

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Tereza Melicherová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Moderní přístup k léčbě Diabetes mellitus

Bakalářská práce

2024

Tereza Melicherová

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Modern Approaches In Diabetes Mellitus Treatment

Bachelors thesis

2024

Tereza Melicherová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Tereza Melicherová**
Osobní číslo: **C20244**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Moderní přístupy k léčbě diabetes mellitus**
Téma práce anglicky: **Modern Approaches In Diabetes Mellitus Treatment**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1) Zpracujte literární rešerši zaměřenou na popis onemocnění diabetes mellitus. V rámci tohoto se nejprve zaměřte na popis typů této choroby, jejich odlišnosti a standardní přístup k jejich léčbě. Následně se především zaměřte na moderní léčebný přístup pomocí transplantace Langerhansových ostrůvků, podrobný popis této léčebné techniky, její význam v rámci ČR, či aktuálně platné statistiky této léčby.

2) Ke zpracování kompilace využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *ScienceDirect*, *HighWire*, *NCBI Pubmed*, apod.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem *Moderní přístup k léčbě diabetes mellitus* jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen 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 10.5. 2024

Tereza Melicherová, v. r.

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat doc. RNDr. Tomáši Roušarovi, Ph.D. za odborné rady, připomínky a trpělivost v průběhu vedení mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat rodině a blízkým přátelům za podporu v průběhu celého studia a psaní mé bakalářské práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce popisuje aktuální metody a přístupy k léčbě onemocnění diabetes mellitus. První část popisuje patofyziologii diabetu a jeho hlavní subtypy. Následující část se věnuje tradičním léčebným metodám, jako jsou inzulínová terapie a perorální antidiabetika. Závěrečná část práce se zabývá nejnovějšími metodami a technologiemi v oblasti izolace, transplantace a použití moderních biotechnologických postupů, včetně makroenkapsulace a mikroenkapsulace, které chrání transplantované Langerhansovy ostrůvky.

KLÍČOVÁ SLOVA

Diabetes mellitus, léčba, Langerhansovy ostrůvky, inzulín, transplantace

TITLE

Modern Approaches In Diabetes Mellitus Treatment

ANNOTATION

This bachelor thesis describes actual methods and approaches to the treatment of diabetes mellitus. First part describes pathophysiology of diabetes and its main subtypes. Next part is dedicated to the traditional treatments such as insulin and oral antidiabetic drugs. Final part of the thesis is a review of the latest methods and technologies available for the isolation, transplantation and the use of modern biotechnological processes including macrocapsulation and microcapsulation which protects transplanted Langerhans cells.

KEYWORDS

Diabetes mellitus, Treatment, Islets of Langerhans, Insulin, Transplantation

OBSAH

ÚVOD	13
1. Slinivka břišní	14
1.1 Anatomie pankreatu.....	14
1.2 Funkce pankreatu.....	15
1.3 Sekrece pankreatu	15
1.3.1 Exokrinní činnost.....	15
1.3.2 Endokrinní činnost.....	16
1.4 Buňky Langerhansových ostrůvků	16
1.4.1 α -buňky.....	16
1.4.2 β -buňky.....	17
1.4.3 PP-buňky.....	18
1.4.4 δ -buňky	18
2. Inzulin	19
2.1 Chemické složení inzulinu.....	19
2.2 Syntéza inzulinu.....	20
2.3 Sekrece inzulinu.....	20
2.4 Inzulinový receptor	20
3. Diabetes mellitus	22
3.1 Charakteristika diabetu	22
3.2 Klasifikace diabetu	22
3.2.1 Diabetes mellitus 1. typu	22
3.2.2 Diabetes mellitus 2. typu	22
3.2.3 Gestační diabetes	23
3.2.4 MODY	23
3.3 Diagnostika DM.....	24
3.3.1 Orální glukózový toleranční test.....	24
3.4 Komplikace diabetu	25
4. Léčba diabetu	26

4.1 Selfmonitoring	26
4.2 Farmakoterapie	26
4.2.1 Léčba perorálními antidiabetiky	26
4.2.1.1 Inzulinové senzitizery	26
4.2.1.2 Inzulinová sekretagoga	27
4.2.1.3 Inhibitory střevních glukosidáz	28
4.2.1.4 Inkretinová analoga.....	28
4.2.1.5 Inhibitory zpětného vstřebávání glukózy v proximálním tubulu.....	29
4.3 Léčba inzulinem.....	29
4.4 Inzulinová pumpa	30
4.5 Transplantace	31
4.6 Léčba pomocí kmenových buněk	31
4.7 Endoskopická léčba Diagonu.....	32
5. Transplantace izolovaných Langerhansových ostrůvků	33
5.1 Historie transplantace ostrůvků a klinické výsledky	33
5.2 Postup transplantace alogenních Langerhansových ostrůvků	33
5.3 Alternativní možnosti získání ostrůvků a strategie k udržení ostrůvků.....	35
5.3.1 Xenotransplantace.....	36
5.3.2 Enkapsulace Langerhansových ostrůvků.....	38
5.3.3 Organoidní Langerhansovy ostrůvky.....	39
5.4 Neovaskularizace transplantovaného štěpu	40
5.5 Alternativní místa transplantace Langerhansových ostrůvků.....	40
5.6 Mechanismy odumírání ostrůvků po transplantaci.....	41
5.6.1 Okamžitá zánětlivá reakce zprostředkovaná krví	42
5.6.2 Aloimunita a autoimunitní recidiva	42
5.6.3 Hypoxie a oxidační stres.....	43
ZÁVĚR	44
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	45

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Stavba a popis slinivky břišní	14
Obrázek 2: Histologický preparát slinivky břišní	16
Obrázek 3: Mechanismus sekrece inzulínu z β -buňky	17
Obrázek 4: Složení molekuly preproinzulínu, proinzulínu a inzulínu	19
Obrázek 5: Intracelulární mechanismus aktivace inzulínového receptoru	21
Obrázek 6: Mechanismus účinku nesulfonylureových sekretog	27
Obrázek 7: Účinky GLP-1 v lidském organismu	29
Obrázek 8: Mechanismy MSC přispívající k léčbě DM1	32
Obrázek 9: Izolace Langerhansových ostrůvků	35
Obrázek 10: Alternativní možnosti získání ostrůvků a strategie k udržení	36
Obrázek 11: Schéma enkapsulace ostrůvku a difuze molekul	39
Obrázek 12: Alternativní místa pro transplantace Langerhansových ostrůvků	41
Obrázek 13: Rozdělení imunitních reakcí	42

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Buňky Langerhansových ostrůvků	18
Tabulka 2. Hodnocení výsledků a následný postup	23
Tabulka 3. Diagnostická kritéria diabetu	24
Tabulka 4. Hodnocení výsledků oGTT	25
Tabulka 5. Inzulínové přípravky a jejich rozdělení	30

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AMK	Aminokyselina
ATP	Adenosintrifosfát
IAPP	Amyloidní polypeptid
CPA	Kryoprotektiva
CGM	Kontinuální měření glukózy
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus 1. typu
DM2	Diabetes mellitus 2. typu
DPP-IV	Dipeptidylpeptidázou-4
FGM	Bleskové měření glukózy
GMD	Gestační diabetes mellitus
GIP	Glukózo-dependentní inzulinotropní peptid
GLP-1	Glukagonu podobný peptid-1
GLUT-2	Glukózový transportér-2
GLUT-4	Glukózový transportér-4
HbA _{1c}	Glykovaný hemoglobin
InsR	Inzulinový receptor
InsR-A	Fetální izoforma inzulinového receptoru
InsR-B	Izoforma inzulinového receptoru u dospělého člověka
MK	Mastná kyselina
MODY	Diabetes s počátkem projevu v dětství
MSC	Mezenchymální kmenové buňky MSC
PAD	Perorální antidiabetika
PI3K	Fosfatidylinositol-3kináza
PKB	Proteinkináza B
SGLT2	Sodíkovo-glukózový kotransportér 2
SC	Kmenové buňky
VEGF	Vaskulární endotelový růstový faktor
VIP	Vazoaktivní intestinální polypeptid

ÚVOD

Diabetes mellitus je jedním z nejrozšířenějších metabolických onemocnění na světě, postihující miliony lidí. Poslední desetiletí přinesly výzkumné objevy a technologický pokrok zásadní inovace v léčbě tohoto onemocnění. Diabetologie se stala multidisciplinárním oborem, který spojuje endokrinologii, výživovou medicínu, farmakologii a biomedicínské inženýrství. Moderní přístup k léčbě diabetu již není o pouhém potlačení symptomů, ale o cíleném ovlivňování patofyziologie onemocnění a zlepšení životního stylu pacientů.

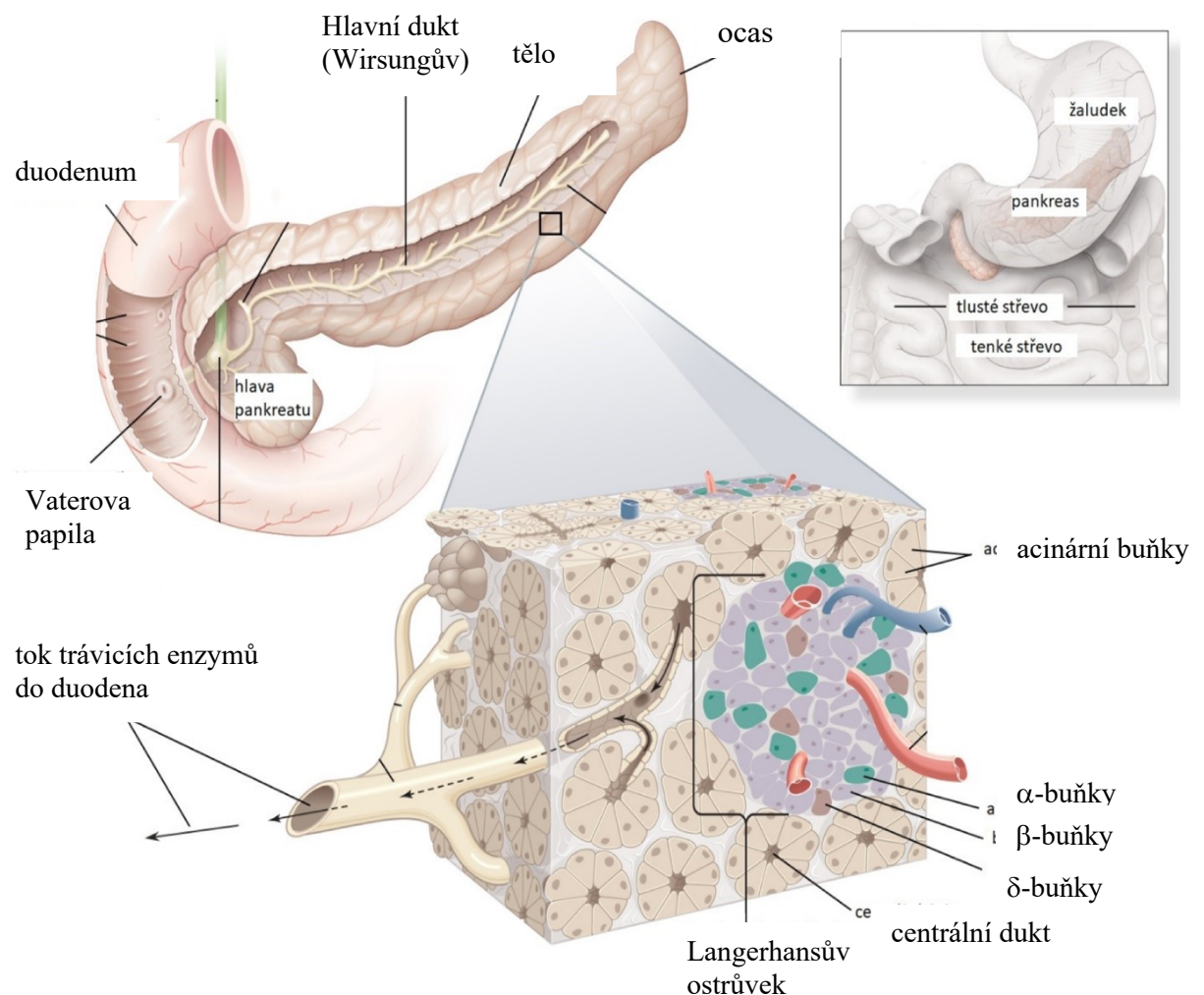
Tato práce se věnuje popisu patofyziologie diabetu a jeho hlavním subtypům. Následně budou popsány moderní metody monitorování glukózy v krvi jako je kontinuálního monitorování glukózy a bleskové měření glukózy. Dále se práce zaměří na léčebné aktuální postupy, včetně farmakoterapie a inzulínové terapie. Závěrečná část se věnuje transplantaci Langerhansových ostrůvků, včetně procesu získávání, techniky transplantace a alternativních možnostech získávání Langerhansových ostrůvků.

1. Slinivka břišní

1.1 Anatomie pankreatu

Slinivka břišní neboli pankreas je smíšená žláza. Má protáhlý tvar a je uložena za žaludkem. Táhne se po zadní straně dutiny břišní od dvanáctníku až k hilu sleziny. U dospělého člověka dosahuje délky 15-20 cm a hmotnost se pohybuje mezi 70-100 g. Pankreas je rozdělen na 4 části: hlavu (*caput*), krk, tělo (*corpus*) a ocas (*cauda*).

Hlava pankreatu je nejširší část. Nachází se v pravé části v ohbí dvanáctníku, ke kterému je fixována vazivem. Na hlavu navazuje krk, což je přechodná část mezi hlavou a tělem. Tělo je delší část uprostřed, táhne se přes břišní aortu a dosahuje až k levé ledvině. Zúžená koncová část je ocas, který je fixován k hilu sleziny.



Obr. 1: Stavba slinivky břišní (upraveno dle Utiger 2022).

1.2 Funkce pankreatu

Slinivka břišní hraje velmi důležitou roli v trávení a řízení vnitřního metabolismu. Skládá se ze 2 morfologicky a funkčně odlišných částí. Exokrinní část (*pars exocrina pancreatis*) produkuje sekret zvaný pankreatická šťáva. Tato šťáva obsahuje enzymy podílející se na štěpení cukrů, tuků a bílkovin. Endokrinní část (*pars endocrina pancreatis*) je uspořádána do malých shluků buněk zvaných Langerhansovy ostrůvky. Tyto ostrůvky obsahují 4 hlavní typy buněk, z nichž každá produkuje jiný hormon.

