

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Úloha oxidačního stresu v rozvoji diabetických komplikací

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Aneta Štaudová**
Osobní číslo: **C16286**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Úloha oxidačního stresu v rozvoji diabetických komplikací**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Seznamte se s podstatou působení reaktivních forem kyslíku, oxidačního stresu v organismu, na úrovni tkání, se zaměřením na úlohu při diabetu 2. typu, rozvoj diabetických komplikací, především vliv na periferní nervy. Věnujte pozornost stavbě nervového vlákna a detailním mechanismům jeho poškození. Proveďte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte databázi MEDLINE.

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

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Martina Špryncová**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.

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

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

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

Aneta Štaudová

Poděkování

Mé poděkování patří především vedoucí bakalářské práce Ing. Martině Špryncové za odborné rady, trpělivost a ochotu, které mi v průběhu zpracovávání práce věnovala.

ANOTACE

Za příčinu rozvoje pozdních diabetických komplikací je v současné době považován především vznik oxidačního stresu. Je spojován s patogenetickými pochody, které se podílí na rozvoji cévních změn a diabetických komplikací. Hyperglykémie, která je počátečním ukazatelem vzniku diabetu mellitu, patří taky mezi ukazatele rozvoje oxidačního stresu společně s dyslipoproteinémií, které následně hrají klíčovou roli v rozvoji rychlé atherogeneze. V přehledu jsou uvedeny spojitosti mezi oxidačním stresem a mechanismy vedoucími k rozvoji chronických diabetických komplikací. Hlavním cílem je proto intenzivní léčba diabetu a jeho přidružených rizikových faktorů, což pak může snížit následky přítomného oxidačního stresu a zpomalení výskytu komplikací.

KLÍČOVÁ SLOVA

oxidační stres, volné radikály, diabetes mellitus, inzulin, diabetické komplikace

TITLE

The role of oxidative stress in the development of diabetic complications.

ANNOTATION

The cause of the development of late diabetic complications is currently considered to be mainly the development of oxidative stress. It is associated with pathogenetic processes that are involved in the development of vascular changes and diabetic complications. Hyperglycemia, which is the initial indicator of the development of diabetes mellitus, is also one of the indicators of the development of oxidative stress together with dyslipoproteinemia, which subsequently play a key role in the development of rapid atherogenesis. The connections between oxidative stress and the mechanisms leading to the development of chronic diabetic complications are presented in an overview. The main goal is therefore intensive treatment of diabetes and its associated risk factors, which can then reduce the consequences of the present oxidative stress and slow down the occurrence of complications.

KEYWORDS

oxidative stress, free radicals, diabetes mellitus, insulin, diabetic complications

OBSAH

ÚVOD.....	11
1 OXIDAČNÍ STRES	12
1.1 Volné radikály	12
1.2 Reaktivní formy kyslíku.....	14
1.3 Reaktivní formy dusíku.....	15
1.4 Biomarkery oxidačního stresu u diabetes mellitus	18
1.5 Nervová buňka.....	20
2 DIABETES MELLITUS	22
2.1 Inzulín	23
2.2 Diabetes mellitus 1. typu.....	26
2.3 Diabetes mellitus 2. typu.....	27
2.4 Gestační diabetes mellitus	29
3 OXIDAČNÍ STRES A DIABETICKÉ KOMPLIKACE	31
3.1 Specifické komplikace diabetu.....	32
3.1.1 Diabetická retinopatie.....	35
3.1.2 Diabetická nefropatie.....	36
3.1.3 Diabetická neuropatie	37
3.1.4 Syndrom diabetické nohy	39
3.2 Nespecifické komplikace diabetu	41
3.2.1 Ateroskleróza	41
3.2.2 Ischemická choroba srdeční.....	42
3.2.3 Ischemická choroba dolních končetin	43
ZÁVĚR.....	44

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Poškození buněk vyvolané volnými radikály [5].....	13
Obrázek 2 Metabolické cesty a zdroje reaktivních forem kyslíku.[7]	14
Obrázek 3 Molekula superoxidu.[6].....	15
Obrázek 4 Metabolismus oxidu dusnatého (upraveno podle Acworda a kol.)[6]	17
Obrázek 5 Schéma neuronu.[11].....	20
Obrázek 6 Narůstající počet nových případů pacientů s diabetem mellitem v ČR.....	22
Obrázek 7 Počet úmrtí pacientů s diabetem mellitem v ČR za každý určitý rok	22
Obrázek 8 Molekula inzulínu.[28]	24
Obrázek 9 Řízení tvorby a sekrece inzulínu.[11].....	25
Obrázek 10 Schéma stavby inzulínového receptoru.[11].....	26
Obrázek 11 Mechanismus vzniku diabetu 2. typu, bludný kruh zhoršující sekreci a účinek inzulínu (podle V. Bartoše).[27]	28
Obrázek 12 Polyolová dráha za normálního hyperglykemického stavu.[36].....	33
Obrázek 13 Oxidační stres v patofyziologii vaskulárních komplikací diabetu.[8].....	34
Obrázek 14 Patogeneze diabetických ulcerací (podle T. Pelikánové).[27]	40
Obrázek 15 Aterogenní účinek hyperinzulinémie (podle J Perušicové).[27].....	41
Obrázek 16 Aterogeneze (vznik aterosklerózy).[34]	42

