rozdělit do tří skupin. Jsou to reaktivní formy kyslíku (ROS), dusíku (RNS) a chloru (RCS). Pro organismus jsou nejdůležitější ROS a RNS. Jejich účelem je indukce apoptózy nefunkčních buněk (Román-Pintos, 2016).

### 2.1 Reaktivní formy kyslíku

Název reaktivní formy kyslíku je používán pro volné radikály i neradikální meziprodukty vytvořené z molekuly kyslíku. Kyslík je vysoce reaktivní látka, která má schopnost stát se součástí potenciálně nebezpečných molekul (Burton, 2011).

Tvorba ROS je přirozeným a nevyhnutelným vedlejším produktem metabolismu. ROS se účastní metabolických drah nutných pro kontrolu fyziologické funkce buněk. Zapojují se ale i do škodlivých procesů jako jsou stárnutí, karcinogeneze a neurodegenerativní nemoci. Nadměrné a trvalé zvýšení produkce ROS se podílí na patogenezi aterosklerózy, DM, rakoviny

a dalších onemocnění. Hlavním zdrojem ROS je mitochondriální elektronový respirační řetězec (Dröge, 2002).

ROS často reagují s lipidy, mastnými kyselinami, proteiny, nukleotidy a dalšími biologickými látkami. Při těchto reakcích dochází k narušení metabolismu, změnám buněčné struktury a signalizace a k poškození funkcí buněk (Girotti, 1998). Přehled ROS je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1: Přehled reaktivních forem kyslíku (Štípek, 2000)

Reaktivní formy kyslíku	
Superoxid $O_2^{\bullet -}$	Hydroperoxyl $HO_2^{\bullet}$
Hydroxylový radikál $HO^{\bullet}$	Peroxid vodíku $H_2O_2$
Peroxyl $ROO^{\bullet}$	Ozon $O_3$
Alkoxy $RO^{\bullet}$	Singletový kyslík $^1O_2$

Nejběžnějším kyslíkovým volným radikálem je superoxidový radikál. Za jeho hlavní zdroj jsou považovány mitochondrie. Při neúčinném převodu elektronů podél enzymů dýchacího řetězce dochází k úniku elektronů, zejména z komplexů I a III. Elektrony redukují molekulární kyslík a dochází ke vzniku superoxidového radikálu. Rychlost jeho tvorby je dána množstvím elektronů přítomných v dýchacím řetězci a je zvýšená při hyperoxii a hyperglykémii. Ke zvýšení tvorby dochází paradoxně i při hypoxii. V případě hypoxie dochází ke kumulaci elektronů, protože je zde nedostatek kyslíku, konečného akceptoru elektronů pro komplex IV (Burton, 2011).

Podobně dochází k produkci superoxidového radikálu při přenosu elektronů v endoplazmatickém retikulu. Superoxidový radikál vzniká například při vytváření disulfidových vazeb během procesu skládání proteinů. Jeho produkce se zvyšuje v buňkách s vysokým sekrečním výkonem a také při stresu endoplazmatického retikula, kdy dochází k pokusům o opětovné složení nesprávně složených proteinů (Burton, 2011).

Detoxikace superoxidového radikálu probíhá za pomoci enzymu superoxidodismutázy, která ho převádí na peroxid vodíku.

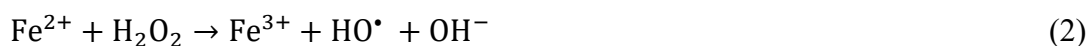
Peroxid vodíku patří také do skupiny ROS. Není volným radikálem, a je méně reaktivní než superoxidový radikál. Peroxid vodíku je nepolární, tudíž dokáže difundovat přes membrány a chová se jako druhý posel v signálních transdukčních drahách. Detoxikace je katalyzována enzymy katalázou a glutathionperoxidázou.

Společná přítomnost superoxidového radikálu s peroxidem vodíku může vést k tvorbě velmi nebezpečného hydroxylového iontu viz rovnice 1 až 3.

Reakcí trojmocného železa se superoxidovým radikálem je generováno železo dvojmocné.

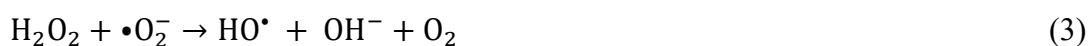


Při Fentonově reakci se v přítomnosti dvojmocného železa redukuje peroxid vodíku a vzniká hydroxylový iont.



Stejná reakce proběhne, pokud se reakce s peroxidem vodíku bude účastnit redukováná forma dalších přechodných kovů, například mědi.

Hydroxylový iont vzniká také při Haber-Weissově reakci, při které reaguje přímo superoxidový radikál s peroxidem vodíku.



Hydroxylový iont má životnost asi  $10^{-9}$  sekundy, a je schopen reagovat s jakoukoli biologickou molekulou ve své blízkosti. To ho činí velmi nebezpečným. A protože je takto vysoce reaktivní, není zatím znám žádný hydroxylový *scavenger* (Burton, 2011).

Významným ROS je také hydroperoxylový radikál. Jedná se o protonovanou formu superoxidu, která má význam při peroxidaci lipidů. Hydroperoxyl je silnější oxidační činidlo než superoxidový radikál. Zahajuje řetězovou reakci polynenasycených fosfolipidů, což má za následek porušení membrán (Ayala, 2014).

## 2.2 Reaktivní formy dusíku

RNS jsou reaktivní látky odvozené od dusíku. Jejich přehled je uveden v tabulce 2.

Tabulka 2: Přehled reaktivních forem dusíku (Štípek, 2000)

Reaktivní formy dusíku	
Oxid dusnatý $\text{NO}^\bullet$	Oxid dusitý $\text{N}_2\text{O}_3$
Oxid dusičitý $\text{NO}_2^\bullet$	Oxid dusičitý $\text{N}_2\text{O}_4$
Nitrosyl $\text{NO}^+$	Nitronium $\text{NO}_2^+$
Nitroxid $\text{NO}$	Peroxyinitrit $\text{ONOO}$
Kyselina dusitá $\text{HNO}_2$	Alkylperoxyinitrit $\text{ROONO}$

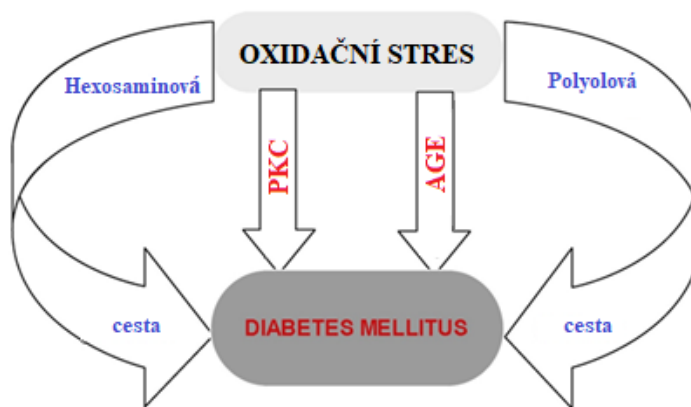
Radikál oxidu dusnatého  $\text{NO}^\bullet$  je produkován při oxidaci aminokyseliny argininu za katalýzy enzymem NO syntázou. Svým působením na guanylátcyklázu zprostředkovává vazodilataci. Také inhibuje adhezi leukocytů a trombocytů a má antiproliferativní účinek na cévní svalovinu (Johansen, 2005). Radikál oxidu dusnatého ovšem může být následně přeměněn na další RNS. Například při reakci superoxidového radikálu s oxidem dusnatým vzniká vysoce reaktivní peroxyinitrit (Dröge, 2002). Právě přítomnost superoxidu určuje, zda bude mít oxid dusnatý ochranné nebo škodlivé účinky (Johansen, 2005).

Peroxyinitrit mění funkci biomolekul nitrací proteinů. Například nitrace draselných kanálů, které regulují vazodilataci, způsobuje jejich inhibici. Peroxyinitrit má také vliv na vznik nitrotyrosinu, způsobuje peroxidaci lipidů, poškození vláken DNA nebo oxidaci kofaktoru NO syntázy, která vede k produkci superoxidu namísto oxidu dusnatého (Johansen, 2005).

RNS produkované neurony mají funkci neurotransmiterů. Některé jsou generovány makrofágy, a zapojují se tak v imunitních dějích (Asmat, 2016).

## 2.3 Oxidační stres a DM 2. typu

Oxidační stres je dlouhodobě spojován s diabetickými komplikacemi. V současnosti je považován za jeden z faktorů vzniku a rozvoje diabetu a diabetických komplikací. Jeho vliv je znázorněn na obrázku 3.



Obrázek 3: Molekulární mechanismy oxidačního stresu ve vztahu k DM (Ighodaro, 2018)

Novější studie naznačují, že je jednou z příčin dysfunkce beta buněk a inzulínové rezistence (Nowotny, 2015). Rizikové faktory jako jsou obezita, vysoký věk, špatné stravovací návyky nebo nedostatečná fyzická aktivita, přispívají ke vzniku oxidačního prostředí, které může mít za následek zvýšení inzulínové rezistence nebo narušení glukózové tolerance (Rains, 2011).

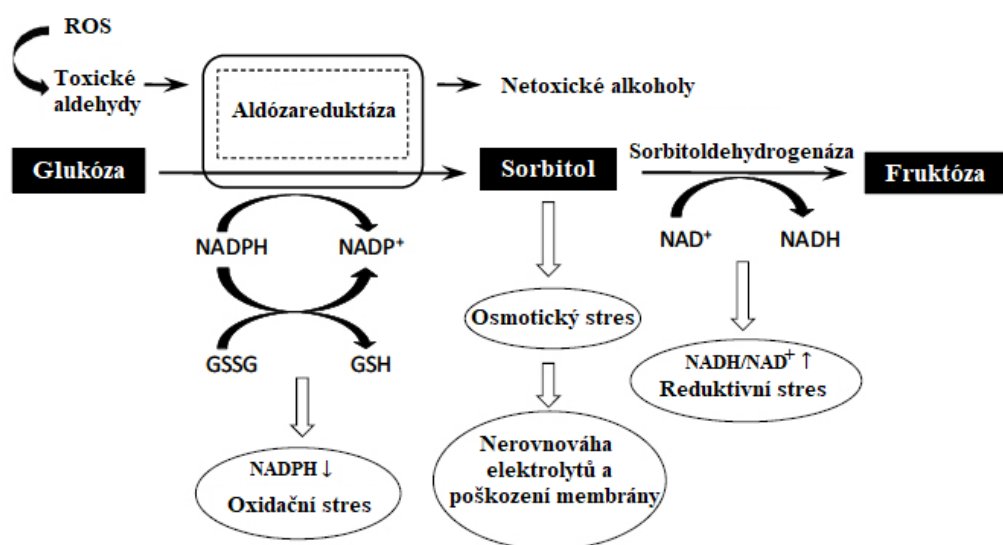
Bylo prokázáno, že diabetici mají větší tendenci ke vzniku vnitřního oxidačního prostředí než zdraví lidé, mají zvýšenou tvorbu ROS a zároveň snížené hladiny antioxidantů (Rains, 2011). K potlačení antioxidantů dochází, protože při chronické hyperglykémii je produkce ROS nadměrná a stálá (Ighodaro, 2018).

Hlavním vyvolavatelem zvýšeného oxidačního stresu je chronická hyperglykémie. Oxidačnímu stresu přispívá přímým generováním ROS nebo změnou redoxní rovnováhy (Rains, 2011). Glukóza má schopnost spontánní autooxidace. Její struktura také umožňuje, aby reagovala s proteiny, při čemž dochází ke změně jejich vlastností. Vlivem hyperglykémie se mění průběh reakcí a dochází k nadměrné produkci látek podmiňujících poruchu regulace a funkce buněk (Škrha, 2010a).

### 2.3.1 Polyolová cesta

Polyolová cesta, znázorněná na obrázku 4, vede k redukci glukózy na sorbitol prostřednictvím aldózoreduktázy s účastí NADPH jako donoru vodíku. Sorbitol se následně oxiduje na fruktózu za katalýzy enzymem sorbitoldehydrogenázou, při čemž dochází k redukci  $\text{NAD}^+$  na NADH. Hlavní funkcí aldózoreduktázy je redukce toxických aldehydů na netoxické alkoholy (Rains, 2011). Za normálních glykemických podmínek má aldózoreduktáza nízkou afinitu ke glukóze a k přeměně na sorbitol touto cestou tak dochází

jen minimálně. Glukóza je využívána k tvorbě energie ve formě ATP a k produkci NADPH a ribózy v pentózafosfátové dráze (Yan, 2018).