1.3 Sekrece pankreatu

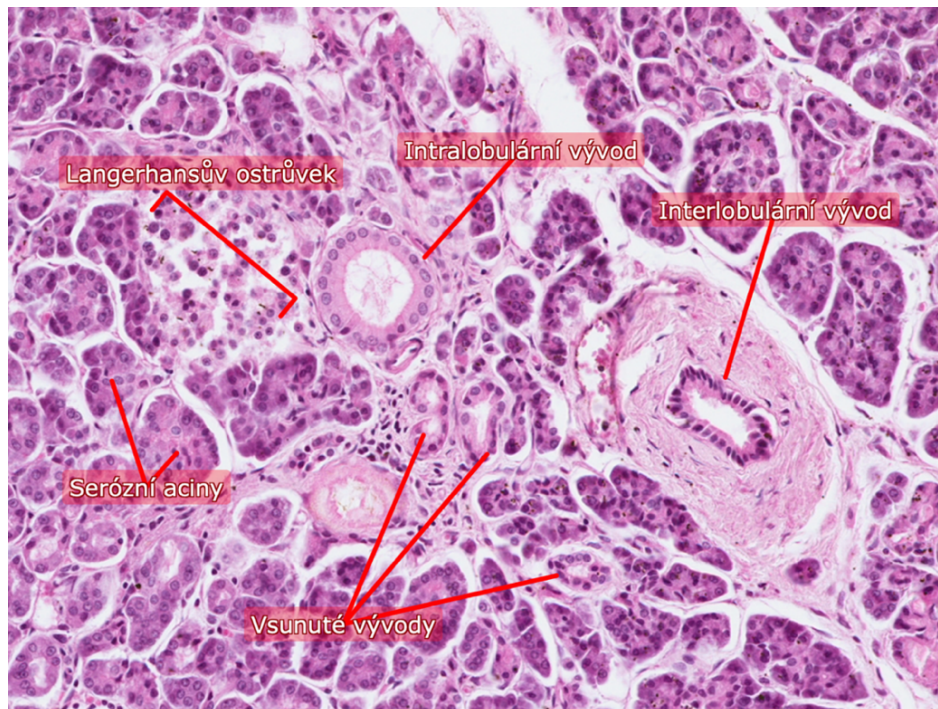
1.3.1 Exokrinní činnost

Celý pankreas je obalen jemným vazivovým pouzdem. Z pouzdra vybíhají vazivová septa, rozdělující parenchym slinivky na jednotlivé lalůčky. Tyto lalůčky obsahují exokrinní i endokrinní část. Převážná část tkáně je tvořena exokrinní složkou. Ta obsahuje acinární a duktální buňky, které společně vytváří kulovité útvary zvané aciny. Každý acinus je vystlaný serózními buňkami pyramidového tvaru. Apikální část cytoplazmy těchto buněk obsahuje zymogenní granula obsahující inaktivní formu enzymů pankreatické šťávy. Uprostřed acinů jsou centroacinární buňky, které jsou součástí vsunutých vývodů. Vsunuté vývody se spojují do intralobulárních vývodů, ty do interlobulárních, které probíhají vazivovými septy a ústí do hlavního vývodu pankreatu. Ten prochází parenchymem žlázy a v hlavě pankreatu se spojuje s hlavním žlučovodem. Společně pak ústí na Vaterské papile v sestupné části dvanáctníku (*Atkinson et al, 2020*).

Exokrinní buňky produkuje denně 1-2 litry pankreatické šťávy. Jedná se o bezbarvý zásaditý sekret, což je dáno vysokou koncentrací bikarbonátů. Díky zásaditému pH dochází k neutralizaci chymu ve dvanáctníku, který putuje ze žaludku. Dále obsahuje vodu, ionty, a trávicí enzymy v neaktivní formě, tzv. proenzymech. Správná aktivace proenzymů je velmi důležitá pro úspěšné trávení. Pokud by došlo k nevhodné aktivaci mimo střevo, může dojít k trávicím potížím nebo poškození slinivky. Sekrece pankreatické tekutiny je regulována dvojím způsobem. Jednak humorálně, kdy se na sekreci podílejí hormony gastrin, sekretin a cholecystokinin a druhým způsobem kdy regulace probíhá pomocí autonomního nervového systému (*Atkinson et al, 2020*).

1.3.2 Endokrinní činnost

Endokrinní část je tvořena 4 typy buněk: α , β , δ a PP buňkami. Tyto buňky se shromažďují do shluků zvaných Langerhansovy ostrůvky. Ve slinivce se nachází 1-2 miliony těchto ostrůvků a zaujímají 1-2 % z celkového objemu tkáně. Každý ostrůvek je zásoben kapilárami, pomocí nichž se hormony dostávají do krevního řečiště a putují k cílové buňce. Tím dochází k udržení glukózy homeostázy (Zhou *et al*, 2018).



Obrázek 2: Histologický popis slinivky (Vaňhara *et al*, 2018).

1.4 Buňky Langerhansových ostrůvků

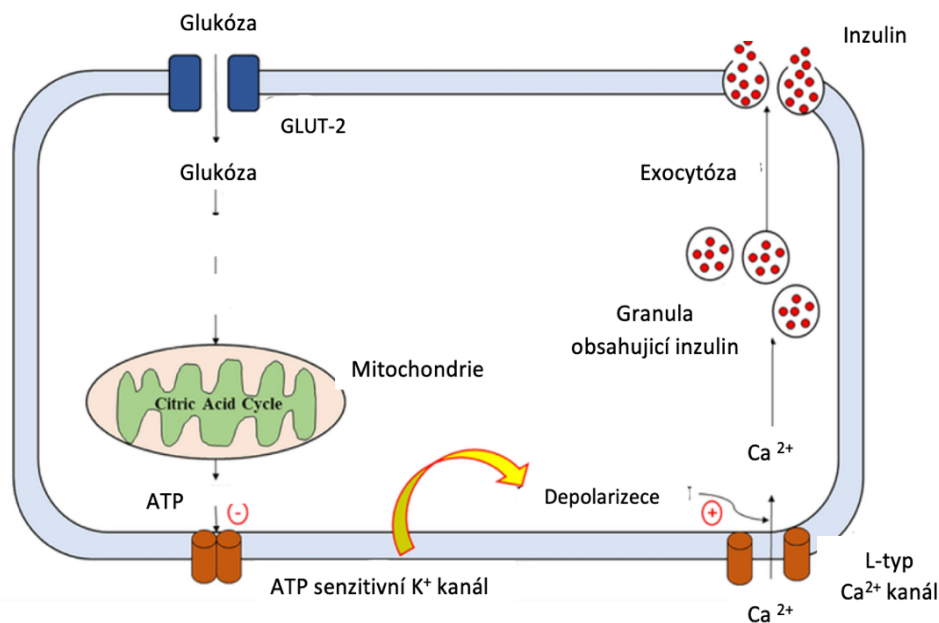
1.4.1 α -buňky

α -buňky zaujímají přibližně 15-20 % z každého ostrůvku. Lokace těchto buněk je převážně na periferii. Cytoplazma buněk obsahuje α -granula produkující peptidický hormon glukagon. Jakmile v těle dojde k poklesu glykémie, receptory ve slinivce to zaznamenají a buňky začnou vylučovat glukagon, který má několik účinků. Prvním účinkem glukagonu je glykogenolýza, při níž dochází ke stimulaci jater a přeměně zásobního glykogenu na glukózu. Dalším účinkem je glukoneogeneze, při které v játrech vzniká glukóza z necukerných složek, nejčastěji z aminokyselin, glycerolu či laktátu. Oba tyto účinky mají za následek zvýšení hladiny glykémie, což brání další tvorbě a sekreci glukagonu (Prasadan *et al*, 2002).

1.4.2 β -buňky

β -buňky mají pyramidový tvar. Jsou umístěny v dřeni Langerhansova ostrůvku a jejich zastoupení je 60-70 % každého ostrůvku. V jejich cytoplazmě se vyskytují 2 typy β -granul (zralá a nezralá). Vývojová stádia těchto granul se odlišují strukturou a složením. Nezralá granula jsou větší a jejich velikost je přibližně 500-800 nm. Obsahují enzymy potřebné pro proteolytické štěpení proinzulinu na inzulin. Dále obsahují proteiny podílející se na regulaci metabolismu glukózy v buňkách. Zralá granula se nacházejí v blízkosti membrány a jsou připravena k rychlému uvolňování inzulinu do krevního oběhu (Marchetti et al, 2012).

Amylin známý také jako amyloidní polypeptid (IAPP) je vylučován společně s inzulinem do krevního řečiště. Podílí se na regulaci glukózy tím, že zpomaluje vyprazdňování žaludku a potlačuje sekreci glukagonu. U jedinců s DM2 je hladina amylinu často snižena nebo chybí, což vede k zvyšování glykémie. Může docházet i k agregaci amylinu do nerozpustných fibril, které se následně hromadí v ostrůvcích a dalších tkáních, což vede k tvorbě amyloidních depozit. Tato depozita jsou charakteristickým znakem diabetu a přispívají k dysfunkci β -buněk a případné ztrátě jejich hmoty (Kiryama et al, 2018).



Obr. 3: Mechanismus sekrece inzulinu z β -buňky (Arora et al, 2021).

Při vzestupu glukózy v krvi, dochází k jejímu vstupu do β -buněk prostřednictvím glukózových transportérů 2 (GLUT2). Po vstupu glukózy do β -buňky probíhá glykolýza jejíž produktem je pyruvát. Pyruvát je transportován do mitochondrie, kde probíhá oxidativní dekarboxylace za vzniku acetyl-koenzymu A, který vstupuje do citrátového cyklu což vede k produkci adenosintrifosfátu (ATP). Nárůst ATP vede k uzavření

draslíkových kanálků a otevření vápníkových kanálků na buněčné membráně tzv. depolarizace. Příliv vápníku do β -buňky je klíčovým signálem pro exocytózu inzulínových granulí uložených v buňce.

1.4.3 PP-buňky

PP-buňky známé také jako F-buňky se nejčastěji nachází na periférii ostrůvku v oblasti hlavy slinivky. Produkují hormon zvaný pankreatický polypeptid (PP). Jednou z hlavních funkcí tohoto hormonu je schopnost ovlivňovat gastrointestinální motilitu. Dále ovlivňuje homeostázu glukózy a reguluje chuť k jídlu. Ve srovnání s α a β buňkami jsou méně prozkoumané (Saito et al, 2022).

1.4.4 δ -buňky

δ -buňky jsou dalším buněčným typem v Langerhansových ostrůvcích. Výskyt těchto buněk je převážně na periférii mezi α a β buňkami. Produkují hormony somatostatin a vazoaktivní intestinální polypeptid (VIP). Za fyziologických podmínek má somatostatin široké spektrum aktivity. Tlumí uvolňování růstového hormonu a tyreotropinu. Dále pak somatostatin inhibuje sekreci inzulínu, glukagonu a pankreatického polypeptidu z endokrinních buněk pankreatu a uvolňování cytokinů z imunitních buněk (Ampofo et al, 2020).

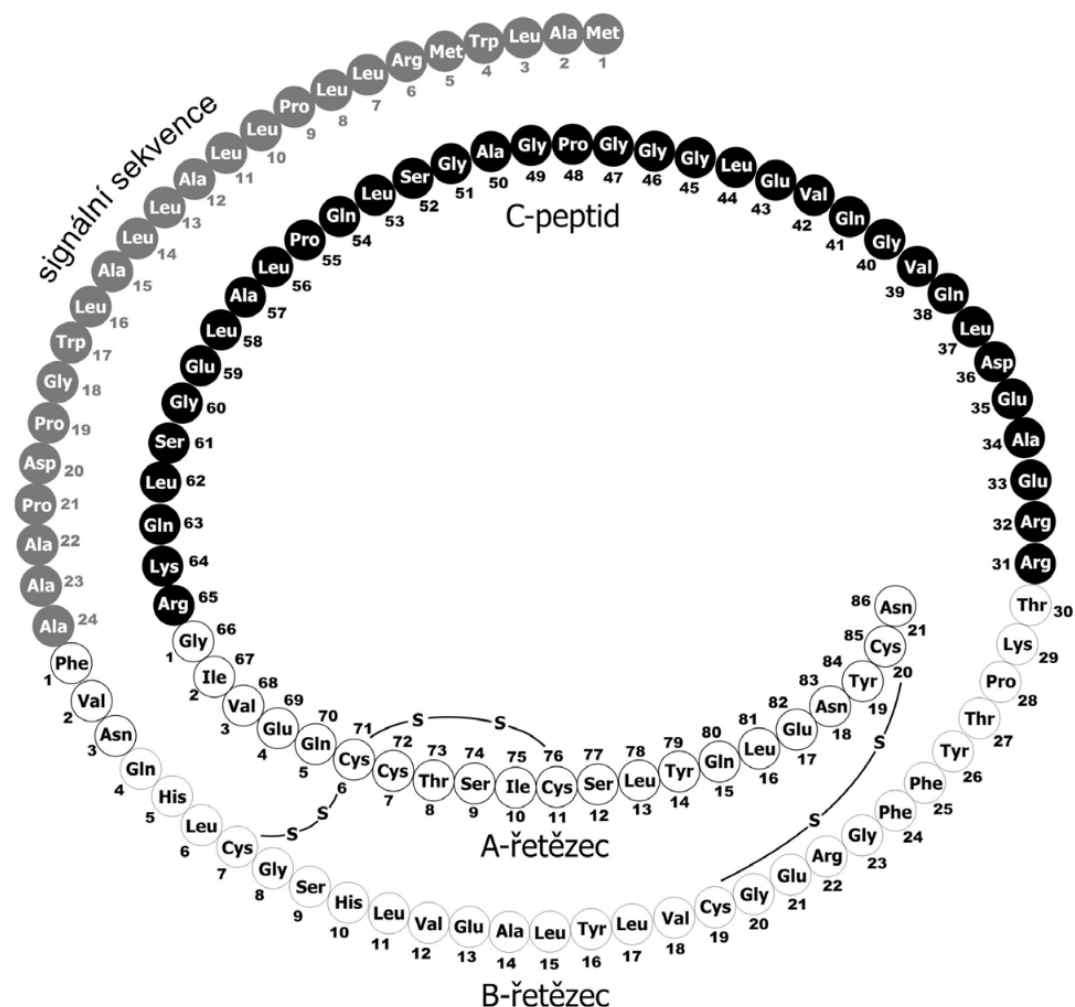
Tab. 1: Buňky Langerhansových ostrůvků (upraveno dle Škrha et al, 2009).