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Druhy molekul reaktivních forem kyslíku.[6].....	14
Tabulka 2 Druhy molekul reaktivních forem dusíku.[6].....	16
Tabulka 3 Přehled v současnosti dostupných perorálních antidiabetik.[34]	29
Tabulka 4 Stádia diabetické retinopatie.[28]	35
Tabulka 5 Stádia diabetické nefropatie.[28]	37
Tabulka 6 Klasifikace a formy diabetické neuropatie.[26, 42].....	38
Tabulka 7 Klasifikace diabetické neuropatie podle možné reverzibility.[43]	38

SEZNAM ZKRATEK

AGE	advanced glycation end-products
AHA	American Heart Association
AKS	akutní koronární syndrom
AMK	aminokyseliny
AR	aldózreduktáza
ATP	adenosintrifosfát
CAT	kataláza
CMP	cévní mozková příhoda
DM	diabetes mellitus
DM1	diabetes mellitus 1. typu
DM2	diabetes mellitus 2. typu
DNF	diabetická nefropatie
DN	diabetická neuropatie
DR	diabetická retinopatie
DSP	symetrická polyneuropatie
GLO	glyoxylasa
GMD	gestační diabetes mellitus
GR	glutathionreduktáza
GSH	glutathion
HClO	kyselina chlorná
ICHDK	ischemická choroba dolních končetin
ICHS	ischemická choroba srdeční
IR	inzulínová rezistence
LHP	hyperperoxydy lipidů
MDA	malondialdehyd
MG	methylglyoxylát
MK	mastné kyseliny
NAD ⁺	oxidovaná forma – nikotinamiddinukletid
NADH	redukováná forma – nikotinamiddinukletid
NADPH	nikotinamiddinukletidfosfát

NK	nukleové kyseliny
OS	oxidační stres
PAD	perorální antidiabetika
RNS	reaktivní formy dusíku
ROS	volné kyslíkové radikály, reaktivní formy kyslíku
SDH	sorbitoldehydrogenáza
SDN	syndrom diabetické nohy
SOD	superoxid dizmutáza
TAG	triacylglyceroly
VR	volné radikály

ÚVOD

Oxidační stres je způsoben nerovnováhou mezi oxidanty a antioxidanty. Dochází ke zvýšenému výskytu volných kyslíkových radikálů (ROS), které vznikají jako vedlejší produkty metabolismu kyslíku. Mezi ROS řadíme např. superoxid, hydroxylový radikál a peroxid vodíku, který volným radikálem není, ale podílí se na jejich vzniku. Nadbytek volných radikálů může vést k poruše metabolismu proteinů, nukleových kyselin, lipidů i sacharidů a následně poškození buněk a rozvoji diabetických komplikací.

Diabetes mellitus patří mezi nejčastější chronické metabolické onemocnění u nás i ve světě, jehož hlavním znakem je hyperglykémie (zvýšená hladina glukózy v krvi). DM vzniká u absolutního nebo relativního nedostatku inzulínu. DM se dělí na dva základní typy – typ na inzulínu závislý (DM 1. typu) a nezávislý (DM 2. typu.). DM 2. typu je ve světové populaci rozšířenější, také se nazývá dospělým typem DM, protože se u dětí vyskytuje méně. U DM 2. typu hrají roli také sekundární příznaky spojené se špatným životním stylem (obezita, nadměrný stres).

K rozvoji diabetických komplikací vlivem OS dochází u poruch metabolismu kyslíku či dusíku. Diabetické komplikace můžeme rozdělit na specifické, mezi které patří mikroangiopatie – diabetická nefropatie, retinopatie, syndrom diabetické nohy a neuropatie, a na nespecifické, u kterých dochází ke vzniku makroangiopatií, jedná se zejména o rozvoj aterosklerózy a poté výskyt kardiovaskulárních onemocnění a napadení nervového systému.