Obrázek 4: Polyolová cesta (Singh Grewal, 2015)

U DM je polyolová cesta velmi aktivní. V organismu s DM je až 30 % glukózy spotřebováváno polyolovou cestou. Při hyperglykémii dochází ke zvýšení enzymatické aktivity a zvýšení produkce sorbitolu, což vede k poklesu NADPH. NADPH je nezbytným kofaktorem pro produkci glutathionu, významného intracelulárního antioxidantu (Yan, 2018). Protože glukóza poskytuje elektrony, které jsou uloženy především v NADH, hyperglykémie vede ke zvýšení obsahu NADH. Důsledkem je narušení poměru NADH ku NAD<sup>+</sup>. Výsledkem je redoxní nerovnováha, která může způsobit aktivaci proteinkinázy C (PKC) a inhibici enzymu glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenázy (Rains, 2011).

Škodlivé účinky má také hromadění sorbitolu. V některých tkáních, například v sítnici může akumulace sorbitolu změnit osmotický tlak buněčné membrány a vyvolat osmotický stres, který je považován za základní mechanismus diabetické retinopatie. Je zapojen také při diabetické nefropatii a renální dysfunkci (Johansen, 2005).

Dalším negativním dopadem zvýšení polyolové cesty je akumulace fruktózy. Její nadměrná produkce může mít vážné metabolické důsledky. Pokud dojde k metabolizaci fruktózy, vzniká 3-deoxyglukóza a fruktóza-6-fosfát. Obě tyto sloučeniny jsou silná neenzymatická glykační činidla. Při metabolizaci fruktózy za účasti fruktokinázy je spotřebováváno ATP. Může tak dojít k úplnému vyčerpání ATP, a tím ke smrti buňky. Také



může dojít k nadprodukci acetylkoenzymu A, což vede k vyšší acetylaci proteinů. To způsobuje ztrátu funkce těchto proteinů. Nedostatek  $\text{NAD}^+$  způsobuje snížení aktivity sirtuinů, což dále zhoršuje acetylaci proteinů (Yan, 2018).

U DM se dříve předpokládalo, že nejdříve dochází k poškození DNA, což způsobuje *up* regulaci aktivity poly-ADP-ribózo-polymerázy (PARP). Protože PARP využívá  $\text{NAD}^+$  jako substrát při opravách poškozené DNA, dochází při její *up* regulaci ke snížení hladiny  $\text{NAD}^+$ . V současných výzkumech bylo zjištěno, že snížené hladiny  $\text{NAD}^+$  vlivem zvýšené aktivity polyolové dráhy způsobují narušení aktivity PARP, což má za následek nedostatečnou opravu DNA. Je pravděpodobné, že polyolová cesta a cesta PARP společně zhoršují progresi diabetu (Yan, 2018).

### 2.3.2 Autooxidace glukózy

Glukóza, stejně jako jiné monosacharidy, existuje v rovnováze se svým endiolem. Ten může v přítomnosti přechodných kovů podléhat autooxidaci za vzniku endiolového radikálu. Endiolový radikál redukuje molekulární kyslík za vzniku superoxidového radikálu, přičemž se sám oxiduje na dikarboxylový ketoaldehyd, který může reagovat s aminoskupinou proteinu. Při této reakci vzniká ketoamin. Ketoaminy jsou podobné Amadoriho produktům, ale jsou reaktivnější a podílejí se na tvorbě konečných produktů pokročilé glykace (AGE). Tvorba AGE je rychlejší v přítomnosti kyslíku a anaerobní podmínky ji zpomalují (Ahmed, 2005).

### 2.3.3 Konečné produkty pokročilé glykace

AGE je skupina heterogenních sloučenin, které mají škodlivý potenciál a při hyperglykémii se tvoří stále více a více (Nowotny, 2015). Bylo prokázáno, že akumulace AGE ve tkáních při DM 2. typu koreluje s diabetickými komplikacemi (Tan, 2011).

AGE vznikají reakcí aldehydových nebo ketonových skupin redukujících cukrů s volnou aminoskupinou proteinů za vzniku kovalentní vazby. Produkt této reakce se nazývá Schiffova báze. Při dlouhotrvající hyperglykémii dochází k Amadoriho přesmyku a Schiffova báze se přeskupí na Amadoriho produkt, což je stabilnější ketoamin (Ahmed, 2005). Amadoriho produkty jsou však relativně nestabilní a dochází k dalším reakcím, které vedou ke vzniku nevratných AGE. Nejznámější cesta, kterou jsou AGE tvořeny, je Maillardova reakce. Během všech fází Maillardovy reakce se tvoří vysoce reaktivní karboxylové sloučeniny. Například glyoxal, methylglyoxal nebo 3-deoxyglukoson. Jejich hladiny jsou v plazmě pacientů s DM 2. typu zvýšené a vedou ke vzniku velkého množství AGE. Glyoxal způsobuje tvorbu N-karboxymethyllysinu, glyoxal-lysinového dimeru, N-karboxymethylargininu nebo

S-karboxymethylcysteinu. Methylglyoxal vede ke vzniku N-karboxyethyllysinu nebo methylglyoxal-lysinového dimeru. 3-deoxyglukoson způsobuje tvorbu pyrrolinu, pentosidinu, imidazolonu a N-karboxymethyllysinu (Nowotny, 2015).

Zvýšená glykace proteinů a hromadění AGE ve tkáních může narušovat aktivitu enzymů, snižovat vazbu ligandů a měnit imunogenitu. U diabetických pacientů byla popsána přítomnost protilátek proti sérovým AGE, které jsou schopné tvořit imunokomplexy a mohou mít význam ve vývoji aterosklerózy. Volné radikály vzniklé při glykaci mohou způsobovat fragmentaci proteinů a oxidaci nukleových kyselin a lipidů. Aminoskupiny adeninových a guaninových bází DNA jsou také velmi citlivé na glykaci. AGE se mohou tvořit na fosfolipidech a reakcí mezi glukózou a aminoskupinami fosfolipidů indukovat peroxidaci lipidů (Ahmed, 2005).

AGE se často nacházejí v extracelulární matrix. Díky tomu dochází k modifikaci zde přítomných proteinů, což může vést ke smrti buněk, jejich diferenciaci nebo ke snížení adheze či migrace buněk. Častým cílem modifikací jsou také intracelulární proteiny a tvorba AGE zhoršuje jejich funkce. Dochází zde ke změnám způsobeným přímo v proteinových strukturách, ale i k poškození zprostředkovanému navázáním AGE na receptor pro AGE (RAGE). RAGE patří do imunoglobulinové rodiny. Vazba ligandu na RAGE aktivuje NADPH oxidázy, což vede k další tvorbě AGE a ke zvýšení tvorby intracelulárních ROS. Zvýšení ROS aktivuje jaderný transkripční faktor kappa B (NF- $\kappa$ B). Aktivace NF- $\kappa$ B stimuluje expresi prozánětlivých cytokinů jako je IL-6 nebo monocytový chemoatrakční protein 1 (MCP-1) (Chavakis, 2003).

Studie prokázaly, že významným zdrojem AGE jsou také běžně přijímané potraviny. U potravin bohatých na proteiny a lipidy bylo stanoveno vysoké množství N-karboxymethyllysinu na rozdíl od potravin bohatých na sacharidy. Studie prokázaly, že příjem AGE v potravě koreluje s jejich koncentrací v krevním séru (Uribarri, 2011).

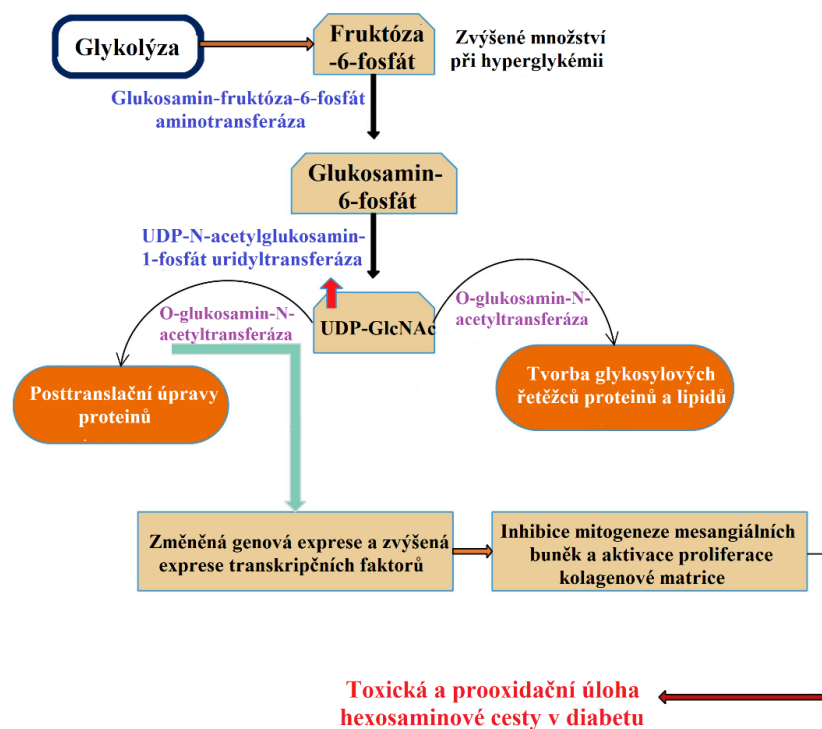
Bylo prokázáno, že glykovaný albumin podporuje expresi TNF  $\alpha$ , který potlačuje inzulínovou signalizaci. Důsledkem je snížená fosforylace inzulínového receptoru, což vede ke zhoršení signalizace inzulínu a k inhibici inzulínem zprostředkovaného metabolismu glukózy (Nowotny, 2015).

Významným faktorem přispívajícím k inzulínové rezistenci je přímá glykace inzulínu. Inzulín není typickým cílem modifikace AGE, přesto v jeho molekule byla nalezena glykační místa. V lidském organismu byla prokázána glykace inzulínu v poloze fenylyalaninu na aminovém konci B řetězce. Navíc reakcí glyoxalu s inzulínem vznikají N-terminální

pyrazinony, které patří do skupiny AGE. Glykace inzulínu negativně ovlivňuje jeho funkci (Nowotny, 2015). Dále bylo zjištěno, že methylglyoxal vede k modifikacím argininového zbytku inzulínového B řetězce. To snižuje absorpci glukózy v buňkách citlivých na inzulín. Tento modifikovaný inzulín nemůže blokovat další sekreci inzulínu a dochází k hyperinzulinémii (Jia, 2006).

### 2.3.4 Hexosaminová cesta

Hexosaminová cesta, znázorněná na obrázku 5, se účastní metabolismu fruktózy-6-fosfátu vzniklého při glykolýze. K metabolizaci fruktózy-6-fosfátu dochází pomocí enzymu glukosamin-fruktóza-6-fosfát aminotransferázy. Vzniká glukosamin-6-fosfát, který se dále působením UDP-N-acetylglukosamin-1-fosfát uridylyltransferázy přeměňuje na UDP-N-acetylglukosamin (UDP-GlcNAc). UDP-GlcNAc je schopen modifikovat threoninové a serinové zbytky transkripčních faktorů (Ighodaro, 2018).



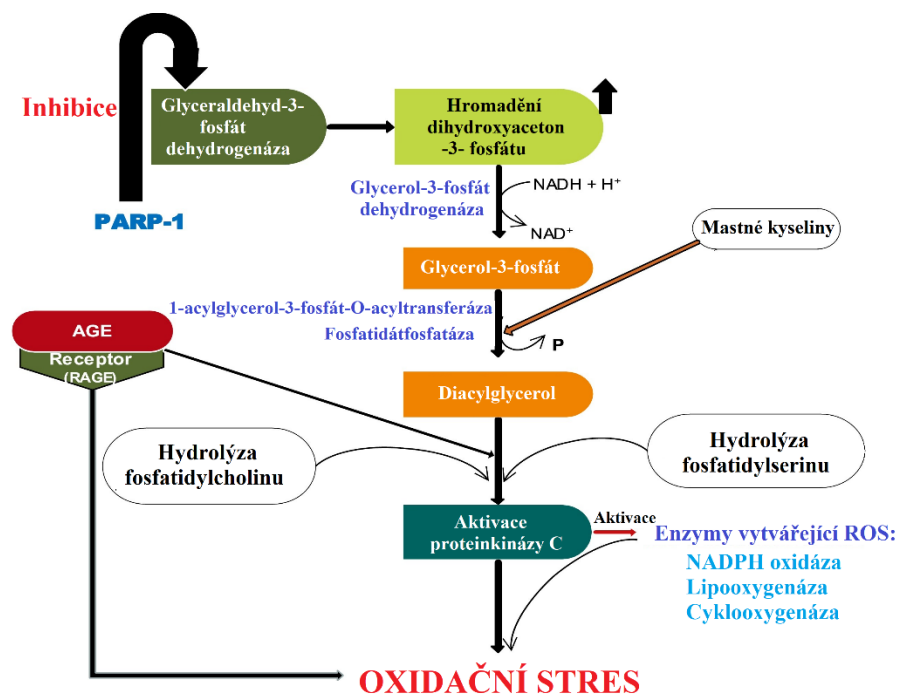
Obrázek 5: Hexosaminová cesta (Ighodaro, 2018)

Za fyziologických podmínek je do hexosaminové cesty směřováno jen velmi malé množství fruktózy-6-fosfátu. Při hyperglykémii je aktivita hexosaminové cesty a hladina UDP-GlcNAc zvýšená. Dochází k nadměrné aktivaci transkripčních faktorů, což vede k patologickým změnám genové exprese (Brownlee, 2005). Jedná se o transformující růstové faktory TGF- $\alpha$  a TGF- $\beta$ . Tyto faktory inhibují mitogenezi mesangiálních buněk, aktivují proliferaci kolagenové matrice a bazální membrány (Ighodaro, 2018).