Typ buněk	α -buňky	β -buňky	δ -buňky	PP-buňky
Hlavní hormon	Glukagon	Inzulín	Somatostatin	Pankreatický polypeptid
Prekurzor	Preproglukagon	Preproinzulín	Preprosomatostatin	Prepropankreatický polypeptid
Počet aminokyselin	29	51	14	36
Další produkované hormony	Glicentin Cholecystokinín	Gastrin Pankreastatin IAPP	Pankreastatin Met-enkefalin VIP	Peptid YY Met-enkefalin
Umístění genu na chromozomu	2. dlouhé raménko	11. krátké raménko	3. dlouhé raménko	17. krátké raménko
Objemové % v ostrůvku	20-25 %	60-70 %	15-20 %	5-10 %

2. Inzulin

2.1 Chemické složení inzulínu

Inzulin je anabolický peptidový hormon vylučovaný β -buňkami Langerhansových ostrůvků. Je složený z 51 aminokyselin, které jsou členěné do 2 polypeptidických řetězců značených A (složen z 21 AMK) a B (složen z 30 AMK). Dále jsou v molekule přítomny 3 disulfidické můstky. Jeden disulfidický můstek stabilizuje řetězec A, zbývající dva spojují navzájem A a B řetězec (Zhou et al, 2013).



Obr. 4: Složení preproinzulinu, proinzulinu a inzulínu (Žáková et al, 2005).

Složení preproinzulinu (celá sekvence), proinzulinu (A i B řetězec a černý řetězec) a inzulínu (bílé řetězce). Gly - glycin, Ile - isoleucin, Val - valin, Glu - kys. glutamová, Gln - glutamin, Cys - cystein, Thr - threonin, Ser - serin, Leu - leucin, Tyr - tyrosin, Asn - asparagin, Phe - fenylalanin, His - histidin, Ala - alanin, Arg - arginin, Pro - prolin, Met – methionin

2.2 Syntéza inzulínu

Syntéza inzulínu začíná na ribozomech v drsném endoplazmatickém retikulu tvorbou preproinzulínu. Signální sekvence usnadňuje transport do lumen endoplazmatického retikula, kde dochází k odštěpení signální sekvence pomocí peptidázy a vzniká proinzulín. Ten se skládá z výše zmíněných řetězců, které jsou spojené C-peptidem. C-peptid je polypeptid tvořený, z 31 aminokyselinových zbytků. Spojuje karboxy-konec B řetězce s amino-koncem A řetězce prostřednictvím 2 bazických zbytků (arginin-arginin a lysin-arginin). Proinzulín je dále transportován pomocí vezikulů do golgiho aparátu. Tam se koncentruje v sekrečních granulech a následně je pomocí proteáz štěpen na samostatný C-peptid a inzulín. Po odštěpení C-peptidu, má molekula inzulínu nižší rozpustnost a s ionty Zn^{2+} precipituje a vznikají krystaly inzulínu. Ty jsou spolu s C-peptidem a zbylým preproinzulínem skladovány v sekrečních granulech β -buněk. Stimulem pro syntézu inzulínu je nárůst glukózy nebo ostatních nutrientů, a následně dochází k vypuštění inzulínu pomocí exocytózy (Zhou et al, 2013).

2.3 Sekrece inzulínu

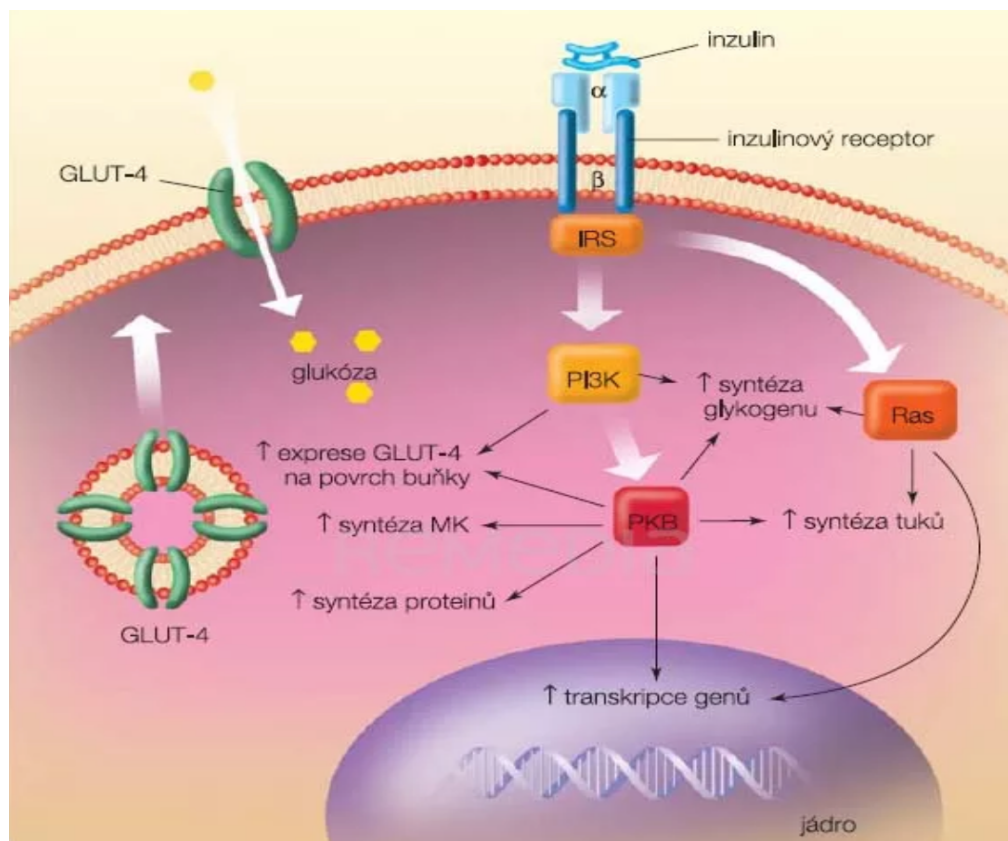
Denní sekrece inzulínu se může lišit v závislosti na mnoha faktorech, kterými jsou věk, tělesná hmotnost a celkový zdravotní stav. U zdravých jedinců se celková denní sekrece pohybuje v rozmezí 30-40 IU. Přičemž polovina připadá na bazální sekreci a druhá na stimulovanou sekreci. Bazální sekrece označuje malé kontinuální množství inzulínu, které slinivka vylučuje po celý den nezávisle na příjmu potravy. U zdravého člověka se tato sekrece pohybuje v rozmezí 0,25-1,5 IU za hodinu. Naopak u pacientů s DM1, kteří mají sníženou nebo nulovou produkci inzulínu, je bazální sekrece nahrazena dlouhodobě působícím inzulínem, který se podává 1 denně. Naopak při stimulované sekreci dochází k uvolňování inzulínu v reakci na zvýšenou hladinu glukózy. Kromě glukózy mohou být dalšími stimulanty sekrece inzulínu další nutrienty, hormony, nervové vlivy a farmaka (Hisamitsu et al, 2022).

2.4 Inzulínový receptor

Inzulínový receptor (InsR) je transmembránový receptor, který se skládá ze 2 extracelulárních α -podjednotek a 2 transmembránových β -podjednotek, které jsou spojeny disulfidickými vazbami. Existují 2 izoformy InsR: InsR-A známá také jako

fetální izoforma a InsR-B známá jako izoforma dospělého člověka. Jednotlivé izoformy se liší svou strukturou a přítomností ve tkáních. InsR-B je převažující formou, která se vyskytuje v játrech, svalech a tukové tkáni. Zatímco InsR-A se vyskytuje převážně v tkáních plodu a u dospělého jedince v krvetvorných buňkách a v centrálním nervovém systému (Ablooglu et al, 2001).

Když se na α -podjednotku naváže inzulin, dochází ke konformační změně InsR a aktivaci tyrozinkinázy, která je součástí β -podjednotky. Aktivovaná tyrozinkináza způsobí autofosforylaci jednotlivých domén β -podjednotky. Následuje fosforylace substrátových proteinů *Insulin Substance Receptor 1-4*, které následně aktivují další signální molekuly, jako je fosfatidylinositol-3kináza (PI3K) a proteinkináza B (PKB). Aktivace PI3K vede ke vzniku druhého posla v podobě fosfatidylinositol-3-trifosfátu. Aktivovaná (PKB) má mnoho účinků na metabolismus včetně translokace GLUT-4 transportérů na povrch buněčné membrány, což umožňuje příjem glukózy do buňky (Petersen et al, 2018).



Obr. 5: Intracelulární mechanismus aktivace InsR (upraveno dle Saltiel et al, 2002).

GLUT-4 - glukózový transportér 4, IRS - látka inzulinového receptoru, MK - mastné kyseliny, PI3K - fosfatidylinositol-3kináza, PKB - proteinkináza

3. Diabetes mellitus

3.1 Charakteristika diabetu

Diabetes mellitus (DM), obecně známý pod názvem cukrovka, je chronické onemocnění. Jedním z hlavních příznaků je hyperglykémie, ta je způsobena relativním nebo absolutním nedostatkem inzulínu. Na vzniku onemocnění se podílí řada patologických procesů. Od destrukce β -buněk s následným deficitem inzulínu až po abnormality, které vedou k rezistenci účinku inzulínu.

3.2 Klasifikace diabetu

3.2.1 Diabetes mellitus 1. typu

DM1 představuje přibližně 5-10 % všech případů diabetu. Ústřední roli v patofyziologii většiny případů DM1 hraje autoimunitní destrukce beta buněk, která vede k těžkému nedostatku inzulínu. Mezi markery imunitní destrukce β -buněk patří autoprotiátky proti buňkám pankreatických ostrůvků, inzulínu, dekarboxyláze kyseliny glutamové a tyrosin fosfatáze. Bylo zjištěno, že měření těchto autoprotiátek má významnou roli pro diagnózu a predikci DM1 u příbuzných diabetika. Při této formě diabetu je destrukce β -buněk značně variabilní. U dětí a kojenců rychlá a oproti tomu u dospělých pomalá. Často jsou pacienti s touto formou DM náchylní k dalším autoimunitním onemocněním, jako je vitiligo, Gravesova choroba, Addisonova choroba a mnoho dalších (*Sapra et al, 2023*).

3.2.2 Diabetes mellitus 2. typu

Tato forma diabetu představuje 90-95 % osob s diabetem, dříve označována jako diabetes nezávislý na inzulínu. Vzniká v důsledku inzulínové rezistence v periferní tkáni a relativním defektem sekrece inzulínu. Inzulínová rezistence se může zlepšit při redukci hmotnosti nebo farmakologické léčbě hyperglykémie, ale jen zřídka se vrátí do normálu. Riziko vzniku této formy diabetu se zvyšuje s věkem, obezitou a nedostatkem fyzické aktivity. Vyskytuje se častěji u jedinců s hypertenzí nebo dyslipidemií nebo u žen, které měly v minulosti gestační diabetu. Četnost výskytu se liší v různých etnických skupinách. Často se stává, že v prvních letech zůstává tento typ DM nediodagnostikován, protože hyperglykémie se vyvíjí postupně a v počátečních stádiích není natolik závažná. Přesto

jsou pacienti vystaveni zvýšenému riziku vzniku makrovaskulárních a mikrovaskulárních komplikací (*Sapra et al, 2023*).

3.2.3 Gestační diabetes

Gestační diabetes (GMD) jak už název napovídá, se projeví během těhotenství. Dodnes však není známo proč k ní dochází, nicméně se spekuluje o tom, že v tom mohou hrát roli antigeny HLA, konkrétně HLA DR2, 3 a 4. Předpokládá se, že u gestačního diabetu hraje roli také nadměrné množství proinzulinu, který by mohl způsobovat stres β -buněk. Další teorií je, že vysoké koncentrace hormonů jako jsou progesteron, kortizol, prolaktin, lidský placentární laktogen a estrogen mohou ovlivňovat funkci β -buněk a periferní citlivost na inzulin. Screening GMD je dvoufázový I. fáze do 14. týdne a II. fáze v průběhu 24-28 týdne (*Sapra et al, 2023*).

Tab. 2: Hodnocení výsledků a následný postup (*Springer et al, 2019*).

Glykémie nalačno < 5,1 mmol/l	= v normě	pacientka podstoupí II. fázi screeningu
Glykémie nalačno opakovaně 5,1-6,9 mmol/l	= v normě	pacientka je odeslána na diabetologii
Glykémie nalačno opakovaně $\geq 7,0$ mmol/l	= DM	pacientka je odeslána na diabetologii
Glykémie při oGTT v 60. min < 10 mmol/l ve 120. min < 8,5 mmol/l	= v normě	pacientka podstoupí II. fázi screeningu
Glykémie při oGTT v 60. min ≥ 10 mmol/l ve 120. min $\geq 8,5$ mmol/l	= GDM	pacientka je odeslána na diabetologii

3.2.4 MODY

Diabetes s počátkem projevu v dětství (MODY) je vzácný genetický syndrom, který zahrnuje několik různých typů diabetu. Jedná se o dědičné formy DM, které se projevují v mladém věku do 25 let. Jsou způsobeny mutacemi v genech zodpovídajících za produkci inzulinu nebo regulaci hladiny cukru v krvi. Mezi geny, na kterých se mutace vyskytují, patří mutace genu pro glukokinázu dále mutace genu kódující inzulin a nejčastější forma je spojena s mutacemi na 12. chromozomu v jaterním transkripčním faktoru označovaném jako hepatocytární jaderný faktor (HNF)-1 α . Každá z mutací vede k odlišné formě *MODY* (*Sapra et al, 2023*).

3.3 Diagnostika DM

Pro diagnostiku diabetu a jeho klasifikaci se stanovuje hladina glykémie v krvi. Používají se metody jako je měření glykémie nalačno, orální glukózový toleranční test nebo stanovení hladiny glykovaného hemoglobinu (HbA_{1c}) (Kernerb et al, 2014).

Tab. 3: Diagnostická kritéria diabetu (Springer et al, 2019).

Glykémie nalačno	<5,6 mmol/l	vyloučení DM
	5,6 až 6,9mmol/l	hraniční glykémie na lačno
	≥7,0 mmol/l	DM
Náhodná glykémie	<7,8 mmol/l	referenční interval
	≥7,8 a <11,1mmol/l	hraniční glykémie na lačno
	≥11,1 mmol/l	DM
Glykemická zátěž (podání 75 g glukózy) oGTT	<7,8 mmol/l	vyloučení DM
	7,8 až 11,1 mmol/l	porušená glukózová tolerance
	≥11,1 mmol/l	DM
HbA_{1c}	20 až 42 mmol/mol	referenční interval
	43 až 53 mmol/mol	kompensovaný DM
	> 53 mmol/mol	DM

3.3.1 Orální glukózový toleranční test (oGTT)

Jestliže diagnóza DM nelze jednoznačně určit z hodnot glykémie na lačno nebo HbA_{1c}, provádí se oGTT. Jedná se o diagnostický test používaný ke zjištění poruchy metabolismu glukózy. Tři dny před testem by měl pacient konzumovat běžnou stravu. V den testu by měl pacient přijít na lačno minimálně po 8hodinovém lačnění. Pacientovi se odebere první vzorek žilní krve na lačno a podá se 75 až 100 g glukózy ve 250-300 ml vody. Další vzorky se pak odebírají v pravidelných intervalech obvykle po 60 a 120 minutách. Výsledky OGTT tab. č. 2 (Phillips 2012).

Tab. č. 4: Hodnocení výsledků OGTT (Springer et al, 2019).

Glykémie	Interpretace
< 7,8 (mmol/l)	vyloučení DM
7,8 až 11 (mmol/l)	porušená glukózová tolerance
≥ 11,1 (mmol/l)	DM

3.4 Komplikace diabetu

Neléčený nebo špatně kompenzovaný diabetes může vést k mnoha rizikům a komplikacím, které se dělí na akutní a chronické. Akutní komplikace vznikají náhle a mohou bezprostředně ohrozit život pacienta. Jedná se o hyperglykémie, hypoglykémie, laktátovou acidózu a diabetickou ketoacidózu. Chronické komplikace se dále dělí na specifické (mikroangiopatické) a nespecifické (makroangiopatické). Specifické komplikace zahrnují diabetickou nefropatii, retinopatii, neuropatii a syndrom diabetické nohy. Do nespecifických se řadí kardiovaskulární, endokrinní, gastrointestinální, plicní kožní a další komplikace (Forbes et al, 2013).

4. Léčba diabetu

4.1 Selfmonitoring

Selfmonitoring glykémie je důležitou součástí léčby diabetu. Cílem SMBG je pomoc lidem s diabetem pochopit, jak jejich hladina glykémie reaguje na jídlo, fyzickou aktivitu a léky. Na základě jednotlivých měření se provádí vhodné úpravy k udržení optimální hladiny glykémie. V dnešní době je k dispozici několik přístrojů pro selfmonitoring. Často používaným zařízením je glukometr, což je malý přenosný přístroj, který měří hladinu glykémie v krvi pomocí malé kapky krve a testovacího proužku. Mezi další zařízení patří systémy *continuous glucose monitoring* (CGM) a *flash glucose monitoring* (FGM) (Heinemenn et al, 2015).

Systém CGM využívá senzor zavedený pod kůži k měření glykémie v intersticiální tekutině. Součástí senzoru je vysílač, který bezdrátově vysílá hodnoty do přijímače (glukometru, inzulínové pumpy, mobilního telefonu). Tento systém umožňuje pacientům nastavení alarmů ohlašující hypoglykémii nebo hyperglykémii. Některá zařízení jako je inzulínová pumpa umí na základě naměřených hodnot sama upravovat dávkování inzulínu. Systém FGM také využívá senzor zavedený pod kůži k měření glykémie v intersticiální tekutině. Senzor však nepřenáší data bezdrátově. Uživatel musí snímač naskenovat pomocí čtečky nebo chytrého telefonu, aby potřebné údaje získal (Heinemenn et al, 2015).

4.2 Farmakoterapie

4.2.1 Léčba perorálními antidiabetiky

Perorální antidiabetika (PAD) jsou léky používané k léčbě pacientů s DM2, u nichž nestačila režimová opatření, do kterých spadá dieta, redukce hmotnosti a cvičení. PAD se dělí do několika tříd podle místa a mechanismu účinku (Bartolomeo et al, 2010).

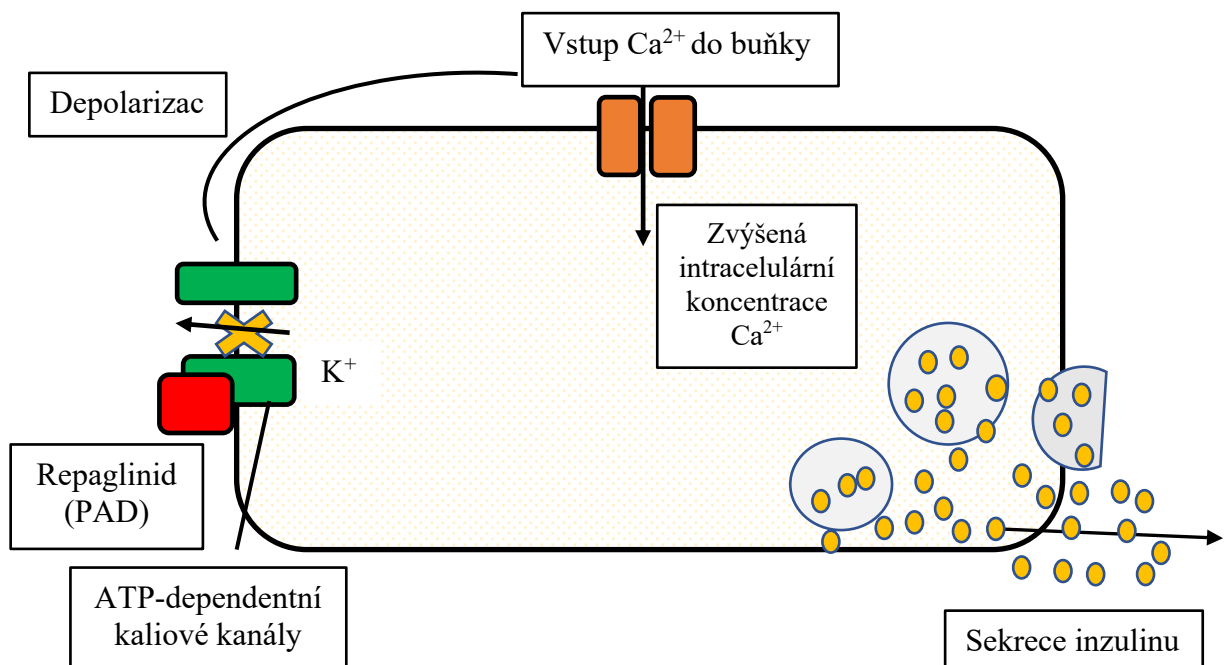
4.2.1.1 Inzulínové senzitivátory

Při snížené inzulínové rezistenci se k léčbě využívají inzulínové senzitivátory, mezi které řadíme biguanidy a thiazolidindiony. Nejčastěji předepisovaným druhem biguanidu je metformin. Mechanismus účinku metforminu spočívá v aktivaci enzymu adenosinmonofosfát aktivovaná proteinkináza, čímž snižuje jaterní glukoneogenezi

a lipogenezi a zvyšuje inzulinem zprostředkované vychytávání glukózy ve svalech. Thiazolidindiony působí tak, že se váží na receptor zvaný γ -receptor aktivovaný peroxisomovým proliferátorem a aktivují je. Nejvyšší koncentrace receptorů je v tukové, svalové a jaterní tkáni. Po aktivaci PPAR- γ podporují vychytávání glukózy buňkami tím, že zvyšují expresi GLUT4, což umožňuje inzulinu efektivněji stimulovat vstup glukózy do buněk. Dále snižují produkci glukózy v játrech a ovlivňují genové exprese v adipocytech (Ganesan et al, 2022).

4.2.1.2 Inzulinová sekretagoga

Pro ovlivnění sekrece inzulinu se využívají inzulinová sekretagoga, které se dělí na 2 hlavní třídy, sulfonylureidy a meglitinidy. Mezi sulfonylureidy patří glipizid, a tolbutamid a mezi meglitinidy řadíme nateglinid a repaglinid. Mechanismus účinku spočívá ve schopnosti vázat se na ATP-dependentní Ca^{2+} kanály na membráně β -buněk slinivky. To vede k depolarizaci membrány a zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} a uvolnění inzulinu ze sekrečních granul (Ganesan et al, 2022).



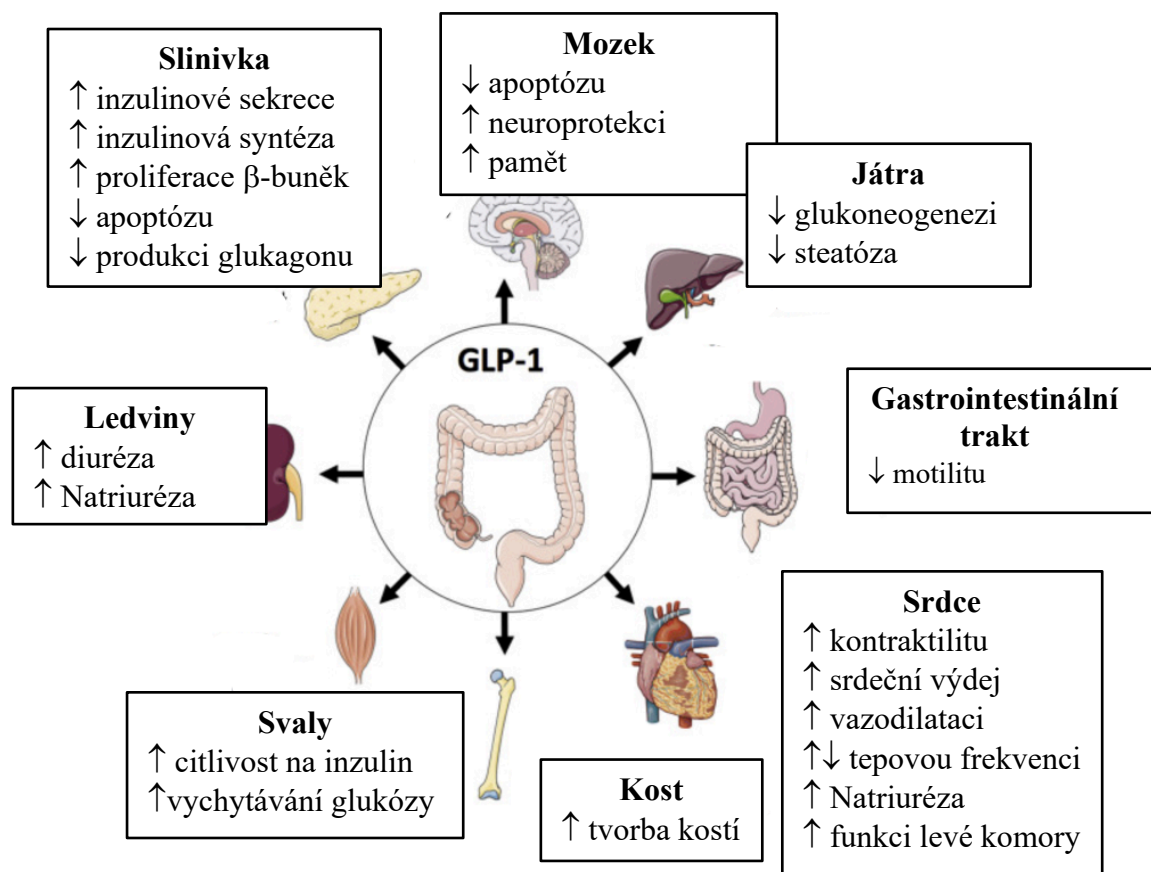
Obr. 6: Mechanismus účinku nesulfonylureových sekretog (upraveno dle Piřhová 2006).

4.2.1.3 Inhibitory střevních glukosidáz

Inhibitory α -glukosidázy kompetitivně inhibují tyto enzymy v buňkách kartáčového lemu střeva, které štěpí glykosidické vazby mezi glukózou a jinými disacharidy a oligosacharidy. Tím dochází ke zpomalení vstřebávání sacharidů. Existují přírodní i syntetické inhibitory. Mezi přírodní řadíme katechiny a flavonoidy, které se nacházejí v rostlinách. Syntetické inhibitory jsou například acarbose a miglitol. V nadměrných dávkách mohou způsobit nežádoucí účinky jako jsou, bolesti břicha, nadýmání a průjem (*Bartolomeo et al, 2010*).

4.2.1.4 Inkretinová analoga

Inkretinové hormony jsou hormony vylučované z enteroendokrinních buněk L a K buněk v reakci na přítomnost potravy v trávicím traktu. Jejich funkce spočívá ve stimulaci sekrece inzulínu a snižování glykémie po jídle. Mezi nejvýznamnější inkretinové hormony patří glukagonu podobný peptid-1 (GLP-1) produkovaný K buňkami a glukózo-dependenční inzulinotropní peptid (GIP) produkovaný α buňkami. Po uvolnění jsou GLP-1 a GIP rychle degradovány dipeptidylpeptidázou-4 (DPP-IV), čímž končí jejich regulační účinek. Inkretinová analoga jsou tedy navržena tak, aby napodobovala účinky těchto hormonů, ale s delším trváním účinku a odolností vůči degradaci enzymem DPP-IV (*Kopp et al, 2022*).



Obr. 7: Účinky GLP-1 v lidském organismu (upraveno dle Kerr et al, 2014).

4.2.1.5 Inhibitory zpětného vstřebávání glukózy v proximálním tubulu

Jsou to látky, které zabraňují zpětnému vstřebávání glukózy v ledvinách. Za normálních okolností se v proximálních tubulech vstřebává většina glukózy z primární moči zpět do krevního oběhu pomocí speciálních transportérů. Mechanismus účinku těchto inhibitorů spočívá v navázání na SGLT2 (*Sodium-glucose co-transporter 2*) a to způsobí blokaci zpětného vstřebávání glukózy a dochází ke glykosurii. Depagliflozin je jedním z hlavních léků v této třídě, mezi další léčiva patří empagliflozin a canagliflozin (Ganesan et al, 2022).