### 2.3.5 Cesta proteinkinázy C

PKC je enzym, který ovlivňuje aktivitu proteinů procesem fosforylace. Hraje klíčovou roli v buněčných signalizačních drahách týkajících se diacylglycerolu, fosfatidylserinu a vápníku (Brownlee, 2005).

Při hyperglykémii dochází ke zvýšené aktivaci PARP, která inhibuje glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenázu. To vede k hromadění glycerinaldehyd-3-fosfátu a zvýšené hladině dihydroxyaceton-3-fosfátu. Dihydroxyaceton-3-fosfát se redukuje na glycerol-3-fosfát, který reaguje s mastnými kyselinami, což vede ke zvýšení syntézy diacylglycerolu *de novo*. Zvýšená hladina diacylglycerolu *up* reguluje dráhu PKC stejně jako interakce mezi AGE a RAGE. Zvýšená aktivita cesty PKC stimuluje produkci enzymů vytvářejících ROS, jako jsou NADPH-oxidázy, lipooxygenázy a cyklooxygenázy (Ighodaro, 2018). Tento proces je zobrazen na obrázku 6.



Obrázek 6: Cesta proteinkinázy C (Ighodaro, 2018)

Při aktivaci PKC hyperglykemií dochází k ovlivnění genové exprese. Aktivován je například NF- $\kappa$ B, který stimuluje expresi prozánětlivých genů ve vaskulární tkáni, také je aktivován VEGF, který ovlivňuje permeabilitu kapilár a vede k angiogenezi. Dále to může být TGF- $\beta$ , který stimuluje tvorbu fibronektinu a kolagenu, což způsobuje okluzi kapilár (Brownlee, 2005). Některé izoformy PKC mohou aktivovat polyolovou cestu (Román-Pintos, 2016).

### 2.3.6 Peroxidace lipidů

Peroxidace lipidů je proces, při kterém oxidanty napadají lipidy obsahující dvojnou vazbu. Nejčastějším cílem bývají polynenasycené mastné kyseliny (PUFA). Dále glykolipidy, fosfolipidy a cholesterol (Girotti, 1998). Dvojná vazba oslabuje vazbu mezi uhlíkem a vodíkem. Proto jsou PUFA k peroxidaci náchylnější než další biomolekuly (Štípek, 2000). Výsledkem oxidace je tvorba hydroperoxidů (Girotti, 1998). Tyto hydroperoxydy jsou redukovány glutathionperoxidázami. Aktivita glutathionperoxidáz se ale při DM snižuje, což má za následek akumulaci hydroperoxidů (Catalá, 2009). Při peroxidaci lipidů se tvoří také N-karboxymethyllysin a N-karboxyethyllysin, významné AGE (Huijberts, 2008).

Fyziologicky je peroxidace lipidů spojena s buněčnou apoptózou. Jedním z důsledků nadměrného oxidačního stresu je degradace lipidů a tvorba oxidovaných lipidových produktů. Specifické oxidované lipidové produkty jsou rozpoznávány jako cíle vrozené imunity, působí jako spouštěče sterilního zánětu a jako modulátory zánětlivé reakce (Binder, 2017).

V organismu probíhají dva typy peroxidace lipidů. Jedná se o neenzymatickou a enzymatickou lipoperoxidaci.

#### 2.3.6.1 Neenzymatická peroxidace lipidů

Neenzymatická peroxidace lipidů je řetězová reakce, která neustále poskytuje volné lipidové radikály pro další peroxidaci. Proces je nejčastěji vyvolán nespecifickým patologickým faktorem. Výsledkem je směs produktů, protože řetězec mastných kyselin se snadno štěpí. Vznikají uhlovodíky s krátkým řetězcem (ethan, pentan) a toxické aldehydy jako malondialdehyd a 4-hydroxynonenal. Ty se vážou na proteiny a mění jejich funkci a životnost (Štípek, 2000). U diabetiků jsou hladiny těchto aldehydů v krvi i ve tkáních zvýšeny. Bylo zjištěno, že malondialdehyd je nejvíce mutagenní produkt a 4-hydroxynonenal je nejvíce toxický produkt peroxidace lipidů (Ayala, 2014). Neenzymatická peroxidace lipidů se skládá ze 3 fází: iniciace, propagace a terminace.

Ve fázi iniciace zahajují oxidanty, například hydroxylový radikál nebo hydroperoxyd, radikálovou reakci v membránových lipidech. Dochází k vytrhnutí atomu vodíku z methylenové skupiny uhlovodíkového řetězce mastné kyseliny (LH). Z mastné kyseliny se tak stává radikál (L•) (Štípek, 2000). Tato reakce je vyjádřena v rovnici 4.



Po odtržení vodíku se mění uspořádání v uhlovodíkovém řetězci mastné kyseliny a vzniká konjugovaný dien. Tyto látky snadno reagují s kyslíkem za vzniku peroxylového radikálu ( $\text{LOO}\cdot$ ), což je znázorněno v rovnici 5 (Štípek, 2000).

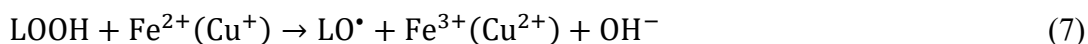


Další fází je propagace, kdy peroxylový radikál vytrhne elektron z mastné kyseliny sousedního lipidu. Tato mastná kyselina se stává radikálem a z peroxylového radikálu se stává lipidový hydroperoxid ( $\text{LOOH}$ ), jak je znázorněno v rovnici 6 (Štípek, 2000).

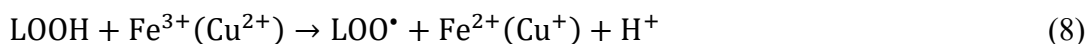


Tato radikálová reakce se propaguje do té doby, než se radikál PUFA setká s dalším radikálem nebo antioxidantem, kdy dojde ke vzniku stabilní sloučeniny a řetězová reakce se ukončí (fáze terminace) (Štípek, 2000).

Změny v lipidech ale pokračují i po fázi terminace. Při uvedených reakcích vznikají hydroperoxydy a cyklické peroxidy mastných kyselin. Ty se chovají poměrně stále. Pokud se ale setkají s přechodnými kovy, které katalyzují Fentonovu reakci, stávají se z lipidových hydroperoxidů alkoxylové radikály ( $\text{LO}\cdot$ ) (Štípek, 2000; Catalá, 2009). Tato reakce je vyjádřena v rovnici 7.



V případě reakce hydroperoxidu s iontem trojmocného železa nebo dvojmocné mědi vzniká peroxylový radikál, viz rovnice 8. To vysvětluje stimulaci peroxidace lipidů přítomností redukční látky (Štípek, 2000).



Podobně jako volné železo je účinným katalyzátorem urychlujícím lipoperoxidaci hem (Schwarzer, 2015).

### 2.3.6.2 Enzymatická peroxidace lipidů

K lipoperoxidaci může docházet také na aktivních místech enzymů, jako jsou lipooxygenázy, cyklooxygenázy a cytochrom P450. Tyto enzymy mohou indukovat buněčnou smrt nebo naopak podporovat přežití buněk. To záleží na specifických metabolických podmínkách a opravných kapacitách buněk (Ayala, 2014). Produktem enzymatické peroxidace lipidů jsou biologicky aktivní prostaglandiny a leukotrieny, důležité v ochranných procesech a pro řízení buněčných dějů. Meziprodukty reakcí enzymatické lipoperoxidace jsou volné

radikály, které ale nejsou uvolňovány z enzymu, a proto nejsou škodlivé. Vznikají i oxidanty, ty jsou však zneškodněny antioxidačním systémem (Štípek, 2000).

### **2.3.7 Nitrace tyrosinu**

Oxidační stres při DM 2. typu je úzce spojen s rozvojem endotelové dysfunkce. Vlivem působení superoxidového radikálu na oxid dusnatý za hyperglykemických podmínek vzniká peroxynitrit, který reaguje s tyrosinem v proteinech. Touto reakcí vzniká nitrotyrosin s cytotoxickými účinky. Zvýšená hladina nitrotyrosinu je spojena s apoptózou myocytů, endoteliálních buněk a fibroblastů. Pokud vzniká nitrotyrosin v molekule enzymu, dochází ke zhoršení jeho katalytické aktivity. Toto bylo prokázáno u enzymů superoxiddismutázy a prostacyklinsyntázy. Díky snížení dostupnosti oxidu dusnatého pro vazodilatační účinky dochází k poruchám angiogeneze v myokardu (Škrha, 2010a). Přítomnost proteinů s modifikovaným nitrotyrosinem zvyšuje riziko vzniku aterosklerózy (Thomson, 2015).

### 3 ZÁNĚT

Obecně je zánět imunitním systémem zprostředkovanou reakcí organismu na chemické či mechanické poškození tkáně. Akutní zánět je fyziologickou odpovědí hostitele na patogeny. Pokud nedojde k resoluci zánětu a zánětlivá reakce přetrvává, dojde k narušení homeostatické rovnováhy a permanentní stimulaci imunitních buněk (granulocytů nebo makrofágů), rozvíjí se chronický zánět. Neutrofilní granulocyty aktivované při chronickém zánětu vytvářejí proteolytické enzymy, antibakteriální proteiny, ROS, RNS a různé volné radikály (Schröter, 2016). Chronický zánět se kromě diabetu podílí také na vzniku hypertenze, aterosklerózy a některých druhů rakoviny (Chang, 2016; Goldfine, 2017).

#### 3.1 Zánět v patogenezi DM 2. typu

DM 2. typu je spojen s metabolickou dysregulací, oxidačním stresem a chronickým subklinickým zánětem (Škrha, 2010b). Metabolická dysregulace a chronický zánět u pacientů s DM 2. typu jsou zodpovědné za zvýšenou kardiovaskulární morbiditu a mortalitu (Karstoft, 2016). Bylo prokázáno, že chronický zánět je rozhodujícím faktorem přispívajícím k progresi DM 2. typu. V beta buňkách pacientů s DM 2. typu byla prokázána vyšší exprese IL-1 $\beta$ . Předpokládá se, že IL-1 $\beta$  je zodpovědný za snížení proliferace beta buněk, zhoršenou sekreci inzulínu a zvýšení apoptózy beta buněk (Anděl, 2009).

Nadbytek živin a nedostatek pohybu při DM 2. typu vede k hypertrofii adipocytů a narušení inzulínové senzitivity v cílových tkáních. Hypertrofované adipocyty a změněná tuková tkáň nadměrně produkují prozánětlivé cytokiny. Tyto cytokiny jsou produkovány převážně makrofágy. Jedná se především o TNF  $\alpha$ , IL-6, IL-1 a IL-8. Spolu se zvýšenou hladinou volných mastných kyselin (například palmitátu), uvolňovaných při lipolýze, způsobují mírný prozánětlivý stav (Anděl, 2009). Zvětšování objemu adipocytů při obezitě vede k produkci MCP, díky kterému jsou makrofágy do tukové tkáně ve zvýšené míře přitahovány. Následně dochází k zadržování makrofágů v tukové tkáni působením dalších faktorů, též produkovaných adipocyty. Například jsou to faktor inhibující migraci makrofágů (MIF) nebo faktor stimulující kolonie makrofágů-1 (M-CSF-1). Makrofágy se v tukové tkáni koncentrují především kolem hypertrofických, umírajících nebo mrtvých adipocytů, kde odumírající tukové buňky likvidují (Matulewicz, 2016). Při vyšší koncentraci cytokinů produkovaných makrofágy se aktivují vnitrobuněčné signalizační dráhy. Součástí těchto drah jsou regulační serin/threonin kinázy c-Jun NH<sub>2</sub>-terminální kináza (JNK), proteinkináza C (PKC) a *mammalian target of rapamycin* (mTOR), které jsou schopny snížit signalizaci inzulínovým receptorem, což vede ke vzniku inzulínové rezistence (Anděl, 2009).



Chronický subklinický zánět zhoršuje inzulínovou rezistenci. IL-6 zvyšuje produkci C reaktivního proteinu v játrech, což může podpořit vznik nebo progresi aterosklerózy a může vést i k poškození beta buněk. Zánětlivý proces v pankreatu je důsledkem současného působení hyperglykémie, hyperlipidémie a cirkulujících cytokinů. V beta buňkách dochází k infiltraci Langerhansových ostrůvků imunitními buňkami. Také dochází k fibróze a vzniku depozit amyloidu (Anděl, 2009). U obézních pacientů byly stanoveny vyšší hladiny cirkulujícího amyloidu. Ačkoliv není tento amyloid shodný s amyloidem deponovaným v nervových buňkách, bylo prokázáno, že chronický zánět spojený s obezitou a nekontrolovaným diabetem zvyšuje riziko vzniku Alzheimerovy choroby (Xu, 2009).

Vlivem vysokých nároků na pankreatickou sekreci inzulínu vzniká stres endoplazmatického retikula v beta buňkách, který je dále potencován prozánětlivými cytokiny a aktivovanými signalizačními kaskádami. Při stresu endoplazmatického retikula dochází k aktivaci kinázy inhibitoru  $\kappa$  B (IKK) a JNK. Tyto kinázy jsou klíčové při regulaci zánětlivé odpovědi, diferenciaci a apoptóze buněk. Jejich hlavním účinkem je omezení přenosu signálu z inzulínového receptoru do buněk a stimulace sekrece prozánětlivých cytokinů. IKK i JNK lze aktivovat přímo zvýšenou koncentrací volných mastných kyselin (Anděl, 2009).

### **3.2 C-Jun NH<sub>2</sub>-terminální kináza**

JNK je serin/threoninová zánětlivá kináza. Patří do rodiny MAPK. Existují tři izoformy JNK. JNK1 a JNK2 jsou téměř ve všech buňkách a podporují rozvoj inzulínové rezistence a obezity. JNK3 je lokalizována v mozku, srdci a varlatech, a naopak chrání před nadměrnou adipozitou (Solinas, 2017).

Cesta JNK se zapojuje při proliferaci a apoptóze buněk. JNK je v tukové tkáni aktivována prozánětlivými cytokiny IL-6, IL-1 $\beta$  a TNF  $\alpha$ . Dále může být aktivována díky stresu endoplazmatického retikula, změnami hladiny ROS, pomocí volných mastných kyselin, inzulínu nebo ceramidů (Tang, 2018).

JNK zprostředkovává inzulínovou rezistenci tím, že interferuje s inzulínovou signalizací. Také zprostředkovává glukózou indukovanou dysfunkci beta buněk (Tang, 2018). Chronická aktivace JNK má různé účinky v různých tkáních, jak je znázorněno na obrázku 7. V tukových buňkách způsobuje zvýšení exprese prozánětlivých cytokinů, které dále podporuje zvýšení koncentrace M1 makrofágů. V pankreatu je snížena sekrece inzulínu a dochází ke smrti beta buněk. V hypothalamu vzniká centrální inzulínová rezistence, která má vliv na energetickou homeostázu. V játrech vede aktivace JNK k jaterní rezistenci na inzulín, ke vzniku steatózy

a smrti hepatocytů. Aktivace JNK způsobuje inzulínovou rezistenci kosterního svalstva, inzulínovou rezistenci a smrt kardiomyocytů (Yung, 2020).



Obrázek 7: Účinky aktivace JNK v různých tkáních (Yung, 2020)

JNK řídí inzulínovou rezistenci při obezitě prostřednictvím čtyř mechanismů. Jedná se o přímou inhibiční fosforylaci substrátů inzulínového receptoru, která zabraňuje správné funkci inzulínového receptoru. Dále podněcování vzniku a progresu metabolického zánětu aktivací makrofágů, čímž se zvyšuje i hladina prozánětlivých cytokinů. Třetím mechanismem je inhibice thyreoidální hormonální osy, kdy snížená hladina thyreotropního hormonu vede ke snížení hladiny cirkulujících hormonů štítné žlázy, ke zvýšení metabolické činnosti a zvýšení adipozity. Posledním mechanismem je inhibice PPAR $\alpha$ -FGF21 osy (osa peroxizomového proliferátoru  $\alpha$  a fibroblastového růstového faktoru 21) v hepatocytu. JNK potlačuje receptor aktivovaný pomocí PPAR $\alpha$ , dochází ke zvýšení oxidace mastných kyselin a rozvoji inzulínové rezistence (Vernia, 2014; Solinas, 2017).

### 3.3 Jaderný faktor $\kappa$ B

Jaderný faktor  $\kappa$  B (NF- $\kappa$ B) je transkripční faktor exprimovaný ve všech typech savčích buněk. Je potřebný pro transkripci adhezních molekul, enzymů, cytokinů a chemokinů. Indukuje transkripci genů, které zprostředkovávají obranné procesy, zánětlivé reakce, apoptózu, proliferaci a stárnutí buněk. Je to hlavní regulátor chronického zánětu, který kontroluje expresi stovek genů zapojených do imunitní odpovědi a tkáňových procesů. V cytoplazmě je přítomen v neaktivní formě a jeho aktivita je řízena inhibítoem NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) a kinázovým komplexem molekuly I $\kappa$ B (IKK) (Muriach, 2014).

NF- $\kappa$ B je hlavním faktorem inzulínové rezistence. Nadměrná exprese IKK v játrech způsobuje jeho trvalou aktivaci. NF- $\kappa$ B je citlivý na oxidační stres vyvolaný hyperglykemií.

Dlouhodobá hyperglykémie také vede k aktivaci PKC a k tvorbě AGE, které přímo aktivují NF- $\kappa$ B v buňkách cévní svaloviny. Přítomnost aktivovaného NF- $\kappa$ B byla prokázána v aterosklerotických lézích, což prokazuje jeho vliv na vaskulární diabetické komplikace (Patel, 2009).

Aktivace NF- $\kappa$ B a následná prozánětlivá dráha mohou vést k narušení fyziologické buněčné signalizace a metabolismu. Takto zapříčiněné poruchy byly prokázány i v hypothalamu, což má za následek změny v sekreci inzulínu (Muriach, 2014).

### **3.4 Tuková tkáň v patogenezi chronického zánětu**

Tuková tkáň produkuje bioaktivní proteiny, které se dají snadno detekovat a reflektují zánětlivý stav organismu. Jedná se o TNF  $\alpha$ , IL-6, rezistin, leptin, adiponektin, MCP-1, inhibitor plazminogenového aktivátoru a angiotenzinogen. Tuková tkáň v různých lokalizacích se liší. Viscerální a subkutánní tuková tkáň se liší velikostí buněk, metabolickou aktivitou a účastí v inzulínové rezistenci. Více patogenní je viscerální tuk. Ve studiích na hlodavcích bylo prokázáno, že některé makrofágy v tukové tkáni obézních hlodavců jsou velké a mnohojaderné. Tyto mnohojaderné buňky vznikají vzájemnou fúzí nebo pohlcením makrofágů a jsou často lokalizovány v místech chronického zánětu. Makrofágy se mohou shlukovat spolu s těmito vícejadernými buňkami v místech nekrózy adipocytů (Shoelson, 2006).

Makrofágy tukové tkáně mají hlavní roli v chronickém zánětu nízkého stupně. Uvolňují cytokiny a proteázy, kromě toho ale také působí při prezentaci antigenu a aktivaci T lymfocytů. V tukové tkáni existují dva fenotypy makrofágů: M1 a M2. V buňkách fenotypu M1 jsou spuštěny signální dráhy závislé na NF- $\kappa$ B. Tyto makrofágy jsou aktivovány v reakci na interferon gama, lipopolysacharidy nebo ligandy *toll like* receptorů (TLR). Jsou hlavním zdrojem prozánětlivých cytokinů včetně IL-1, IL-6 a TNF  $\alpha$  (Matulewicz, 2016). Produkují také IL-12, který podporuje rozvoj zánětu, stimuluje T lymfocyty a NK buňky. M1 fagocytují a degradují odumřelé buňky, pohlčené mikroorganismy a imunokomplexy v poškozených tkáních. Makrofágy M2 jsou aktivovány alternativně a vznikají z klidových makrofágů pod vlivem cytokinů IL-4 a IL-13. Jejich hlavní funkcí je hojení tkání (Hořejší, 2015). Produkují množství protizánětlivých cytokinů, například IL-10. Lidé s normální tělesnou hmotností mají v tukové tkáni především makrofágy M2, u lidí s obezitou převažují M1 (Matulewicz, 2016).

Při obezitě je v tukové tkáni nerovnováha mezi pomocnými T lymfocyty (Th). Množství Th1 se zvyšuje a Th2 snižuje. Th1 syntetizují cytokiny IL-2, interferon gama a TNF  $\alpha$ , které

podporují aktivaci cytotoxických T lymfocytů (T<sub>c</sub>) a tvorbu makrofágů M1, což spolu s nedostatkem Th2 podporuje rozvoj zánětu a inzulínové rezistence (Matulewicz, 2016).

Na chronickém zánětlivém procesu se mohou podílet i jiné typy buněk v tukové tkáni. Tuková tkáň je velmi vaskularizovaná. Endotelové buňky tukové tkáně mohou zvyšovat expresi adhezních proteinů v reakci na zvýšenou adipozitu. MCP-1 podporuje prostup krevních monocytů do subendoteliálního prostoru a stimuluje jejich diferenciaci na makrofágy. V endotelu tedy vlivem obezity dochází k zánětlivým změnám. Protože makrofágy většinou nefungují samy o sobě, pravděpodobně se na zánětu tukové tkáně podílejí i jiné imunitní buňky (Shoelson, 2006).

### **3.5 Jaterní tkáň v patogenezi chronického zánětu**

Obezitou jsou ovlivněna také játra. Porucha inzulínové signalizace je doprovázena zvýšeným hromaděním triacylglycerolů v hepatocytech, což vede k nealkoholovému ztučnění jater. V důsledku inzulínové rezistence a poruchy oxidace volných mastných kyselin se tvoří ROS, což zvyšuje peroxidaci lipidů a syntézu prozánětlivých látek. Následně vzniká nealkoholická tuková jaterní choroba, která může být příčinou jaterní fibrózy a cirhózy (Matulewicz, 2016). Se zvyšující se adipozitou se v játrech zvyšuje exprese prozánětlivých genů. Akumulace lipidů v hepatocytech vyvolává subakutní zánětlivou odpověď, která je podobná zánětu tukové tkáně.

Prozánětlivé látky v portálním řečišti produkované viscerálními adipocyty mohou vyvolat zánět jater. V hepatocytu je aktivován NF- $\kappa$ B a ve ztučnělých játrech dochází k nadměrné produkci IL-6, IL-1 $\beta$  a TNF  $\alpha$ . Tyto prozánětlivé cytokiny a volné mastné kyseliny aktivují Kupfferovy buňky a účastní se vývoje inzulínové rezistence (Shoelson, 2006). Při zánětem vyvolané inzulínové rezistenci mohou mít vliv kromě jaterních makrofágů také další imunitní buňky jako T a B lymfocyty, NK buňky a dendritické buňky (Matulewicz, 2016).

### **3.6 Svalová tkáň v patogenezi chronického zánětu**

Při nadbytku volných mastných kyselin v krvi dochází k jejich ukládání do svalů a k hromaděni ceramidů a diacylglycerolů. Studie prokázaly, že obsah ceramidů ve svalovině obézních lidí je vyšší než u štíhlých a pozitivně koreluje s inzulínovou rezistencí (Straczkowski, 2007). Lipidy uložené ve svalech mohou aktivovat prozánětlivé mechanismy. Důležitá je také role některých izoform PKC, které aktivují IKK. Kromě toho je u pacientů s DM 2. typu zvýšená exprese genu pro TLR-4. Volné mastné kyseliny prostřednictvím TLR-4 aktivují prozánětlivé dráhy NF- $\kappa$ B a JNK (Matulewicz, 2016). V důsledku aktivace NF- $\kappa$ B dochází

ke zvýšení exprese a sekrece svalového IL-6 a k narušení signalizace inzulínu v kosterní svalovině (Straczkowski, 2007).

Trvalá nadměrná nabídka glukózy a mastných kyselin při DM 2. typu v kosterním svalu poškozují schopnost mitochondrií přepnout mezi využíváním lipidů během půstu a postprandiálním využitím sacharidů. Nadměrný přísun sacharidů přesahuje buněčnou poptávku po ATP (Nisr, 2019). Důsledkem je neúplná oxidace mastných kyselin a vznik většího množství lipotoxických diacylglycerolů a ceramidů, které se účastní patogeneze inzulínové rezistence.