4.3 Léčba inzulínem

Tento typ léčby se obvykle využívá u pacientů s DM1, ale může být vhodný i pro pacienty s DM2, u kterých léčba formou dietních opatření a podávání antidiabetik byla nedostačující. V současné době se k léčbě využívá humánní inzulín a inzulínová analoga. Lidský inzulín se vyrábí biosynteticky, kdy se do bakteriální buňky (*E. coli*) nebo

kvasinky vnese gen pro inzulin. Takto modifikované mikroorganismy produkují inzulin. Analoga se od humánního liší modifikací aminokyselinové sekvence (Tibaldi 2011).

Dále můžeme inzuliny rozdělit podle rychlosti nástupu biologických účinků, vrcholu a délky působení. A to na ultrakrátce, krátce, středně dlouze a dlouze působící viz tabulka č. 5. Inzulin se obvykle aplikuje subkutánní injekcí do vrstvy pod kůží, což zajišťuje pomalé a stabilní vstřebávání do krve. V dnešní době je několik způsobů podání inzulinu. Pacientům jsou k dispozici inzulinová pera, inzulinové pumpy a inhalační inzulin (Cheng et al, 2021).

Tab. č. 5: Inzulinové přípravky a jejich rozdělení (upraveno dle Škrha et al. 2009).

	Ultrakrátké	Krátké	Středně dlouhé	Dlouhé
Začátek působení	10-15 min	30 min	1-3 h	2-3 h
Maximální účinek	30-45 min	1-3 h	4-16 h	10-18 h
Doba působení	2-5 h	4-6 h	12-24 h	24-36 h
	Humalog NovoRapid Apidra	Actrapid HM Insuman Rapid Insulin-HM R	Insulatard Humulin N Insuman Basal	Humulin U Lantus Levemir

4.4 Inzulinová pumpa

Léčba pomocí inzulinové pumpy funguje na principu kontinuální subkutánní infúze inzulinu. Tento druh léčby je vhodný pro pacienty, kteří vyžadují inzulinovou substituci, nejčastěji se tedy jedná o pacienty s DM1. Pumpy jsou programovatelné přístroje, které podávají rychle působící inzulin v bazálních a bolusových dávkách tak, aby napodobily fyziologické požadavky pacienta na inzulin. Bazální dávky jsou malé dávky inzulinu podávané kontinuálně tak, aby udržely stabilní hladinu glykémie během spánku a celého dne. Pumpa umožňuje nastavení tzv. bazálních profilů, což umožní rozlišení všedních a víkendových dnů. Bazální dávkování se tak ještě lépe přizpůsobí aktivitám pacienta. Bolusové dávkování umožňuje pacientovi jednorázově podávat dávky inzulinu, které se přizpůsobují glykemickému profilu, složení množství jídla a fyzické aktivitě (Yao et al, 2022).

Existuje systém nazývaný systém s uzavřenou smyčkou. Jedná se o inzulínovou pumpu spojenou se systémem CGM. Jak již bylo zmíněno výše, tento systém neustále kontroluje hladinu glykémie v krvi a data posílá do přijímače. V tomto případě je přijímačem inzulínová pumpa a ta automaticky přizpůsobuje dávkování inzulínu. Uzavřená smyčka tak snižuje riziko hypoglykémie a hyperglykémie (*Yao et al, 2022*).

4.5 Transplantace

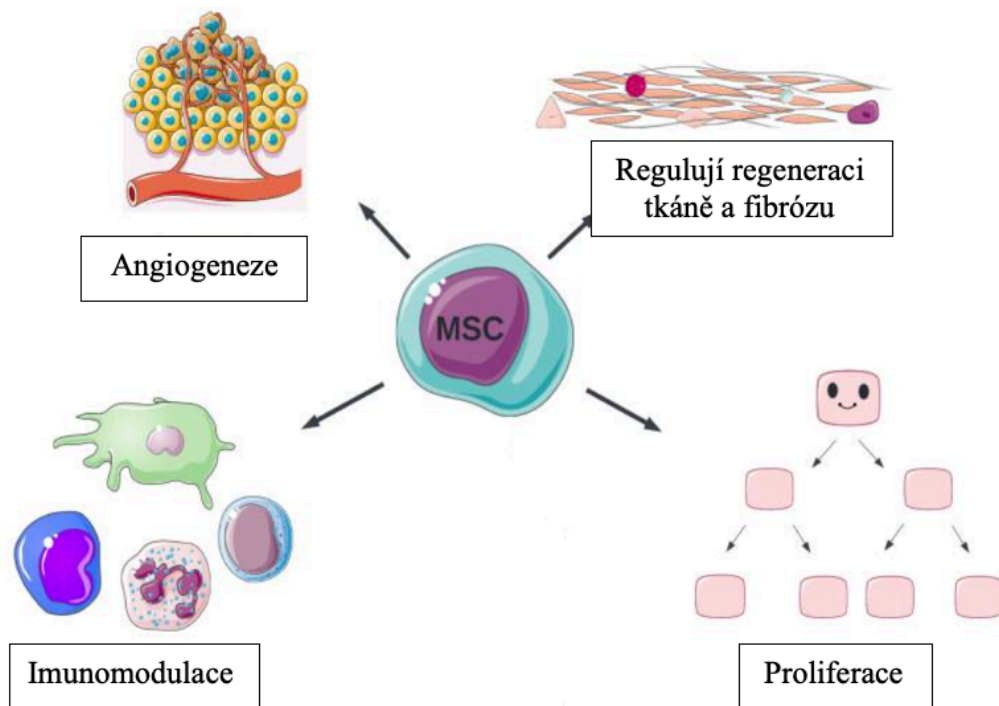
Transplantace tkání produkující inzulín může být další možností, jak nahradit sekreci inzulínu. V současné době existují dva druhy transplantací, které mohou být diabetikovi provedeny. První možností je transplantace celé slinivky. Ta se většinou provádí současně s transplantací ledviny z důvodu rozvoje selhání ledvin v důsledku diabetické nefropatie. Druhou možností je transplantace izolovaných Langerhansových ostrůvků u pacientů trpících tzv. křehkým diabetem, konkrétně u pacientů, kteří trpí závažnými život ohrožujícími stavy hypoglykémie, které si neuvědomují (*Shaheed et al, 2006*).

Transplantace může mít několik výhod ale i nevýhod. Proto je důležité pečlivě posouzení všech možných výhod a rizik. Mezi hlavní výhody patří normalizace hladiny glykémie, snížení rizik diabetických komplikací, snížení závislosti na inzulínové terapii a zlepšení kvality života. Mezi nevýhody a komplikace řadíme imunosupresi, možnost odmítnutí transplantátu, zvýšené riziko infekcí a poškození ledvin. Cílem imunosupresivní léčby je potlačení nebo regulace nežádoucí aktivity T a B lymfocytů. Existuje mnoho různých typů imunosupresivních léků, které mají různé mechanismy účinku (*Shaheed et al, 2006*).

4.6 Léčba pomocí kmenových buněk

Kmenové buňky (SC) představují velmi slibnou novou léčbu DM1 díky své schopnosti diferencovat se do několika buněčných typů a díky regeneračnímu potenciálu. Mezenchymální kmenové buňky (MSC), nazývané také mezenchymální stromální buňky, jsou nehamatopoetické multipotentní SC. Lze je získat z několika zdrojů včetně kostní dřeně, jater, ledvin, tukové tkáně, placenty a mnoho dalších tkání. K identifikaci MSC lze využít několik povrchových markerů mezi, než patří CD73, CD90 a CD105 (*Suya et al, 2022*).

MSC kostní dřeně podporují angiogenezi prostřednictvím sekrece cytokinů, jako je fibroblastový růstový faktor a vaskulární endoteliální růstový faktor. Dále hrají klíčovou roli v imunomodulaci tím, že se přesouvají do oblasti zánětu a modifikují fenotyp dendritických buněk, T-lymfocytů, B-lymfocytů a NK buněk. Snižují prozánětlivé cytokiny a unikají apoptóze zprostředkované cytotoxickými T-lymfocyty, inhibují zrání dendritických buněk a zároveň snižují proliferaci T-lymfocytů prostřednictvím transformujícího růstového faktoru a hepatocytárního růstového faktoru (Suya et al, 2022).



Obr. 8: Mechanismy MSC přispívající k léčbě DM1 (upraveno dle Jayasinghe et al, 2022).

4.7 Endoskopická léčba Diagone

Unikátním léčebným proces v České republice je endoskopická metoda Diagone. Jedná se o metodu prováděnou v celkové anestezii, kdy se skrze endoskop zavádí speciální balónek do tenkého střeva. V tenkém střevě se balónek nafoukne a pomocí laseru se oslepí nervové buňky duodena čímž ovlivníme metabolismus sacharidů. Tato metoda je určena pro pacienty s DM2, kteří mají diabetes méně než 15 let jejich glykovaný hemoglobin je vyšší než 65 mmol/l a nejsou léčeni pomocí inzulinu. Výsledkem této metody je zlepšení glykovaného hemoglobinu (Ikem 2017).

5. Transplantace izolovaných Langerhansových ostrůvků

5.1 Historie transplantace ostrůvků a klinické výsledky

První klinicky úspěšná alogenní intraportální transplantace ostrůvků byla provedena v roce 1980 Sutherlandem a Najarianem v Minnesotě 10 pacientům (*Najarian et al, 1980*). Inzulinové nezávislosti bylo dosaženo u 3 pacientů a to na 1,9 a 38 měsíců. Do roku 1999 bylo provedeno 267 transplantací s odhadovanou 10% mírou nezávislosti na inzulinu v délce 1 roku. V roce 2000 byla publikována úspěšná studie Shapira a spol. (*Shapiro et al, 2000*). Tato studie známá pod názvem Edmontonský protokol byla průlomová a oproti předchozím transplantačním postupům měla 3 hlavní rozdíly. Zkrátila se doba izolace, možnost využití Langerhansových ostrůvků od 2 nebo 3 dárců a snížení počtu ostrůvků potřebných k transplantaci (cca 11 tisíc ostrůvkových ekvivalentů na kilogram tělesné hmotnosti příjemce) a následná imunosupresivní léčba po transplantaci bez kortikosteroidů. Při této studii dosáhlo nezávislosti na inzulinu všech 7 pacientů, kteří transplantaci podstoupili, 5 z nich si udrželo inzulinovou nezávislost delší než 1 rok. Následné sledování 47 pacientů po dobu 5 let léčených podle Edmontonského protokolu ukázalo, že cca 10 % pacientů zůstalo bez inzulinu a 80 % si udrželo silnou sekreci C - peptidu. Mezi další výhody transplantace podle Edmontonského protokolu patřila dobře kontrolovaná hladina HbA1c, snížení počtu epizod hypoglykémie a snížení kolísání hladiny glykémie (*Farney et al, 2016*).

5.2 Postup transplantace alogenních Langerhansových ostrůvků

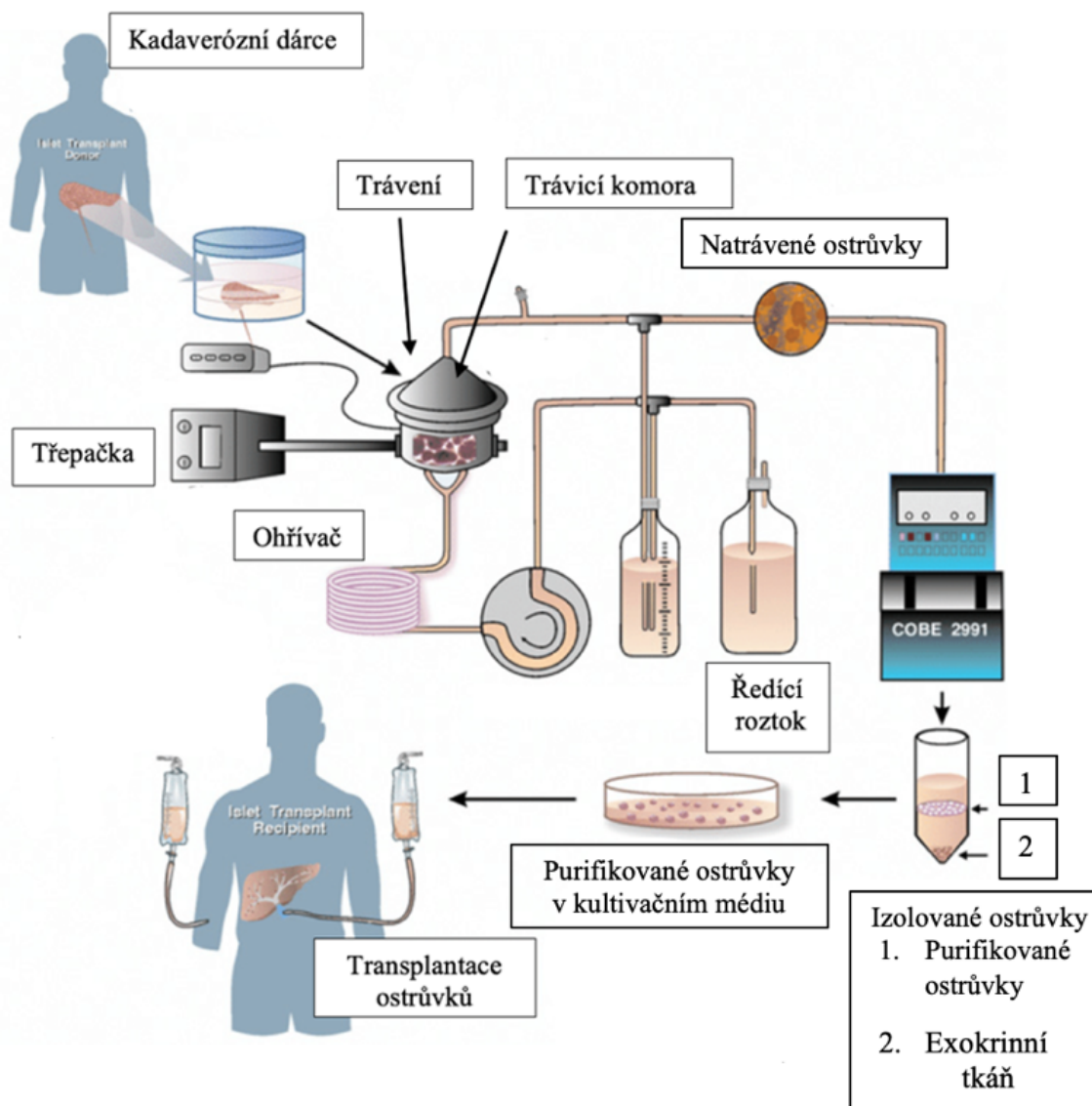
Transplantace ostrůvků vyžaduje postupné kroky zahrnující odběr dárcovské slinivky, izolaci ostrůvků, purifikaci, kultivaci a infuzi. Ve všech krocích tohoto procesu je potřeba věnovat pozornost detailům, aby se maximalizovala integrita a přežití ostrůvků.