### **3.7 Cévní endotel v patogenezi chronického zánětu**

V membráně endoteliálních buněk jsou přítomny inzulínové receptory. Inzulín v buňkách endotelu stimuluje uvolňování NO, významného vazodilatantu. Tento proces závisí na fosfatidylinositol-3-kináze (PI3K) a proteinkináze B. Obě tyto kinázy jsou nutné při produkci NO závislé na inzulínu. Bylo prokázáno, že inzulín snižuje expresi MCP-1 v endotelu aorty snížením aktivity NF- $\kappa$ B (Aljada, 2001). Při inzulínové rezistenci vzniká nerovnováha mezi PI3K a MAPK cestami. Aktivita PI3K je snižena, což má za následek nižší uvolňování NO endotelem. Při nadměrné stimulaci MAPK jsou aktivovány intracelulární dráhy podílející se na buněčné proliferaci a zánětu cévní stěny, na endoteliální dysfunkci a vzniku aterosklerózy. To vysvětluje úzký vztah mezi inzulínovou rezistencí a aterosklerózou u pacientů s DM 2. typu (Matulewicz, 2016).

Zvýšení hladiny volných mastných kyselin v krvi také aktivuje zánětlivé dráhy v endotelu. Dochází ke zvýšení aktivity IKK $\beta$ , což snižuje produkci NO. Dlouhodobé zvýšení koncentrace volných mastných kyselin vede k narušení buněčného cyklu endotelu a způsobuje apoptózu. Z tukové tkáně jsou navíc uvolňovány prozánětlivé cytokiny způsobující endoteliální dysfunkci (Matulewicz, 2016).

Chronický zánět je společným rysem DM 2. typu a aterosklerózy. Jedno z přímých spojení mezi nimi je aktivace neutrofilní extracelulární pasti, což je zvláštní typ sítě tvořené chromatinem v extracelulárním prostoru. Tato síť zachycuje bakterie a vyvolává buněčnou smrt makrofágů odlišnou od apoptózy a nekrózy, takzvanou netózu, která zánět dále zhoršuje. Tento proces je zvýšený při chronickém zánětlivém stavu (Poznyak, 2020).

### 3.8 Úloha sfingolipidů při zánětu

Sfingolipidy jsou strukturně a funkčně rozmanité molekuly. Jsou odvozeny od alifatického aminoalkoholu sfingosinu. Nacházejí se v buněčných membránách a plazmatických lipoproteinech a mají důležitou roli v buněčné signalizaci. Metabolismus sfingolipidů má vliv na regulaci zánětlivých drah a zároveň zánětlivé cesty ovlivňují metabolismus sfingolipidů. Metabolity sfingolipidů, například ceramid, ceramid-1-fosfát a sfingosin-1-fosfát jsou významné signalizační molekuly, regulující buněčné procesy jako růst, stárnutí, apoptózu, adhezi, migraci a intracelulární transport (Hannun, 2008). Jsou významné především při zánětu a rakovině (Maceyka, 2014).

Patogeny, oxidační stres a cytokiny aktivují sfingomyelinázy, které iniciují vznik ceramidu. Ceramid aktivuje serin/threoninové proteinové fosfatázy. Jednou z těchto fosfatáz je proteinová fosfatáza 2A, která po aktivaci způsobuje defosforylaci proteinkinázy B, což má proapoptotický účinek (Maceyka, 2014). U obézních diabetiků TNF  $\alpha$  a IL-1 zvyšují aktivitu serinové palmitoyltransferázy, což zvyšuje syntézu ceramidu. Dochází ke zvýšení jeho plazmatické koncentrace, která s hladinou TNF  $\alpha$  pozitivně koreluje (Haus, 2009). Zvýšená hladina ceramidu a jeho tendence k samovolné asociaci způsobuje změny také v membránových doménách. Důsledkem je změna složení membrány a změna interakcí lipidů. Takto obohacené membránové domény se účastní řady signálních drah, včetně aktivace beta buněk, apoptózy a uvolňování cytokinů (Maceyka, 2014). Bylo prokázáno, že LDL obohacený o ceramid se hromadí v makrofázích a podporuje sekreci IL-6 a TNF  $\alpha$  (Boon, 2013). Ceramid je ligandem pro TLR-4, který iniciuje prozánětlivé cesty (Norris, 2017). Všemi těmito mechanismy ceramid podporuje zánět.

Dalším metabolitem zapojeným do signalizace je ceramid-1-fosfát. Ceramid-1-fosfát se podílí na produkci eikosanoidů tím, že aktivuje cytosolickou fosfolipázu A2 $\alpha$ , která uvolňuje arachidonát. Ceramid-1-fosfát také inhibuje enzym konvertující TNF  $\alpha$ , který je zodpovědný za štěpení pro-TNF  $\alpha$ , při čemž se uvolňuje aktivní zánětlivá forma TNF  $\alpha$  (Maceyka, 2014). Ceramid-1-fosfát však může mít i protizánětlivé vlastnosti závislé na typu buněk a tkání. Například exogenní ceramid-1-fosfát může v reakci na lipopolysacharid působit jako protizánětlivý regulátor tvorby TNF  $\alpha$  a exprese NF- $\kappa$ B. Pro objasnění dalších účinků ceramid-1-fosfátu jsou potřeba další studie (Hait, 2017).

Sfingosin-1-fosfát je bioaktivní signální molekula, která interakcí se svými receptory moduluje velké množství fyziologických i patologických procesů. Fyziologicky se vyskytuje

především v HDL a ve vazbě na albumin (Iqbal, 2017). Má význam v přirozené i adaptivní imunitě. Řídí diferenciaci imunitních buněk, v žírných buňkách přispívá k zánětlivým reakcím a reguluje produkci prozánětlivých cytokinů a eikosanoidů (Maceyka, 2014). U obézních pacientů je plazmatická hladina sfingosin-1-fosfátu je zvýšená. Zvýšená hladina sfingosin-1-fosfátu podporuje stres endoplazmatického retikula. Produkce a sekrece prozánětlivých cytokinů stimulovaná exogenním sfingosin-1-fosfátem výrazně zvyšuje sekreci chemokinů jako je MCP-1. Sfingosin-1-fosfát také zvyšuje aktivaci NF- $\kappa$ B a přispívá k ektopickému ukládání tuku (Norris, 2017). Je pravděpodobné, že sfingosin-1-fosfát podobně jako ceramid-1-fosfát nemá pouze prozánětlivé účinky. Tuto hypotézu je však nutné dále prozkoumat (Iqbal, 2017).

## 4 NOVÉ TRENDY V DIAGNOSTICE DM 2. TYPU

Dlouhodobé komplikace DM 2. typu nesou riziko invalidity nebo úmrtí. Neinvazivní přístup k monitorování těchto komplikací může zlepšit kvalitu života pacientů a pomoci při prevenci DM 2. typu.

### 4.1 Deoxysfingoidní báze

Sfingoidní báze jsou látky tvořící se ze serinu a palmitoyl-CoA. Reakce je katalyzována serin-palmitoyltransferázou, která kromě palmitoyl-CoA metabolizuje také další acyl-CoA s délkou uhlíkového řetězce od C12 do C18 a je variabilní i v reakci s jinými aminokyselinami.

Serin-palmitoyltransferáza je schopna metabolizovat alanin, a do jisté míry i glycin, což vede ke vzniku atypických deoxysfingoidních bází. Při reakci s alaninem vzniká deoxysfinganin a při reakci s glycinem se tvoří deoxymethyl-sfinganin.

Patologicky zvýšená koncentrace deoxysfingoidních bází byla identifikována jako příčina dědičné sensorické neuropatie. Hereditární sensorická neuropatie je klinicky velmi podobná s diabetickou neuropatií, i přes různou etiologii. Oba tyto stavy mají pozvolnou progresi, pozdní nástup a jsou spojeny s kožními vředy (Bertea, 2010).

V klinické studii Bertea a kol. prokázali, že u pacientů s DM 2. typu jsou koncentrace deoxysfingoidních bází zvýšeny. Metabolismus sfingolipidů je křížovým bodem propojujícím metabolismus lipidů a aminokyselin. Produkce serinu a alaninu v buňkách je přes 3-fosfoglycerát a pyruvát funkčně propojena s metabolismem sacharidů. Pozorované změny metabolismu sfingoidních bází ukazují na funkční propojení mezi metabolismem sfingolipidů, glukózy a mastných kyselin. Poruchy metabolismu glukózy při DM 2. typu mají tedy za následek vyšší tvorbu deoxysfingoidních bází (Bertea, 2010).

U diabetiků byla naměřena nižší hladina serinu a normální hodnota alaninu. Bylo prokázáno, že vyšší hladina alaninu stimuluje tvorbu deoxysfingoidních bází, zatímco přítomnost serinu tvorbu deoxysfingoidních bází potlačuje. Snížená hladina serinu by proto mohla být vysvětlením zvýšené hladiny deoxysfingoidních bází (Gable, 2010).

U deoxysfingoidních bází byla prokázána významná korelace s BMI a hladinou triacylglycerolů a částečná korelace s LDL. Bylo pozorováno, že deoxysfingoidní báze jsou výhradně uloženy v LDL a jsou primárně jaterního původu, což je pravděpodobně způsobeno zvýšeným vstupem alaninu do hepatocytů u obézních pacientů. Vyšší tvorba deoxysfingoidních bází v játrech může být také způsobena hyperglykemií, kdy je při vysokých hladinách glukózy



v játrech zvýšená glykolýza a tvorba pyruvátu. Nahromadění pyruvátu vede k jeho anaerobní přeměně na laktát nebo alternativně na alanin. Alanin je následně pomocí jaterní serin-palmitoyltransferázy přeměněn na deoxy-sfinganin. Tento mechanismus může způsobovat zvýšenou tvorbu deoxysfingoidních bází i v dalších tkáních nezávislých na inzulínu, například v ledvinách, beta buňkách nebo neuronech. A právě v periferních neuronech mohou zvýšené koncentrace deoxysfingoidních bází přispívat k diabetické neuropatii (Berteau, 2010). Deoxysfingoidní báze sice v sensorických neuronech nevyvolávají buněčnou smrt, ale specificky v nich narušují tvorbu neuritů, a mají tedy neurotoxický účinek (Penno, 2010).

Zvýšení koncentrace deoxysfingoidních bází spouští několik cest buněčné smrti. Zrychluje proces stárnutí, zvyšuje množství apoptotických a nekrotických buněk a způsobuje zastavení buněčného cyklu ve fázi G0/G1. Také indukuje stres endoplazmatického retikula a vede k aktivaci JNK, MAPK a PKC. Deoxysfingoidní báze podobně jako volné mastné kyseliny indukují lipotoxicitu. Jsou cytotoxické pro Langerhansovy ostrůvky a ohrožují funkci a strukturu beta buněk. Způsobují přeskupení aktinového cytoskeletu, kdy se akumuluje vlákna aktinu v intracelulárních strukturách v blízkosti vezikul obsahujících inzulín. Dále snižují metabolickou aktivitu Langerhansových ostrůvků. Nemění obsah inzulínu v beta buňkách, ale beta buňky nejsou schopny regulovat sekreci inzulínu v závislosti na stimulaci glukózou (Gable, 2010; Zuellig, 2014).

Deoxysfingoidní báze jsou významně zvýšeny jak u pacientů s DM 2. typu, tak u pacientů s nediabetickým metabolickým syndromem. Proto byly stanoveny jako nové plazmatické markery, které mohou pomoci zlepšit predikci rizika a sledování léčby diabetiků (Othman, 2012). Také bylo zjištěno, že plazmatické koncentrace deoxysfingoidních bází u diabetiků korelují se stádiem diabetické neuropatie (Hammad, 2017).

## **4.2 5-hydroxymethylcytosin**

TET methylcytosin dioxygenáza 2 je tumor supresorový protein, jehož úlohou je oxidace methylových skupin 5-methylcytosinu v DNA na hydroxymethylové, což zabraňuje transformaci buněk na nádorové buňky. Pro tuto reakci je nutná přítomnost oxoglutarátu a vzniká při ní 5-hydroxymethylcytosin.

Původní očekávání byla, že u pacientů s DM 2. typu bude z důvodu nadměrné nabídky glukózy vyšší i hladina oxoglutarátu, a tudíž vyšší tvorba 5-hydroxymethylcytosinu. Výzkumy ovšem prokázaly, že u pacientů s DM 2. typu je hladina 5-hydroxymethylcytosinu snižena. Klíčovou složkou spojující vysokou koncentraci glukózy a nízkou oxidaci 5-methylcytosinu je

enzym adenosinmonofosfát dependentní kináza. Aktivovaná adenosinmonofosfát dependentní kináza přenáší fosfát na TET methylcytosin dioxygenázu 2, čímž ji stabilizuje, a umožňuje tak oxidaci 5-methylcytosinu na 5-hydroxymethylcytosin. Pokud je glukózy příliš velké množství, je adenosinmonofosfát dependentní kináza deaktivována a oxidace neprobíhá (Trnka, 2018).