Slinivka se odebírá od kadevózního dárce po neurologické či srdeční smrti. Charakteristika dárce jako je věk, index tělesné hmotnosti a hodnota glykovaného hemoglobinu mohou ovlivnit výtěžnost Langerhansových ostrůvků. Důležitým faktorem při výběru dárcovské slinivky je dodržení kompatibility s antigeny AB0 systému (*Rickels et al, 2019*).

Před chirurgickým vyjmutím je slinivka ochlazená a propláchnuta konzervačním roztokem University of Wisconsin nebo roztokem histidin-tryptofan-ketoglutarátu. Po

propláchnutí a ochlazení je slinivka chirurgicky vyjmuta a pankreatický vývod je perfundován studenými a následně zahřátými roztoky kolagenázy, které pomáhají oddělit ostrůvky od exokrinní a duktální tkáně. Poté se slinivka rozřeže na více částí obvykle 9 nebo 10 velkých fragmentů a přeneše do Ricordiho komory. V komoře cirkulují teplé roztoky kolagenázy a serinové proteázy společně s kovovým či keramickým kuličkami. Tím že se komora protřepává dochází k oddělení ostrůvků od exokrinní tkáně. Po uvolnění ostrůvků do roztoku se trávení zastaví ochlazením na 4 °C a aktivita kolagenázy se utlumí přidáním lidskému albuminu. Následuje purifikace, kdy se natrávené ostrůvky přečistí od exokrinní tkáně na buněčném separátoru COBE 2991 pomocí kontinuálního hustotního gradientu. Ostrůvky se poté kultivují 24-72 hodin při 20 °C nebo 37 °C v kultivačním médiu doplněném o inzulín, transferin a selen (*Gamble et al, 2018*).

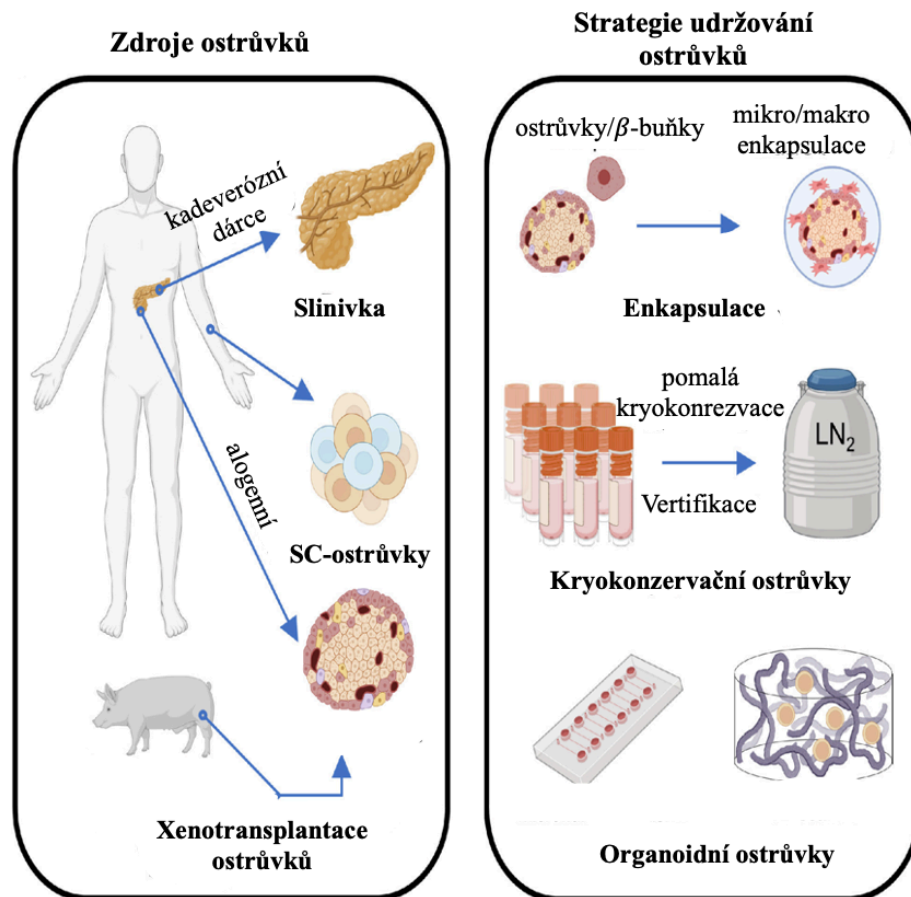
Před samotnou transplantací musí purifikovaný ostrůvek projít podrobným testováním kontroly kvality. Posuzuje se životaschopnost ostrůvků, čistota, obsah inzulínu, počet buněk a sekreční odpověď inzulínu. Ostrůvky musí splňovat více jak 50% čistotu, minimální dávku 5000 vitálních ostrůvkových ekvivalentů na 1 kg a musí být sterilní při barvení dle Grama. V současné době zůstává nejčastěji používanou metodou implantace přes portální žílu. Do portální žíly lze bezpečně vstoupit minimálně invazivní perkutánní transhepatální přístupovou cestou. Výhodou tohoto přístupu je, že u pacientů není nutná celková anestezie a intraportální infuze je spojena s minimem komplikací. Přesto však intravaskulární místo neposkytuje optimální prostředí pro přežití ostrůvků. Dochází k jejich embolizaci a zachycení v sinusoidálních kapilárách, což může vést k ischemii ostrůvků a následné apoptické nebo nekrotické smrti (*Gamble et al, 2018*).



Obr. 9: Izolace Langerhansových ostrůvků (upraveno dle Shaheed et al, 2006).

5.3 Alternativní možnosti získání ostrůvků a strategie k udržení ostrůvků

Poměrně velký problém představuje nedostatek dárcovských pankreatických ostrůvků, který brání širokému uplatnění transplantace jako rutinní léčby pro vhodné pacienty s DM1. Proto se pracuje na studiích, které se zabývají možností získání SC-ostrůvků, které vznikají diferenciací kmenových buněk nebo ze zvířat. Dalším problémem je dlouhodobé přežívání štěpů ostrůvků *in* a *ex vivo*. K tomu byly vyvinuty strategie jako je enkapsulace, výroba ostrůvkových organoidů a kryokonzervace ostrůvků (Shi et al, 2022).



Obr. 10: Alternativní možnosti získání ostrůvků a strategie k udržení (Yue et al, 2023).

5.3.1 Xenotransplantace

Xenotransplantace má za cíl zmírnit nedostatek Langerhansových ostrůvků z lidských zdrojů a očekává se, že poskytne dostatek vysoce kvalitních a biologicky bezpečných náhrad pro klinickou praxi. Protože je prasečí inzulin strukturně podobný lidskému inzulinu. Liší se pouze 1 aminokyselinou a imunogenita prasečích ostrůvků je slabá. Stávají se prasečí ostrůvky nejvhodnější alternativou pro léčbu. První klinická studie xenotransplantace byla provedena v roce 1994 Grothem a spol (Groth et al, 1994). Pacientovi byly podány fetální prasečí Langerhansovy ostrůvky pod ledvinové pouzdro. Přestože klinický výsledek nebyl žádoucí a potřebná dávka inzulinu se po transplantaci nesnížila, prasečí C-peptid byl detekovatelný u pacienta po dobu více jak 300 dní po transplantaci. V současné době se xenotransplantace potýká s problémy jako je imunitní rejekce, endogenní retrovir, výběr izolačního materiálu a vhodné místo pro transplantaci. Proto zatím není xenotransplantace pro klinické využití vhodná (Yang et al, 2020).

5.3.2 Kryokonzervace

Na konci 19. století byly první pokusy s kryokonzervací prováděny na spermích a červených krvinkách. Vědci zjistili že mohou zmrazit lidské spermie a později prokázat jejich funkční obnovu. Při použití takto zmrazených spermií docházelo k brzkému odumírání embryonálních buněk. To bylo způsobeno nedostatkem kryoprotektiv (CPA) a technikou okamžitého zmrazení a rozmrazení buněk (*Parkes et al, 1945*). Teprve ve 20. století J. Lovelock poprvé vysvětlil, že červené krvinky zažívají při zmrazování osmotický stres, který vede k buněčné smrti. V roce 1948 Polge a spol. objevili kryoprotektivní účinek glycerolu, který nechtěně použili při úspěšné kryokonzervaci ptačích spermií (*Polge et al, 1949*). Po tomto objevu Smith úspěšně použil glycerol ke kryokonzervaci lidských erytrocytů a vědci došli k závěru, že kryoprotektivum spolu s rychlostí zmrazování a rozmrazování jsou dva důležité parametry, které ovlivňují funkci buněk (*Smith et al, 1950*). Na konci 70. let 20. století byly sepsány protokoly pro optimální kryokonzervaci Langerhansových ostrůvků. V roce 1977 Rajotte a spol. transplantovali kryokonzervované ostrůvky potkanů přes portální žílu do jater potkanů. Langerhansovy ostrůvky zmrazili pomocí dimethylsulfoxidu (DMSO) a po rozmrazení a odstranění DMSO je transplantovali do jater. V prvních 6 týdnech po transplantaci zaznamenali hyperglykémie, které se postupně snižovali až hladina glykémie dosáhla ve 13. týdnu referenčních hodnot. Dále potkani již neměli glykosurii, zlepšila se jim vitalita a vykazovali přírůstek hmotnosti. Přestože byla tato studie slibná, byla omezena velikostí vzorku a relativně krátkou dobou sledování (*Kojayan et al, 2018*).

V dnešní době se používají 2 postupy kryokonzervace. Pomalé ochlazení o 1-2 °C za minutu s nízkými koncentracemi CPA (2 M) a vertifikační kryokonzervace s vysokou koncentrací CPA (6-8 M). Rychlost zmrazování a rozmrazování během kryokonzervace je velmi důležité pro funkci a morfologii. Čím pomaleji je tkáň zmrazena, tím více času má kapalina v buňce na dosažení rovnováhy s vnějším povrchem buňky, čímž se zabrání destruktivní tvorbě ledových krystalů uvnitř. Avšak při pomalém zmrazování přežívá více imunitních buněk, jako jsou makrofágy, lymfocyty a dendritické buňky a tkáň je tak po transplantaci náchylnější k odmítnutí. Proto je velmi důležité definovat optimální rychlost zmrazování tak, aby obnovení a funkce zůstaly vysoké, zatímco imunitních buněk málo. Současný standard rozmrazování spočívá v rychlém míchání vzorků ve vodní lázni při teplotě 37 °C, která se ochlazuje rychlostí 150-200 °C za minutu. Poté se vzorek v centrifuze stočí při 1500 otáčkách za minutu a odstraní se supernatant. Po odstranění

supernatantu se přidá 0,75 M pufr se sacharózou a vzorek se ponechá 30 minut při teplotě 0 °C, aby se odstranila přebytečná CPA (*Sethia et al, 2022*).

Existují 2 typy CPA, propouštějící a nepropouštějící. Mezi nejčastěji používané propouštějící CPA řadíme dimethylsulfoxid a ethylenglykol a mezi nepropouštějící CPA řadíme různé cukry, jako je rafinóza a trehalóza. Rozdíl mezi nimi je, že propouštějící vstupují do buňky a jsou účinnější ale mají potenciál být toxičtější. Zatímco nepropouštějící do buňky nevstupují (*Sethia et al, 2022*).

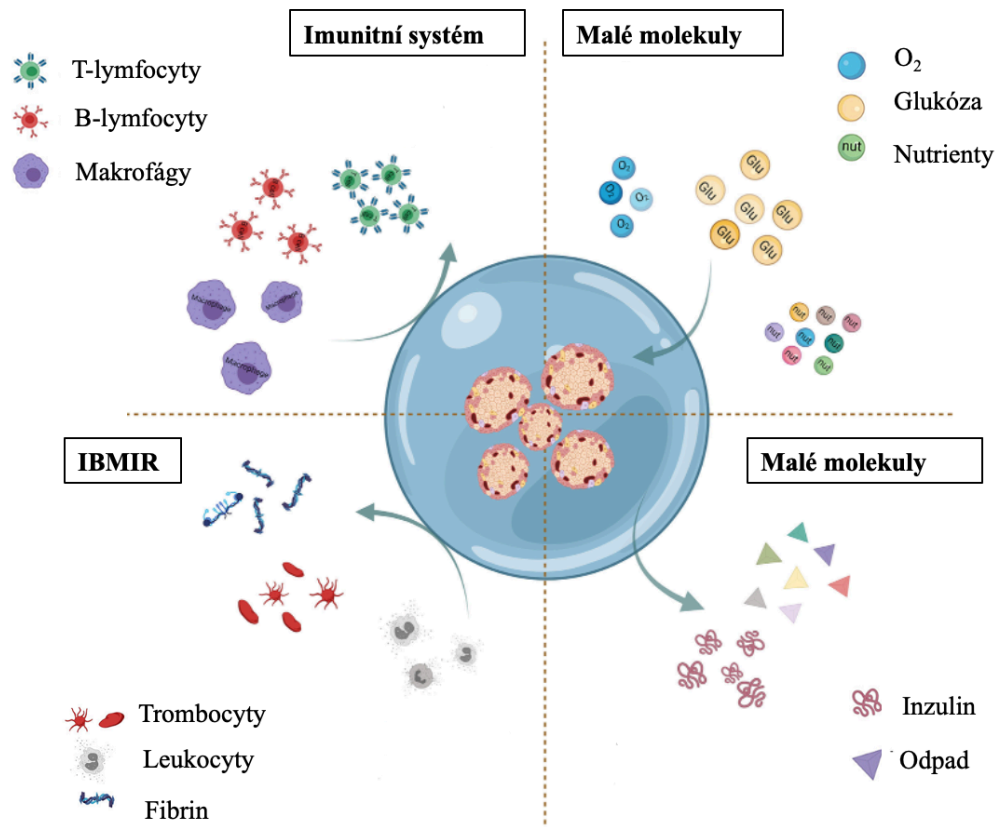
5.3.3 Enkapsulace Langerhansových ostrůvků

Možnost chránit transplantované Langerhansovy ostrůvky před imunitním útokem pomocí mikro nebo makro kapsulí je koncept, který byl v posledních sedmi desetiletích intenzivně zkoumán. Enkapsulace využívá selektivně propustných membrán, které umožňují pasivní difúzi glukózy, inzulínu, kyslíku, oxidu uhličitého a dalších živin a zároveň zabraňuje přímému kontaktu buněk s imunitními buňkami. Při použití enkapsulační techniky je třeba zvážit místo transplantace, použitý materiál, schopnost neovaskularizace a biokompatibilitu (*Desai et al, 2016*).

Makroenkapsulace spočívá v zapouzdření více ostrůvků do makrokapsule. Ty se dělí na intravaskulární a extravaskulární. V ideálním případě se mohou malé molekuly jako je glukóza, voda, kyslík a metabolity v okolí ostrůvků volně pohybovat dovnitř a ven z makrokapsule. Zatímco některé imunoglobuliny a imunitní buňky jsou blokovány (*Lie et al, 2022*). Intravaskulární makroenkapsulace obecně zahrnuje umístění více ostrůvků do polopropustných vláken, která jsou napojena na cévní systém hostitele pomocí cévních anastomóz. Jelikož je vlákno v přímém kontaktu s krevním oběhem, ostrůvky uvnitř vlákna jsou zásobovány dostatečným množstvím kyslíku a živin, což podporuje přežití ostrůvků. Navzdory slibným studiím na zvířatech s intravaskulárním zařízením byly hlášeny závažné problémy s embolizací a tvorbou sraženin. Proto Úřad pro kontrolu potravin a léčiv zamítl schválit tuto techniku pro klinické zkoušky (*Vaithilingam et al, 2017*).

Mikroenkapsulace spočívá v zapouzdření jednotlivých ostrůvků nebo malého počtu ostrůvků do mikrokapsulí a ve srovnání s makroenkapsulací má několik výhod. Mikrokapsle mají obvykle kulovitý nebo sférický tvar. Pokud má mikrokapsle kulovitý tvar znamená to, že má větší povrchovou plochu ve srovnání s objemem. To má za následek efektivnější transport živin, kyslíku a odpadních produktů mezi obsahem kapsle a okolním prostředím, a to je nezbytné pro přežití ostrůvků uvnitř mikrokapsle. Dále mají

lepší stabilitu, mechanickou odolnost, lze je implantovat pomocí minimálně invazivního postupu a jsou jednodušší na výrobu. Naopak hlavní nevýhodou mikrokapslí je obtížné vyjmutí z místa implantace. Mikrokapsle se často vyrábějí ze syntetických polymerů jako je polyvinylalkohol a polyuretan nebo z přírodních polymerů kam řadíme alginát, agarózu nebo chitosan (Vaithilingam et al, 2017).



Obr. 11: Schéma enkapsulace ostrůvku a difuze molekul (upraveno dle Shi et al, 2022).

5.3.4 Organoidní Langerhansovy ostrůvky

Organoidy jsou skupinou primárních embryonálních kmenových buněk a indukovaných pluripotentních kmenových buněk pěstovaných *in vitro*, které mají schopnost sebeobnovy a diferenciaci do 3D struktur stimulující strukturu a funkci cílového orgánu. K přípravě organoidních Langerhansových ostrůvků jsou potřeba izolované buňky pankreatu nebo kmenové buňky. Stimulace kmenových buněk specifickými růstovými faktory a cytokiny napomáhá k diferenciaci do buněčných typů, které tvoří Langerhansovy ostrůvky. Mezi důležité růstové faktory řadíme fibroblastový růstový faktor, retinovou kyselinu, activin A, noggin, a nikotinamid. Diferencované

buňky se naočkují na 3D matrici, která slouží jako podpora pro tvorbu organoidu. Naočkovaná matrice se inkubuje a buňky pronikají do středu matrice kde jsou schopny růstu a samoorganizace do 3D struktur, připomínající cílovou tkáň. Matrice může být vyrobena z různých materiálů jako je kolagen, lamin, matrigel nebo ze syntetických polymerů (*Zhang et al, 2022*).

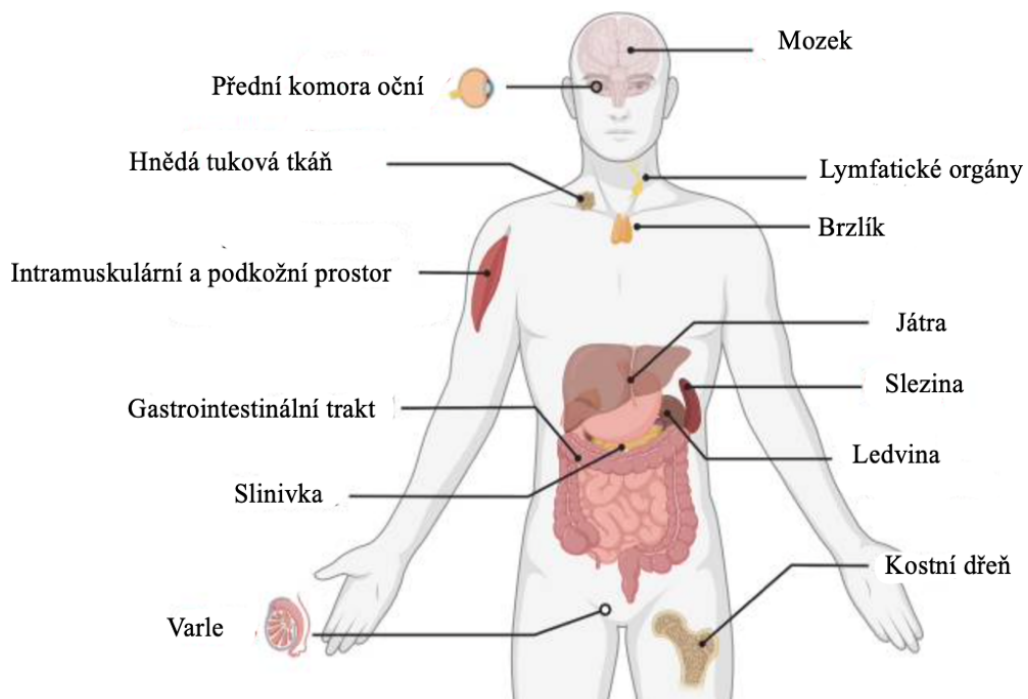
5.4 Neovaskularizace transplantovaného štěpu

Neovaskularizace je nezbytná pro přežití Langerhansových ostrůvků po transplantaci. Ostrůvky mají hustou síť sinusoidálních kapilár, které ústí do periferních venul. Proces izolace tyto kapilární sítě odstraňuje, a proto se musí ostrůvky neovaskularizovat mají-li přežít. Angiogeneze začíná mezi prvním a druhým dnem po transplantaci a pokračuje po dobu 14 dní. Klíčovou roli při angiogenezi hraje vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF), což je protein, který stimuluje růst nových cév a zlepšuje prokrvování tkání. Přídavek VEGF do ostrůvkového štěpu může mít jak pozitivní, tak negativní dopad. VEGF totiž zesiluje zánět, který může být pro přežití ostrůvků destruktivní. Mezi další růstové faktory urychlující proces neovaskularizace řadíme hepatocytární, fibroblastový, epidermální a enzym matrix metaloproteináza (*Gamble et al, 2018*).

5.5 Alternativní místa transplantace Langerhansových ostrůvků

Ideální místo pro transplantaci ostrůvků je popsáno jako místo vyžadující bohatou arteriální a venózní vaskularizaci. Mělo by být dobře zásobované živinami, kyslíkem a schopné normalizovat hladinu glykémie po uvolnění inzulínu. Dále by mělo být snadno přístupné s minimálně invazivním postupem. Snadný přístup by umožnil sledovat životaschopnost ostrůvků a v případě potřeby umožnil odebrat štěp, aniž by došlo k vyvolání časného zánětu, trombózy nebo okamžité zánětlivé reakci zprostředkovanou krví (IBMIR). V současné době není nalezeno žádné místo, které by splňovalo všechna tato kritéria. 90 % klinických transplantací se u člověka provádí pomocí intraportální infuze, při níž dochází k embolizaci a zachycení v portálních sinusoidních kapilárách. To může vést k ischemii ostrůvků a následně k apoptické nebo nekrotické smrti. Další nevýhodou tohoto místa je nemožnost lokalizovat nebo biopsovat ostrůvky (*Pokrywczynska et al, 2017*).

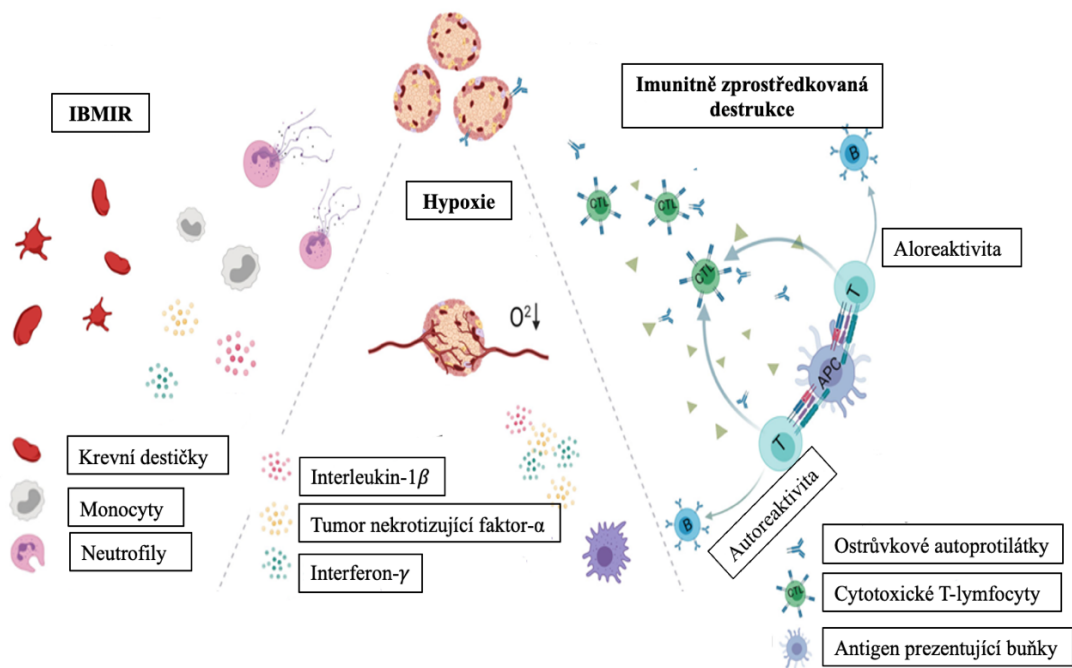
Mezi alternativní místa pro transplantaci tedy řadíme subkapsulární prostor ledviny, příčně pruhované svalstvo, podkožní prostor, slinivku břišní a omentum. Ačkoliv tato alternativní místa mohou zvrátit hyperglykémii na modelech zvířat, zatím pouze omentum umožnilo v poslední době malému počtu subjektů stát se na krátkou dobu nezávislymi na inzulínu. Omentum je díky svému rozsáhlému povrchu, bohatému krevnímu zásobení a možnosti operace s minimálním přístupem tedy slibným alternativním místem k transplantaci. Univerzita v Miami v současné době dokončuje klinickou studii s tímto přístupem, kdy jsou na zabalené omentum transplantovány lidské alogenní ostrůvky obalené autologní plazmou a umístěny pomocí laparoskopických nástrojů (*Spence et al, 2022*).



Obr. 12: Alternativní místa pro transplantace (*upraveno dle Shi et al, 2022*).

5.6 Mechanismy odumírání ostrůvků po transplantaci

Imunitní reakce jsou zodpovědné za odumírání transplantovaných ostrůvků a lze je rozdělit na 3 základní typy. Jedná se o autoimunitní rekurenci a aloimunitu, IBMIR a hypoxii s oxidačním stresem (*Shi et al, 2022*).



Obr.13: Rozdělení imunitních reakcí (upraveno dle Shi et al, 2022).

5.6.1 Okamžitá zánětlivá reakce zprostředkovaná krví

Zánět v časných fázích transplantace byl označen za jednu z hlavních příčin špatného dlouhodobého přežití štěpu. Přibližně 25 % transplantovaných ostrůvků zaniká v okamžiku, kdy se dostanou do kontaktu s ABO-kompatibilní krví, což je vyvoláno obnaženým tkáňovým faktorem na povrchu ostrůvků. Tkáňový faktor interaguje s faktorem VII a aktivuje vnější koagulační dráhu. IBMIR je tedy charakterizována koagulací, aktivací komplementu, infiltrací leukocytů, produkcí cytokinů a chemokinů, což vede k regulované nekróze β -buněk (Moberg 2005).

5.6.2 Aloimunita a autoimunitní recidiva

Přesná rejekční odpověď po transplantaci může zahrnovat několik typů buněk a mechanismů imunitního systému. Mezi buňky podílející se na přesné rejekční odpovědi patří, B-lymfocyty, T-lymfocyty, NK buňky, makrofágy a dendritické buňky.

T-lymfocyty jsou klíčové buňky adaptivní imunity a mohou hrát hlavní roli při odmítnutí transplantované tkáně. Existují dvě hlavní podskupiny T-lymfocytů, které mohou být zapojeny do rejekce, cytotoxické ($CD8^+$) a pomocné ($CD4^+$). $CD8^+$ vylučují cytotoxické molekuly jako je perforin a granzym B, které přímo poškozují ostrůvky. Zatímco $CD4^+$ T-lymfocyty obvykle nevykazují cytotoxickou aktivitu, ale pomohou posílit $CD8^+$ a vylučují některé prozánětlivé cytokiny, jako je tumor nekrotizující

faktor - α a interferon- γ . Tyto cytokiny mohou rekrutovat více imunitních buněk k odmítnutí a usmrcení ostrůvků. Dále podporují polarizaci makrofágů do fenotypu M1 a stimulují smyčku pozitivní zpětné vazby, čímž zvyšují produkci cytokinů. T-lymfocyty jsou tedy pro rejekci alotransplantátu zásadní, proto je současná klinická imunopresivní léčba zaměřena především na ně (Kale et al, 2023).

5.6.3 Hypoxie a oxidační stres

Během procesu izolace ostrůvků dochází často k poškození enzymatickým nebo mechanickým trávením. Po transplantaci trvá proces neovaskularizace obvykle 14 dní, zatímco kompletní cévní remodelace může trvat až 3 měsíce. Mezitím přežívání ostrůvků závisí na pasivní difúzi živin a O_2 , což je zcela nedostačující. Ostrůvky jsou tedy vystaveny hypoxii po celou dobu izolace až po transplantaci, což může způsobit jejich ztrátu (Gamble et al, 2018).