5-hydroxymethylcytosin může být spojením mezi poškozením neuronů a mitochondriální dysfunkcí u diabetu. Odráží epigenetické změny a má potenciál stát se neinvazivním prostředkem ke sledování přítomnosti a progresu diabetických cévních komplikací (Yang, 2019).

### **4.3 3,3'-dityrosin**

Při lýze oxidovaných a glykovaných proteinů vznikají oxidované a glykované metabolity aminokyselin, které se vylučují močí. 3,3'-dityrosin je jednou z hlavních oxidačně zesíťovaných aminokyselin, jehož hladina koreluje s inzulínovou rezistencí a obezitou. Změny jeho hladiny v moči mohou sloužit jako markery pro včasnou diagnostiku metabolických, vaskulárních a renálních poruch (Masania, 2019).

### **4.4 Kyselina 2-aminoadipová**

Wang a kol. identifikovali kyselinu 2-aminoadipovou jako nový biomarker, který může sloužit k predikci DM 2. typu u normoglykemických pacientů. V této studii byli všichni testovaní jedinci v době odběrů bez diabetu. Cirkulující kyselina 2-aminoadipová byla zvýšena už několik let před nástupem DM 2. typu. U testovaných jedinců s vysokou plazmatickou hladinou kyseliny 2-aminoadipové bylo zjištěno až čtyřnásobné riziko budoucího diabetu. Kyselina 2-aminoadipová způsobuje zvýšenou produkci inzulínu. Proto se předpokládá, že přispívá ke kompenzačnímu mechanismu, který udržuje homeostázu glukózy v časně fázi inzulínové rezistence (Wang, 2013).

### **4.5 Retinol vázající protein 4 a neutrofilní s gelatinázou asociovaný lipokalin**

V moči pacientů s DM 2. typu byly naměřeny vyšší hladiny retinol vázajícího proteinu 4 a neutrofilního s gelatinázou asociovaného lipokalinu než u nediabetiků. Tyto látky jsou potenciálními markery renálního tubulárního poškození. Mohou se zvýšit před nástupem známek renálního poškození, jako jsou albuminurie a zvýšená glomerulární filtrace u pacientů s DM 2. typu. Proto mohou být využity jako doplňková měření běžných postupů pro včasnou diagnózu diabetické nefropatie (Abbasi, 2020).

## ZÁVĚR

Diabetes mellitus 2. typu je chronické onemocnění, na jehož vzniku se podílí velké množství faktorů. Mezi nejvýznamnější faktory patří oxidační stres a chronický zánět.

Oxidační stres se v patogenezi diabetu mellitu 2. typu uplatňuje prostřednictvím metabolických drah jako jsou polyolová a hexosaminová cesta nebo cesta proteinkinázy C. Významný vliv má zvýšení hladiny reaktivních forem kyslíku a dusíku, které souvisí s peroxidací lipidů, nitrací tyrosinu, oxidací glukózy a tvorbou konečných produktů pokročilé glykace. Při chronickém zánětu dochází ke zvýšení hladiny reaktantů akutní fáze a prozánětlivých cytokinů. Významná je aktivace c-Jun NH<sub>2</sub>-terminální kinázy a změny metabolismu jaderného faktoru  $\kappa$  B a sfingolipidů.

Deoxysfingoidní báze deoxy-sfinganin a deoxymethyl-sfinganin jsou produkty metabolismu sfingolipidů. V lidském organismu se nadměrně tvoří při diabetu mellitu 2. typu. Proto byly stanoveny jako nové plazmatické markery, které lze využít k predikci rizika vzniku diabetu 2. typu, a ke sledování léčby diabetických pacientů.

Primárním místem tvorby deoxysfingoidních bází jsou játra, dalšími lokalizacemi mohou být ledviny, beta buňky pankreatu a neurony. V periferních neuronech přispívá zvýšená koncentrace deoxysfingoidních bází k diabetické neuropatii. V senzoryckých neuronech dochází k narušení tvorby neuritů. Zvýšená hladina deoxysfingoidních bází urychluje proces stárnutí, zvyšuje množství apoptotických a nekrotických buněk, zastavuje buněčný cyklus ve fázi G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, indukuje stres endoplazmatického retikula, aktivuje c-Jun NH<sub>2</sub>-terminální kinázu, mitogenem aktivované proteinové kinázy a cestu proteinkinázy C. Deoxysfingoidní báze indukují lipotoxicitu podobně jako volné mastné kyseliny. Pro Langerhansovy ostrůvky jsou cytotoxické a snižují jejich metabolickou aktivitu. Těmito mechanismy jsou deoxysfingoidní báze propojeny s oxidačním stresem a chronickým zánětem spojeným s diabetem mellitem 2. typu.

Další markery, které mohou být do budoucna využity k diagnostice diabetu mellitu 2. typu jsou 5-hydroxymethylcytosin, 3,3'-dityrosin, kyselina 2-aminoadipová, retinol vázající protein 4 a neutrofilní s gelatinázou asociovaný lipokalin.

## POUŽITÁ LITERATURA

ABBASI, F., F. MOOSAIE, P. KHALOO et al., 2020. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Retinol-Binding Protein-4 as Biomarkers for Diabetic Kidney Disease. *Kidney and Blood Pressure Research* [online]. **45**(2), 222-232 [cit. 2020-05-01]. DOI: 10.1159/000505155. ISSN 1420-4096. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/505155>

ABRAHAM, M., B. FILIPPI, G. KANG, M-S. KIM a T. LAM, 2014. Insulin action in the hypothalamus and dorsal vagal complex. *Experimental Physiology* [online]. **99**(9), 1104-1109 [cit. 2020-03-17]. DOI: 10.1113/expphysiol.2014.079962. ISSN 09580670. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1113/expphysiol.2014.079962>

AHMED, N., 2005. Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice* [online]. **67**(1), 3-21 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1016/j.diabres.2004.09.004. ISSN 01688227. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168822704002943>

ALI, O., 2013. Genetics of type 2 diabetes. *World Journal of Diabetes* [online]. **4**(4) [cit. 2020-03-01]. DOI: 10.4239/wjd.v4.i4.114. ISSN 1948-9358. Dostupné z: <http://www.wjgnet.com/1948-9358/full/v4/i4/114.htm>

ALJADA, A., H. GHANIM, R. SAADEH a P. DANDONA, 2001. Insulin Inhibits NFκB and MCP-1 Expression in Human Aortic Endothelial Cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. **86**(1), 450-453 [cit. 2020-04-22]. DOI: 10.1210/jcem.86.1.7278. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.86.1.7278>

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, , 2012. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* [online]. **36**(1), 67-74 [cit. 2019-11-30]. DOI: 10.2337/dc13-S067. ISSN 0149-5992. Dostupné z: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc13-S067>

ANDĚL, M., J. POLÁK, P. KRAML, P. DLOUHÝ a V. ŠTICH, 2009. Chronický mírný zánět spojuje obezitu, metabolický syndrom, aterosklerózu a diabetes. *Vnitřní Lékařství* [online]. **55**(7-8), 659–665 [cit. 2020-04-20]. Dostupné z: <http://kramerius.medvik.cz/search/pdf/web/viewer.html?pid=uuid:aa924314-0615-11e5-b183-d485646517a0>

ARIYASU, D., H. YOSHIDA a Y. HASEGAWA, 2017. Endoplasmic Reticulum (ER) Stress and Endocrine Disorders. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **18**(2), 382 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.3390/ijms18020382. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/18/2/382>

ASMAT, U., K. ABAD a K. ISMAIL, 2016. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal* [online]. **24**(5), 547-553 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1016/j.jsps.2015.03.013. ISSN 13190164. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319016415000766>

- AYALA, A., M. MUÑOZ a S. ARGÜELLES, 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2014**, 1-31 [cit. 2020-04-17]. DOI: 10.1155/2014/360438. ISSN 1942-0900. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/360438/>
- BERTEA, M., M. RÜTTI, A. OTHMAN, J. MARTI-JAUN, M. HERSBERGER, A. VON ECKARDSTEIN a T. HORNEMANN, 2010. Deoxysphingoid bases as plasma markers in Diabetes mellitus. *Lipids in Health and Disease* [online]. **9**(1) [cit. 2020-04-28]. DOI: 10.1186/1476-511X-9-84. ISSN 1476-511X. Dostupné z: <http://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-511X-9-84>
- BIDEN, T., E. BOSLEM, K. CHU a N. SUE, 2014. Lipotoxic endoplasmic reticulum stress,  $\beta$  cell failure, and type 2 diabetes mellitus. *Trends in Endocrinology & Metabolism* [online]. **25**(8), 389-398 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1016/j.tem.2014.02.003. ISSN 10432760. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276014000307>
- BINDER, C. J., 2017. Lipid modification and lipid peroxidation products in innate immunity and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* [online]. **1862**(4), 369-370 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1016/j.bbalip.2017.01.006. ISSN 13881981. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1388198117300124>
- BOON, J., A. HOY, R. STARK et al., 2013. Ceramides Contained in LDL Are Elevated in Type 2 Diabetes and Promote Inflammation and Skeletal Muscle Insulin Resistance. *Diabetes* [online]. **62**(2), 401-410 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.2337/db12-0686. ISSN 0012-1797. Dostupné z: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db12-0686>
- BOUČEK, P., 2008. Diabetická nefropatie. *Medicína pro praxi* [online]. **5**(9), 313-316 [cit. 2020-03-16]. ISSN 1803-5310. Dostupné z: <https://solen.cz/pdfs/med/2008/09/08.pdf>
- BROWNLEE, M., 2005. The Pathobiology of Diabetic Complications: A Unifying Mechanism. *Diabetes* [online]. **54**(6), 1615-1625 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.2337/diabetes.54.6.1615. ISSN 0012-1797. Dostupné z: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.54.6.1615>
- BURTON, G. a E. JAUNIAUX, 2011. Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* [online]. **25**(3), 287-299 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016. ISSN 15216934. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521693410001392>
- CATALÁ, A., 2009. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chemistry and Physics of Lipids* [online]. **157**(1), 1-11 [cit. 2020-05-03]. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2008.09.004. ISSN 00093084. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009308408003708>
- COHEN, S. a T. GARDNER, 2015. Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema. *Retinal Pharmacotherapeutics* [online]. (55), 137-146 [cit. 2020-03-23]. *Developments in Ophthalmology*. DOI: 10.1159/000438970. ISBN 978-3-318-05564-1. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/438970>

- DIAZ-MORALES, N., S. ROVIRA-LLOPIS, C. BAÑULS et al., 2016. Are Mitochondrial Fusion and Fission Impaired in Leukocytes of Type 2 Diabetic Patients?. *Antioxidants & Redox Signaling* [online]. **25**(2), 108-115 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1089/ars.2016.6707. ISSN 1523-0864. Dostupné z: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2016.6707>
- DRÖGE, W., 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews* [online]. **82**(1), 47-95 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1152/physrev.00018.2001. ISSN 0031-9333. Dostupné z: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00018.2001>
- EHLER, E., 2009. Periferní neuropatie v ambulantní praxi. *Neurologie pro praxi* [online]. **10**(1), 32-36 [cit. 2020-03-08]. ISSN 1803-5280. Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2009/01/08.pdf>
- FASSHAUER, M. a M. BLÜHER, 2015. Adipokines in health and disease. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. **36**(7), 461-470 [cit. 2020-04-04]. DOI: 10.1016/j.tips.2015.04.014. ISSN 01656147. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165614715000905>
- FLETCHER, B., M. GULANICK a C. LAMENDOLA, 2002. Risk Factors for Type 2 Diabetes Mellitus. *The Journal of Cardiovascular Nursing* [online]. **16**(2), 17-23 [cit. 2020-03-01]. DOI: 10.1097/00005082-200201000-00003. ISSN 0889-4655. Dostupné z: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00005082-200201000-00003>
- GABLE, K., S. GUPTA, G. HAN, S. NIRANJANAKUMARI, J. HARMON a T. DUNN, 2010. A Disease-causing Mutation in the Active Site of Serine Palmitoyltransferase Causes Catalytic Promiscuity. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **285**(30), 22846-22852 [cit. 2020-04-28]. DOI: 10.1074/jbc.M110.122259. ISSN 0021-9258. Dostupné z: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M110.122259>
- GIROTTI, A. W., 1998. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *The Journal of Lipid Research* [online]. **39**(8), 1529-1542 [cit. 2020-04-17]. ISSN 1539-7262. Dostupné z: <https://www.jlr.org/content/39/8/1529.long>
- GOLDFINE, A. a S. SHOELSON, 2017. Therapeutic approaches targeting inflammation for diabetes and associated cardiovascular risk. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **127**(1), 83-93 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1172/JCI88884. ISSN 0021-9738. Dostupné z: <https://www.jci.org/articles/view/88884>
- HAINER, V., 2011. *Základy klinické obezitologie*. 2. přepracované a doplněné vyd. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3252-7.
- HAIT, N. a A. MAITI, 2017. The Role of Sphingosine-1-Phosphate and Ceramide-1-Phosphate in Inflammation and Cancer. *Mediators of Inflammation* [online]. **2017**, 1-17 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.1155/2017/4806541. ISSN 0962-9351. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2017/4806541/>
- HAMMAD, S., N. BAKER, J. EL ABIAD et al., 2017. Increased Plasma Levels of Select Deoxy-ceramide and Ceramide Species are Associated with Increased Odds of Diabetic Neuropathy in Type 1 Diabetes: A Pilot Study. *NeuroMolecular Medicine* [online]. **19**(1), 46-

56 [cit. 2020-04-29]. DOI: 10.1007/s12017-016-8423-9. ISSN 1535-1084. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12017-016-8423-9>

HANNUN, Y. a L. OBEID, 2008. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. **9**(2), 139-150 [cit. 2020-04-26]. DOI: 10.1038/nrm2329. ISSN 1471-0072. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nrm2329>

HAUS, J., S. KASHYAP, T. KASUMOV, R. ZHANG, K. KELLY, R. DEFRONZO a J. KIRWAN, 2009. Plasma Ceramides Are Elevated in Obese Subjects With Type 2 Diabetes and Correlate With the Severity of Insulin Resistance. *Diabetes* [online]. **58**(2), 337-343 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.2337/db08-1228. ISSN 0012-1797. Dostupné z: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db08-1228>

HOŘEJŠÍ, V., 2015. Makrofágy jako pomocníci nádorů. *Vesmír* [online]. **94**(2), 319 [cit. 2020-04-22]. ISSN 1214-4029. Dostupné z: [https://www.img.cas.cz/files/2015/03/65\\_Makrofagy\\_6\\_2015.pdf](https://www.img.cas.cz/files/2015/03/65_Makrofagy_6_2015.pdf)

HUIJBERTS, M., N. SCHAPER a C. SCHALKWIJK, 2008. Advanced glycation end products and diabetic foot disease. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* [online]. **24**(1), 19-24 [cit. 2020-05-03]. DOI: 10.1002/dmrr.861. ISSN 15207552. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/dmrr.861>

CHANG, S-C. a W-Ch. YANG, 2016. Hyperglycemia, tumorigenesis, and chronic inflammation. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* [online]. **108**, 146-153 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2016.11.003. ISSN 10408428. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842816302232>

CHATTERJEE, S., K. KHUNTI a M. DAVIES, 2017. Type 2 diabetes. *The Lancet* [online]. **389**(10085), 2239-2251 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30058-2. ISSN 01406736. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673617300582>

CHAVAKIS, T., A. BIERHAUS, N. AL-FAKHRI et al., 2003. The Pattern Recognition Receptor (RAGE) Is a Counterreceptor for Leukocyte Integrins. *Journal of Experimental Medicine* [online]. **198**(10), 1507-1515 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1084/jem.20030800. ISSN 1540-9538. Dostupné z: <https://rupress.org/jem/article/198/10/1507/39836/The-Pattern-Recognition-Receptor-RAGE-Is-a>

IGHODARO, O. M., 2018. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. **108**, 656-662 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.058. ISSN 07533322. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332218357895>

INZUCCHI, S. a R. SHERWIN, 2012. Type 2 Diabetes Mellitus. *Goldman's Cecil Medicine* [online]. Elsevier, e95-e108 [cit. 2020-02-29]. DOI: 10.1016/B978-1-4377-1604-7.00562-5. ISBN 9781437716047. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781437716047005625>

IQBAL, J., M. WALSH, S. HAMMAD a M. HUSSAIN, 2017. Sphingolipids and Lipoproteins in Health and Metabolic Disorders. *Trends in Endocrinology & Metabolism*

[online]. **28**(7), 506-518 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.1016/j.tem.2017.03.005. ISSN 10432760. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276017300413>

IURLARO, R. a C. MUÑOZ-PINEDO, 2016. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress. *The FEBS Journal* [online]. **283**(14), 2640-2652 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1111/febs.13598. ISSN 1742464X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/febs.13598>

JIA, X., D. OLSON, A. ROSS, L. WU, X. JIA, D. OLSON, A. ROSS a L. WU, 2006. Structural and functional changes in human insulin induced by methylglyoxal. *The FASEB Journal* [online]. **20**(9), 1555-1557 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1096/fj.05-5478fje. ISSN 0892-6638. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.05-5478fje>

JOHANSEN, J., A. HARRIS, D. RYCHLY a A. ERGUL, 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology* [online]. **4**(1) [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1186/1475-2840-4-5. ISSN 14752840. Dostupné z: <http://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2840-4-5>

KARSTOFT, K. a B. PEDERSEN, 2016. Exercise and type 2 diabetes: focus on metabolism and inflammation. *Immunology and Cell Biology* [online]. **94**(2), 146-150 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1038/icb.2015.101. ISSN 08189641. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1038/icb.2015.101>

KASZNICKI, J., M. KOSMALKI, A. SLIWINSKA, M. MROWICKA, M. STANCZYK, I. MAJSTEREK a J. DRZEWOSKI, 2012. Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy. *Molecular Biology Reports* [online]. **39**(9), 8669-8678 [cit. 2020-04-07]. DOI: 10.1007/s11033-012-1722-9. ISSN 0301-4851. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11033-012-1722-9>

KELLEY, D., J. HE, E. MENSHIKOVA a V. RITOV, 2002. Dysfunction of Mitochondria in Human Skeletal Muscle in Type 2 Diabetes. *Diabetes* [online]. **51**(10), 2944-2950 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.2337/diabetes.51.10.2944. ISSN 0012-1797. Dostupné z: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.51.10.2944>

KOLB, H. a S. MARTIN, 2017. Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *BMC Medicine* [online]. **15**(1), 131 [cit. 2020-03-23]. DOI: 10.1186/s12916-017-0901-x. ISSN 1741-7015. Dostupné z: <http://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-017-0901-x>

MACEYKA, M. a S. SPIEGEL, 2014. Sphingolipid metabolites in inflammatory disease. *Nature* [online]. **510**(7503), 58-67 [cit. 2020-04-26]. DOI: 10.1038/nature13475. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4320971/>

MAEDLER, K., F. SCHULTHESS, Ch. BIELMAN, T. BERNEY, Ch. BONNY, M. PRENTKI, M. DONATH a R. RODUIT, 2008. Glucose and leptin induce apoptosis in human  $\beta$ - cells and impair glucose-stimulated insulin secretion through activation of c-Jun N-terminal kinases. *The FASEB Journal* [online]. **22**(6), 1905-1913 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1096/fj.07-101824. ISSN 0892-6638. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.07-101824>

MASANIA, J., G. FAUSTMANN, A. ANWAR et al., 2019. Urinary Metabolomic Markers of Protein Glycation, Oxidation, and Nitration in Early-Stage Decline in Metabolic, Vascular,



and Renal Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2019**, 1-15 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1155/2019/4851323. ISSN 1942-0900. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/4851323/>

MATULEWICZ, N. a M. KARCZEWSKA-KUPCZEWSKA, 2016. Insulinoopornosc a przewlekla reakcja zapalna n. *Postepy Hig Med Dosw* [online]. **70**, 1245-1257 [cit. 2020-04-22]. ISSN 1732-2693. Dostupné z: <http://www.phmd.pl/api/files/view/117052.pdf>

MAZANEC, R., M. BOJAR a T. NEDĚLKA, 2009. Diabetická neuropatie z pohledu neurologa. *Neurologie pro praxi* [online]. **10**(6), 378-383 [cit. 2020-03-09]. ISSN 1803-5280. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/neu/2009/06/12.pdf>

MILANESI, A. a J. WEINREB, 2018. *Hyperglycemic Hyperosmolar State* [online]. Endotext [Internet] South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc ., [Aktualizováno 1. 8. 2018] [cit. 2020-03-20]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278976/>

MURIACH, M., M. FLORES-BELLVER, F. ROMERO a J. BARCIA, 2014. Diabetes and the Brain: Oxidative Stress, Inflammation, and Autophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2014**, 1-9 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1155/2014/102158. ISSN 1942-0900. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/102158/>

MURPHY-LAVOIE, H. a S. SINGH, 2019. Diabetic Foot Infections. *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing [cit. 2020-03-20]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441914/>

NAGARAJU, B., Y. KRANTHI, C. KOMMAVARI a K. PRASAD, 2020. An evaluation of the protective role of escitalopram in streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research* [online]. **11**(2), 687-692 [cit. 2020-03-06]. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.11(2).687-92. ISSN 0975-8232. Dostupné z: <http://ijpsr.com/bft-article/an-evaluation-of-the-protective-role-of-escitalopram-in-streptozotocin-induced-diabetic-neuropathy/?view=fulltext>

NISR, R., D. SHAH, I. GANLEY a H. HUNDAL, 2019. Proinflammatory NFkB signalling promotes mitochondrial dysfunction in skeletal muscle in response to cellular fuel overloading. *Cellular and Molecular Life Sciences* [online]. **76**(24), 4887-4904 [cit. 2020-04-26]. DOI: 10.1007/s00018-019-03148-8. ISSN 1420-682X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00018-019-03148-8>

NORRIS, G. a Ch. BLESSO, 2017. Dietary and Endogenous Sphingolipid Metabolism in Chronic Inflammation. *Nutrients* [online]. **9**(11), 1180 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.3390/nu9111180. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2072-6643/9/11/1180>

NOWOTNY, K., T. JUNG, A. HÖHN, D. WEBER a T. GRUNE, 2015. Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomolecules* [online]. **5**(1), 194-222 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.3390/biom5010194. ISSN 2218-273X. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2218-273X/5/1/194/htm>

ORMAZABAL, V., S. NAIR, O. ELFEKY, C. AGUAYO, C. SALOMON a F. ZUñIGA, 2018. Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovascular Diabetology* [online]. **17**(1) [cit. 2020-03-18]. DOI: 10.1186/s12933-018-

0762-4. ISSN 1475-2840. Dostupné z:

<https://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12933-018-0762-4>

OTHMAN, A., M. RÜTTI, D. ERNST et al., 2012. Plasma deoxysphingolipids: a novel class of biomarkers for the metabolic syndrome?. *Diabetologia* [online]. **55**(2), 421-431 [cit. 2020-04-29]. DOI: 10.1007/s00125-011-2384-1. ISSN 0012-186X. Dostupné z:

<http://link.springer.com/10.1007/s00125-011-2384-1>

PATEL, S. a S. DUTTA, 2018. Schematic drawing of human insulin and its 3D structure (inset). In: *RCSB Protein Data Bank* [online]. [cit. 2020-03-29]. DOI:

10.2210/rcsb\_pdb/GH/DM/drugs/Insulin/Insulin. ISSN 1234-432X. Dostupné z:  
<http://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/insulin/insulin>

PATEL, S. a D. SANTANI, 2009. Role of NF- $\kappa$ B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications. *Pharmacological Reports* [online]. **61**(4), 595-603 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/S1734-1140(09)70111-2. ISSN 17341140. Dostupné z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1734114009701112>

PELIKÁNOVÁ, T. a V. BARTOŠ, 2010. *Praktická diabetologie*. 4. rozšířené vydání. Praha: Maxdorf. ISBN 978-80-7345-216-2.

PELIKÁNOVÁ, T. a V. BARTOŠ, 2018. *Praktická diabetologie*. 6. aktualizované a doplněné vydání. Praha: Maxdorf. Jessenius. ISBN 978-80-7345-559-0.

PELIKÁNOVÁ, T., 2016. Diabetická retinopatie: patogeneze a terapeutické implikace. *Vnitřní Lékařství* [online]. Solen, s. r. o., **62**(7-8), 620-628 [cit. 2020-03-23]. ISSN 1801-7592. Dostupné z: <https://casopisvnitrnilekarstvi.cz/pdfs/vnl/2016/07/19.pdf>

PENNO, A., M. REILLY, H. HOULDEN et al., 2010. Hereditary Sensory Neuropathy Type 1 Is Caused by the Accumulation of Two Neurotoxic Sphingolipids. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **285**(15), 11178-11187 [cit. 2020-04-28]. DOI:

10.1074/jbc.M109.092973. ISSN 0021-9258. Dostupné z:  
<http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M109.092973>

PÍTHOVÁ, P., 2008. Inzulinová rezistence a možnosti jejího ovlivnění. *Remedia* [online]. **18**(1), 42-48 [cit. 2020-03-29]. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2008/Diabetologie-2008/Inzulinova-rezistence-a-moznosti-jejeho-ovlivneni/e-9q-uH-wG.magarticle.aspx>

POKRIVČÁK, T., P. MILOŠOVÁ, K. ŠEVELA, E. KOTULÁNOVÁ, M. TICHÝ a M. SOUČEK, 2013. Diabetická nefropatie. *Interní Medicína* [online]. **15**(8-9), 277-279 [cit. 2020-03-16]. ISSN 1803-5256. Dostupné z:

<https://www.internimedica.cz/pdfs/int/2013/08/11.pdf>

POLÁK, J. a J. BROŽ, 2008. Obezita v etiopatogenezi inzulinové rezistence a diabetes mellitus 2. typu. *Sanquis* [online]. (59) [cit. 2020-04-01]. Dostupné z:

<https://www.sanquis.cz/index2.php?linkID=pls79&kat=2>

POZNYAK, A., A. GRECHKO, P. POGGIO, V. MYASOEDOVA, V. ALFIERI a A.