Ostrůvky jsou závislé na vyšším obsahu O_2 , a proto jsou vůči hypoxii zranitelnější než jiné buňky. Ve zdravých tkáních za fyziologického stavu by reaktivní formy kyslíku mohly být neutralizovány účinnými intracelulárními antioxidantními systémy. Ostrůvky však mají slabý antioxidantní obranný systém a mají nízkou schopnost odstraňovat reaktivní formy kyslíku (ROS) a další volné radikály, což je činí obzvláště náchylnými k hypoxii a následnému oxidativnímu stresu (Li et al, 2018).

ROS mohou hrát významnou roli při transplantacích. Jak již bylo zmíněno výše při transplantacích je obvykle nutné dočasně přerušit krevní zásobení transplantátu, což vede k ischemii tkáně. Po reperfuzi dochází k produkci ROS a tento stav je známý jako reperfuzní oxidační stres. Další ROS vznikají při aktivaci imunitního systému, kdy fagocytující buňky jako jsou makrofágy a neutrofilové produkují ROS jako součást obranného mechanismu proti cizorodým patogenům a transplantátu. Nadměrná produkce ROS může poškodit buňky transplantátu, narušit jejich integritu, snížit funkci a způsobit apoptózu. Pro minimalizaci negativního vlivu ROS na transplantát se používá, imunopresivní léčba nebo podávání antioxidantů jako je vitamín C a E, glutathion, který zároveň snižuje oxidační stres. Oxidační stres je biologický stav, kdy v těle existuje nerovnováha mezi produkcí ROS a schopností těla neutralizovat tyto molekuly pomocí antioxidantů (Li et al, 2018).

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo popsat diabetes mellitus a přiblížit možnosti léčby. Závažným globálním zdravotnickým problémem tohoto onemocnění je stoupající prevalence. Podle údajů ze Světové zdravotnické organizace a Mezinárodní diabetické federace z roku 2023 trpí diabetem více než 500 milionů lidí. Podle odhadů se předpokládá, že do roku 2030 bude tento počet dosahovat přibližně 643 milionů. Celosvětově se stále více jedinců potýká s touto metabolickou poruchou, což má značné dopady na kvalitu a délku života. Dále má tento růst prevalence značné zdravotní a ekonomické dopady, protože vede k různým závažným komplikacím a vyžaduje dlouhodobou a nákladnou péči. Proto je velmi důležitá prevence, včasná diagnostika a zlepšování metod léčby. Moderní medicína nabízí širokou škálu léčebných možností. Patří sem inzulínová terapie, perorální antidiabetika, kontinuální monitorování glukózy, inzulínové pumpy, chirurgické zákroky a transplantace slinivky nebo Langerhansových ostrůvků.

Transplantace Langerhansových ostrůvků je slibnou nadějí na léčbu pacientů s diabetem 1. typu a některých případů s diabetem 2. typu. Tato metoda má potenciál obnovit normální inzulínovou sekreci a léčit diabetes. S rozvojem nových technologií a metod pro izolaci a transplantaci se stává tato terapie stále reálnější a úspěšnější. V klinické praxi jsou transplantace Langerhansových ostrůvků již prováděny, avšak stále čelí několika výzvám, včetně omezené dostupnosti zdroje transplantátu a nutnosti imunosuprese. Vědecký výzkum a klinické studie pokračují ve snaze zdokonalit tuto metodu a zlepšit její úspěšnost.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Ablooglu, A. J., Kohanski R. A., et al. Activation of the insulin receptor's kinase domain changes the rate-determining step of substrate phosphorylation. *Biochemistry*. **2001**, 40(2), 504-513.
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus: *Diabetes care*. **2013**, 36(1), 67-74.
3. Ampofo E., Nalbach L., et al. Regulatory Mechanisms of Somatostatin Expression. *International journal of molecular sciences*. **2020**, 21(1), 170-185.
4. Arora A., Singh S., et al. Free fatty acid receptor 1 a ray of hope in the therapy of type 2 diabetes mellitus. *Inflammoopharmacology*. **2021**, 29(3), 1-15.
5. Algire G. H., Weaver J. M., et al. Growth of cells in vivo in diffusion chambers. I Survival of homografts in immunized mice. **1954**, 15, 493-507.
6. Atkinson A. A., Campbell-Thompson M., et al. Organisation of the human pancreas in health and in diabetes. *Diabetologia*. **2020**, 63(10), 1966-1973.
7. Desai T., Shea L. D. Advances in islet encapsulation technologies. *Nat Rev Drug Discov*. **2016**, 16, 338-350.
8. Eyth E., Basit H., et al. Glucose Tolerance Test. StatPearls Publishing. **2022**.
9. Farney A. C., Opara E. C., et al. Evolution of Islet Transplantation for the Last 30 Years. **2016**, 45(1) 8-20.
10. Forbes J. M., Cooper M. E. Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews*. **2013**, 93(1), 88-137.
11. Friedecký B., Springer J.D., et al. Diabetes mellitus laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů. *Klinická biochemie a metabolismus*. **2016**, 24(45), 39-50.
12. Gamble A., Pepper A. R., et al. The journey of islet cell transplantation and future development. **2018**, 10(2), 80-94.
13. Ganesan K., Burhan M., et al. Oral Hypoglycemic Medications: StatPearls Publishing. **2022**.
14. Genuth, S. M., Palmer J. R., et al. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes in America*, **2018**, 15(3), 62-75.
15. Ginsberg B. H., Practical use of self-monitored ring of blood glucose data. **2013**, 7(2), 532-541.

16. Groth C.G., Korsgren O., et al. Transplantation of porcine fetal pancreas to diabetic patients. *Lancet*. **1994**, 32(5), 1402–1404.
17. Haojie Z., Changran H., et al. The Hand as Foot teaching method in the pancreas anatomy. *Asian Journal of Surgery*. **2022**, 45(10) 1-58.
18. Heinemann L., Freckmann G. Continuous Glucose Monitoring Is Not Flash Glucose Monitoring. *Journal of diabetes science and technology*. **2015**, 9(5), 947-950.
19. Hisamitsu I. Metabolism-secretion coupling in glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetology international*. **2022**, 13(3), 463-470.
20. Cheng R., Taleb N., et al. The promising future of insulin therapy in diabetes mellitus. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. **2021**, 320(5) 178-215.
21. Chung H., Hong S. J., et al. High Mobility Group Box 1 Secretion Blockade Results in the Reduction of Early Pancreatic Islet Graft Loss. *Biochem Biophys Res Commun*. **2019**, 514(4), 1081-1086.
22. Ikem, Světově unikátní způsob léčby diabetu 2. typu v Ikem, **2017**.
23. Jayasinghe, M., Omes P., et al. The Role of Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Type 1 Diabetes Cureus. **2022**, 14(7) 311-365.
24. Kale A., Rogers N. M. No Time to Die-How Islets Meet Their Demise in Transplantation. *Cells*. **2023**, 12(5).
25. Kerr S. F., Sposito A. C. Cardiovascular effects of glucagon-like peptide 1 (GLP-1) receptor agonists: *Cardiovascular diabetology*. **2014**.
26. Kerner W., Brücke J., et al. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. **2014**, 122(7), 306-384.
27. Kiriya Y., Nochi H. Role and Cytotoxicity of Amylin and Protection of Pancreatic Islet β -Cells from Amylin Cytotoxicity. **2018**, 7(8), 95-108.
28. Kojayan G. G., Alexander M., et al. Systematic review of islet cryopreservation Islets. **2018**, 10(1), 40-49.
29. Kopp, K. O., Glotfelty E. J., et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists and neuroinflammation: Implications for neurodegenerative disease treatment. **2022**.
30. Li X., Meng Q., et al. The Fate of Allogeneic Pancreatic Islets Following Intraportal Transplantation: Challenges and Solutions. **2018**, 1-13.

31. Liu W., Wang Y., Lanier O. L., et al. Macroencapsulation Devices for Cell Therapy. *Research Tissue Engineering*. **2022**, 53-70.
32. Bartolomeo L., Zucca Ch., et al. Oral Hypoglycemic Drugs. Pathophysiological Basis of Their Mechanism of Action Oral Hypoglycemic Drugs: Pharmaceuticals. **2010**, 3005-3020.
33. Marchetti P., Bugliani M., Boggi U., et al. The pancreatic beta cells in human type 2 diabetes. *Advances in experimental medicine and biology*. **2012**, 288-309.
34. Mohsen K. M., Yaser T., Mohsen B., et al. Therapy of endocrina disease. Islet transplantation for type 1 diabetes: so close and yet so far away. **2015**, 17(5), 165-185.
35. Moberg L. The role of the innate immunity in islet transplantation. *Journal of medical sciences* vol. **2005**, 110(1), 17-55.
36. Najarian J.S., Sutherland D. E., Baumgartner D., et al. Total or near total pancreatectomy and islet autotransplantation for treatment of chronic pancreatitis. *Ann Surg*. **1980**, 19(3), 26–42.
37. Pelikánová T., Bartoš V., *Praktická diabetologie*. 5., aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, **2011**.
38. Parkes A. S., Preservation of spermatozoa at low temperatures. *Br Med J*. **1945**, 32(4), 212–213.
39. Petersen M. C., Shulman G.I., Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev*. **2018**, 98(4), 2133-2223.
40. Phillips P. J. Oral glucose tolerance testing. *Australian family physician* **2012**, 41(6), 353-391.
41. Piřhová P. Léčba perorálními antidiabetiky: *Interní medicína*. **2006**, 190-196.
42. Polge C., Smith A. U., Parkes A.S. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature*. **1949**, 16(4), 666-694.
43. Prasad K., Daume E., Preuett B., et al. Glucagon is required for early insulin-positive differentiation in the developing mouse pancreas. *Diabetes*. **2002**, 51(11), 3229-3236.
44. Rickels M. R., Robertson R. P. Pancreatic Islet Transplantation in Humans. *Recent Progress and Future Directions*. **2019**, 40(2), 631-668.
45. Röder P. V, Bingbing W., et al. Pancreatic regulation of glucose homeostasis: *Experimental & Molecular Medicine*. **2016**, 48(3), 219-229.

46. Rorsman P., Braun M. Regulation of insulin secretion in human pancreatic islets. *Annual review of physiology* vol. **2013**, 79-155.
47. Saito D., Nakagawa Y., et al. Establishment of an enzyme-linked immunosorbent assay for mouse pancreatic polypeptide clarifies the regulatory mechanism of its secretion from pancreatic γ cells. *PLoS One*. **2022**, 17(8), 123-321.
48. Sapra A., Bhandari P. Diabetes. 2023 In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing **2023**.
49. Saltiel A. R., Pessin J. E. Insulin signaling pathways in time and space. *Trends Cell Biol*. **2002**, 12(9), 65-71.
50. Sara T., Vergani A., et al. Novel immunological strategies for islet transplantation. *Pharmacological research* vol. **2015**, 69-75.
51. Shaheed M., Shapiro M. J. Current status of pancreatic islet transplantation. *Clinical science*. **2006**, 10(6), 611-625.
52. Shapiro A. M., Lakey J. R., et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *The New England journal of medicine*. **2000**, 34(5), 89-167.
53. Shapiro A. M., Pokrywczynska M., et al. Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat Rev Endocrinol*. **2017**, 13(5), 268-277.
54. Shi Y., Zhao Y. Z., et al. Immune-Protective Formulations and Process Strategies for Improved Survival and Function of Transplanted Islets. *Frontiers in immunology* vol. **2022**, 21(8), 215-311.
55. Simmons S. Diabetes and Technology. *Primary care*. **2022**, 49(2), 327-337.
56. Spence K. T., Ladie D. E. *Islets Transplantation*. StatPearls Publishing, **2022**.
57. Sethia N., Zhan L., et al. Pancreatic islet cryopreservation by vitrification achieves high viability, function, recovery and clinical scalability for transplantation. *Nature medicine*. **2022**, 28(4) 315-390.
58. Smith A. U. Prevention of haemolysis during freezing and thawing of red blood-cells. *Lancet*. **1950**, 32(6), 910–911.
59. Springer J., Friededecký B., Kratochvíla J., et al. Diabetes mellitus laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů. *Česká diabetologická společnost ČLS JEP*. **2019**.

60. Srinivasan P., Huang G.C., et al. Islet cell transplantation. *Postgrad Med J.* **2007**, 83(9), 91-146.
61. Suya D., Yanjiao L., et al. Engineering Islets From Stem Cells: The Optimal Solution for the Treatment of Diabetes. *Frontiers in immunology.* **2022**, 27(13).
62. Thierry B., Wassmer CH. H., et al. From islet of Langerhans transplantation to the bioartificial pancreas: *Presse medicale.* **2022**, 51(4), 104-139.
63. Tibaldi J. M. Intensifying insulin therapy in type 2 diabetes mellitus: dosing options for insulin analogue premixes. *Clinical therapeutics.* **2011**, 33(11), 62-123.
64. Utiger R. D. *Pancreas Encyclopedia Britannica*, **2022**.
65. Vaithilingam V., Bal S, Tuch BE. Encapsulated Islet Transplantation *Rev. Diabet Stud.* **2017**,14(1), 51-78.
66. Vaňhara P., Sedláčková M., Lauschová I., et al. *Histologický atlas LF MU.* Brno: Masarykova univerzita, **2018**.
67. Vergani A., Nasr M. B., et al. Novel immunological strategies for islet transplantation. *Pharmacological research vol.* **2015**, 69-75.
68. Yang S. Y., Yang K. C., et al. Prevascularization-free Primary Subcutaneous Transplantation of Xenogeneic Islets Coencapsulated With Hepatocyte Growth Factor. *Transplant Direct.* **2020**, 6(11).
69. Yue Ch., Gang Z. Engineering strategies of islet products for endocrine regeneration: *Engineered Regeneration.* **2023**, 4(2), 122-135.
70. Zhang X., Song E., et al. Islet organoid as a promising model for diabetes. *Protein Cell.* **2022**, 13(4), 239-257.
71. Zhuo F., Gilbert R. E., et al. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. **2013**, 9(1), 25-53.
72. Zhou Q., Melton A.D. Pancreas regeneration: *Nature.* **2018**, 55(7), 351-358.
73. Žáková L., Jiráček J. Biosyntéza, sekrece a degradace insulinu: *Chemické listy.* **2005**, 99, 772-781.