OREKHOV, 2020. The Diabetes Mellitus–Atherosclerosis Connection: The Role of Lipid and Glucose Metabolism and Chronic Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*

[online]. **21**(5) [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.3390/ijms21051835. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/5/1835>

PURCELL, S., L. AERNI-FLESSNER, A. WILLCOCKSON, K. DIGGS-ANDREWS, S. FISHER a K. MOLEY, 2011. Improved Insulin Sensitivity by GLUT12 Overexpression in Mice. *Diabetes* [online]. **60**(5), 1478-1482 [cit. 2020-05-12]. DOI: 10.2337/db11-0033. ISSN 0012-1797. Dostupné z: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db11-0033>

RACEK, J. a V. HOLEČEK, 1999. Enzymy a volné radikály. *Chemické listy* [online]. **93**(12), 774-780 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: [http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/1999\\_12\\_774-780.pdf](http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/1999_12_774-780.pdf)

RAINS, J. a S. JAIN, 2011. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. **50**(5), 567-575 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006. ISSN 08915849. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584910014115>

REES, A., M. LEVY a A. LANSDOWN, 2017. *Clinical endocrinology and diabetes at a glance*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc. At a glance series (Oxford, England). ISBN 978-1-119-12871-7.

ROGERS, K., 2017. Diabetes Mellitus. In: *Britannica academic* [online]. Spojené státy americké: Encyclopædia Britannica [cit. 2020-02-21]. Dostupné z: <https://academic.eb.com/levels/collegiate/article/diabetes-mellitus/1565>

ROMÁN-PINTOS, L., G. VILLEGAS-RIVERA, A. RODRÍGUEZ-CARRIZALEZ, A. MIRANDA-DÍAZ a E. CARDONA-MUÑOZ, 2016. Diabetic Polyneuropathy in Type 2 Diabetes Mellitus: Inflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Function. *Journal of Diabetes Research* [online]. **2016**, 1-16 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1155/2016/3425617. ISSN 2314-6745. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2016/3425617/>

ROVIRA-LLOPIS, S., C. BAÑULS, N. DIAZ-MORALES, A. HERNANDEZ-MIJARES, M. ROCHA a V. VICTOR, 2017. Mitochondrial dynamics in type 2 diabetes: Pathophysiological implications. *Redox Biology* [online]. **11**, 637-645 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1016/j.redox.2017.01.013. ISSN 22132317. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213231716303639>

SCANLON, P., 2019. Diabetic retinopathy. *Medicine* [online]. **47**(2), 77-85 [cit. 2020-03-23]. DOI: 10.1016/j.mpmed.2018.11.013. ISSN 13573039. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357303918302846>

SHAW, K. a M. CUMMINGS, 2012. *Diabetes: chronic complications*. 3rd ed. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons. ISBN 978-0-470-65618-1.

SHOELSON, S. E., 2006. Inflammation and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **116**(7), 1793-1801 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1172/JCI29069. ISSN 0021-9738. Dostupné z: <http://www.jci.org/cgi/doi/10.1172/JCI29069>

SHULMAN, G. I., 2000. Cellular mechanisms of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **106**(2), 171-176 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.1172/JCI10583. ISSN 0021-9738. Dostupné z: <http://www.jci.org/articles/view/10583>

- SCHRÖTER, J. a J. SCHILLER, 2016. Chlorinated Phospholipids and Fatty Acids: (Patho)physiological Relevance, Potential Toxicity, and Analysis of Lipid Chlorohydrins. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2016**, 1-26 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1155/2016/8386362. ISSN 1942-0900. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2016/8386362/>
- SCHWARZER, E., P. ARESE a O. SKOROKHOD, 2015. Role of the Lipoperoxidation Product 4-Hydroxynonenal in the Pathogenesis of Severe Malaria Anemia and Malaria Immunodepression. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2015**, 1-11 [cit. 2020-05-03]. DOI: 10.1155/2015/638416. ISSN 1942-0900. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2015/638416/>
- SIFUENTES-FRANCO, S., F. PACHECO-MOISÉS, A. RODRÍGUEZ-CARRIZALEZ a A. MIRANDA-DÍAZ, 2017. The Role of Oxidative Stress, Mitochondrial Function, and Autophagy in Diabetic Polyneuropathy. *Journal of Diabetes Research* [online]. **2017**, 1-15 [cit. 2020-04-07]. DOI: 10.1155/2017/1673081. ISSN 2314-6745. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2017/1673081/>
- SINGH GREWAL, A., S. BHARDWAJ, D. PANDITA, V. LATHER a B. SINGH SEKHON, 2015. Updates on Aldose Reductase Inhibitors for Management of Diabetic Complications and Non-diabetic Diseases. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* [online]. **16**(2), 120-162 [cit. 2020-05-02]. DOI: 10.2174/1389557515666150909143737. ISSN 13895575. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-5575&volume=16&issue=2&spage=120>
- SOLINAS, G. a B. BECATTINI, 2017. JNK at the crossroad of obesity, insulin resistance, and cell stress response. *Molecular Metabolism* [online]. **6**(2), 174-184 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.molmet.2016.12.001. ISSN 22128778. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877816302447>
- STRACZKOWSKI, M., I. KOWALSKA, M. BARANOWSKI et al., 2007. Increased skeletal muscle ceramide level in men at risk of developing type 2 diabetes. *Diabetologia* [online]. **50**(11), 2366-2373 [cit. 2020-04-22]. DOI: 10.1007/s00125-007-0781-2. ISSN 0012-186X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-007-0781-2>
- SVAČINA, Š., 2007. Inzulinorezistence. *MedicaBaze* [online]. Triton [cit. 2020-03-31]. Dostupné z: [http://www.medicabaze.cz/index.php?&sec=term\\_detail&termId=565&name=Inzulinorezistence](http://www.medicabaze.cz/index.php?&sec=term_detail&termId=565&name=Inzulinorezistence)
- SZABÓ, M., 2012. Inkretiny – střevní hormony ovlivňující nejen sekreci inzulínu. *Interní Medicína* [online]. **14**(4), 143-146 [cit. 2020-03-17]. ISSN 1803-5256. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2012/04/02.pdf>
- ŠKRHA, J., 2010a. Oxidační stres a jeho vztah ke komplikacím diabetu. *Interní Medicína* [online]. **12**(9), 414-418 [cit. 2020-04-10]. ISSN 1803-5256. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2010/09/05.pdf>
- ŠKRHA, J., 2010b. Diabetes mellitus 2. typu jako subklinický zánět. *Časopis Lékařů českých* [online]. **149**(6), 277-281 [cit. 2020-04-21]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/casopis-lekaru-ceskych/2010-6/download?hl=cs>

- ŠTÍPEK, S., 2000. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*. 1. vyd. Praha: Grada. ISBN 80-7169-704-4.
- TANG, C., L. YEUNG, K. KOULAJIAN, L. ZHANG, K. TAI, A. VOLCHUK a A. GIACCA, 2018. Glucose-Induced  $\beta$ -Cell Dysfunction In Vivo: Evidence for a Causal Role of C-jun N-terminal Kinase Pathway: Evidence for a Causal Role of C-jun N-terminal Kinase Pathway. *Endocrinology* [online]. **159**(11), 3643-3654 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1210/en.2018-00566. ISSN 1945-7170. Dostupné z: <https://academic.oup.com/endo/article/159/11/3643/5094010>
- TAN, K., S. SHIU, Y. WONG a X. TAM, 2011. Serum advanced glycation end products (AGEs) are associated with insulin resistance. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* [online]. **27**(5), 488-492 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1002/dmrr.1188. ISSN 15207552. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/dmrr.1188>
- THOMSON, L., 2015. 3-Nitrotyrosine Modified Proteins in Atherosclerosis. *Disease Markers* [online]. **2015**, 1-8 [cit. 2020-04-17]. DOI: 10.1155/2015/708282. ISSN 0278-0240. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/dm/2015/708282/>
- THORENS, B., 2015. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia* [online]. **58**(2), 221-232 [cit. 2020-02-26]. DOI: 10.1007/s00125-014-3451-1. ISSN 0012-186X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-014-3451-1>
- TRNKA, J., 2018. Cukrovka, metformin a nádorová onemocnění. *Vesmír* [online]. **97**(11), 624 [cit. 2020-06-21]. Dostupné z: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2018/cislo-11/cukrovka-metformin-nadorova-onemocneni.html#pozn1>
- URIBARRI, J., W. CAI, M. RAMDAS et al., 2011. Restriction of Advanced Glycation End Products Improves Insulin Resistance in Human Type 2 Diabetes: Potential role of AGER1 and SIRT1. *Diabetes Care* [online]. **34**(7), 1610-1616 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.2337/dc11-0091. ISSN 0149-5992. Dostupné z: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc11-0091>
- VERNIA, S., J. CAVANAGH-KYROS, L. GARCIA-HARO et al., 2014. The PPAR $\alpha$ -FGF21 Hormone Axis Contributes to Metabolic Regulation by the Hepatic JNK Signaling Pathway. *Cell Metabolism* [online]. **20**(3), 512-525 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.cmet.2014.06.010. ISSN 15504131. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413114002757>
- VINIK, A., J. ULLAL, H. PARSON a C. CASELLINI, 2006. Diabetic neuropathies: clinical manifestations and current treatment options. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism* [online]. **2**(5), 269-281 [cit. 2020-04-07]. DOI: 10.1038/ncpendmet0142. ISSN 1745-8366. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/ncpendmet0142>
- VOLMER-THOLE, M. a R. LOBMANN, 2016. Neuropathy and Diabetic Foot Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **17**(6), 917 [cit. 2020-03-20]. DOI: 10.3390/ijms17060917. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/17/6/917>
- WANG, T., D. NGO, N. PSYCHOGIOS et al., 2013. 2-Amino adipic acid is a biomarker for diabetes risk. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **123**(10), 4309-4317 [cit. 2020-05-

01]. DOI: 10.1172/JCI64801. ISSN 0021-9738. Dostupné z:  
<http://www.jci.org/articles/view/64801>

WILCOX, G., 2005. Insulin and Insulin Resistance. *Clinical Biochemist Reviews* [online]. **26**(2), 19-39 [cit. 2020-04-04]. Dostupné z:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1204764/>

XU, W., E. VON STRAUSS, C. QIU, B. WINBLAD a L. FRATIGLIONI, 2009. Uncontrolled diabetes increases the risk of Alzheimer's disease: a population-based cohort study. *Diabetologia* [online]. **52**(6), 1031-1039 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1007/s00125-009-1323-x. ISSN 0012-186X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-009-1323-x>

YANG, Y., Ch. ZENG, X. LU et al., 2019. 5-Hydroxymethylcytosines in Circulating Cell-Free DNA Reveal Vascular Complications of Type 2 Diabetes. *Clinical Chemistry* [online]. **65**(11), 1414-1425 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1373/clinchem.2019.305508. ISSN 0009-9147. Dostupné z: <https://academic.oup.com/clinchem/article/65/11/1414/5715855>

YAN, Liang-jun, 2018. Redox imbalance stress in diabetes mellitus: Role of the polyol pathway. *Animal Models and Experimental Medicine* [online]. **1**(1), 7-13 [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.1002/ame2.12001. ISSN 25762095. Dostupné z:  
<http://doi.wiley.com/10.1002/ame2.12001>

YUNG, J. a A. GIACCA, 2020. Role of c-Jun N-terminal Kinase (JNK) in Obesity and Type 2 Diabetes. *Cells* [online]. **9**(3), 706 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.3390/cells9030706. ISSN 2073-4409. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/3/706>

ZIEGLER, D., J. KELLER, C. MAIER aj. PANNEK, 2020. Diabetische Neuropathie. *Der Diabetologe* [online]. **16**(1), 40-53 [cit. 2020-03-06]. DOI: 10.1007/s11428-019-00569-8. ISSN 1860-9716. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11428-019-00569-8>

ZUELLIG, R., T. HORNEMANN, A. OTHMAN et al., 2014. Deoxysphingolipids, Novel Biomarkers for Type 2 Diabetes, Are Cytotoxic for Insulin-Producing Cells. *Diabetes* [online]. **63**(4), 1326-1339 [cit. 2020-04-29]. DOI: 10.2337/db13-1042. ISSN 0012-1797. Dostupné z: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db13-1042>