1 OXIDAČNÍ STRES

Oxidační stres (OS) je způsobený nerovnováhou mezi tvorbou a odstraňováním volných kyslíkových radikálů (ROS) v buňkách a tkáních, dochází tedy k fyziologické poruše rovnováhy mezi antioxidanty a oxidanty. ROS vznikají jako vedlejší produkt metabolismu kyslíku, který mohou ovlivňovat stresory prostředí (tj. UV záření, ionizující záření, znečišťující látky a těžké kovy), což pak vede k jejich nadprodukcí a následně pak k poškození buněk a tkání.[1]

K OS dochází, když buněčné prooxidanty přemůžou buněčné antioxidační obranné mechanismy a naruší redoxní signalizaci a kontrolu. Systémový OS lze snadno odhadnout měřením hladin cirkulujícího aminothiolu, kdy nejdůležitější sloučeniny jsou glutathion a cystein. V intracelulárním prostoru hraje glutathion zásadní roli při odstraňování peroxidů a dalších oxidantů a při zachování redoxního stavu mnoha biomolekul. V extracelulárním prostoru hraje cystein rozhodující roli jako antioxidant a cystin, jeho oxidovaná disulfidová forma, slouží jako důležitá míra systémového OS. Proto nižší cirkulující hladiny glutathionu a vyšší hladiny cystinu odrážejí relativní nedostatek antioxidantů a nadprodukcí oxidantů a naopak. Vyšší OS je spojen s vyšším věkem, diabetem mellitem, kouřením, poruchou funkce endotelu, zvýšenou tuhostí tepen, aterosklerózou, infarktem a vyšší mírou nežádoucích kardiovaskulárních příhod.[2]

1.1 Volné radikály

Volné radikály (VR) jsou molekuly schopné samostatné existence. Mají ve své valenční vrstvě jeden nebo více volných nepárových elektronů, a proto se snaží získat elektron a vytvořit tak elektronový pár, který je třeba ke stabilní konfiguraci. To vypovídá o jejich velké reaktivitě a omezené době existence.[3, 4]

VR mohou negativně napadat nukleové kyseliny, lipidy v lipoproteinech a v buněčných membránách, sacharidy i bílkoviny včetně enzymů, což pak může vést k poškození tkání i orgánů viz obrázek 1.[3, 4] Jsou obecně velmi nestabilní a velmi reaktivní.[5]

Volný radikál vzniká trojím způsobem:

- Oxidace – ztráta jednoho elektronu
- Redukce – přidání jednoho elektronu
- Homolytické štěpení kovalentní chemické vazby – každý fragment získává jeden nepárový elektron [6]

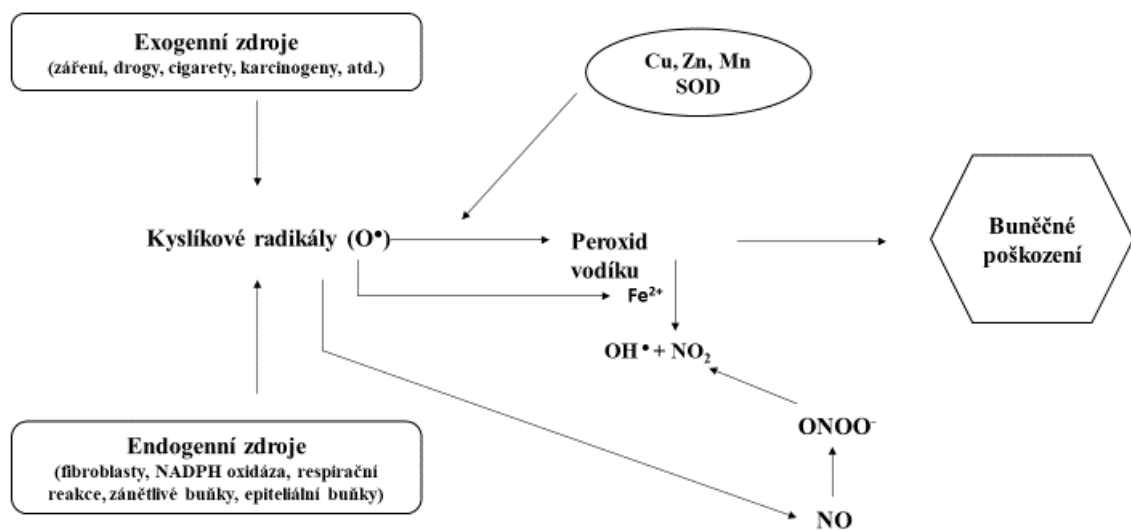
VR můžeme rozdělit do následujících dvou typů:

- Reaktivní formy kyslíku (ROS)
- Reaktivní formy dusíku (RNS)

Jak již bylo zmíněno, volné radikály jsou považovány za škodlivé molekuly, protože napadají buňky, které pak ovlivňují vývoj života. Může docházet k poruše aktivace různých signálních drah uvnitř buňky, jako jsou dráhy mitogenem aktivované protein kinázy a dráhy kinázy řízené extracelulárním signálem, které mění genovou expresi, stejně jako v koordinaci se superoxid dizmutázou, která iniciuje buněčnou smrt. Například RNS produkované neurony působí jako neurotransmitery a ty, které generují makrofágy, působí jako zprostředkovatelé imunity. Také jsou odpovědné za adhezi leukocytů, trombózu, angiogenezi a cévní tonus. Podobně se ROS podílí na genové transkripci, jediné transdukcii a regulaci dalších aktivit v buňce.[5]

Exogenní i endogenní látky produkují volné radikály v buňkách a jejich okolí. Mohou být produkovány z neenzymatických reakcí organických sloučenin s kyslíkem, stejně jako ty, které jsou iniciovány ionizujícím zářením. Tento proces může také nastat v mitochondrii oxidační fosforylací.[5]

Mezi různé zdroje VR patří záření, ROS, RNS, produkce neutrofilů a makrofágů, chemikálie, kouření cigaret, doutníků a průmyslové odpadní vody. Aby se tělo zbavilo škodlivých účinků těchto volných radikálů, má své různé mechanismy na produkci antioxidantů, endogenního nebo exogenního původu, které neutralizují zvýšené množství volných radikálů a chrání buňky před jejich toxickými účinky a přispívají k prevenci onemocnění.[5]



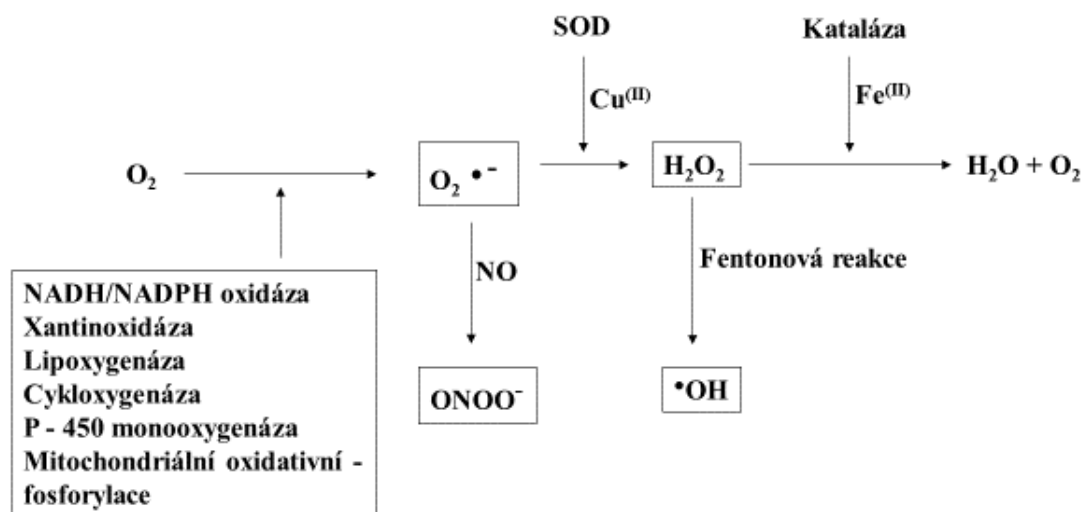
Obrázek 1 Poškození buněk vyvolané volnými radikály [5]

1.2 Reaktivní formy kyslíku

Reaktivní formy kyslíku (ROS) je skupina malých reaktivních molekul, které hrají rozhodující roli při regulaci různých buněčných funkcí a biologických procesů. Můžeme je rozdělit do dvou skupin. První skupinou jsou volné radikály s nepárovým elektronem a pak tu máme druhou skupinu látek, které volnými radikály nejsou, ale podílejí se třeba na jejich vzniku (viz tabulka 1). Mechanizmy vzniku ROS znázorňuje obrázek 2.[6]

Tabulka 1 Druhy molekul reaktivních forem kyslíku.[6]

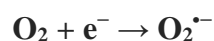
Volné radikály	Látky neradikálové povahy
Superoxid, $O_2^{\bullet -}$	Peroxid vodíku, H_2O_2
Hydroxylový radikál, HO^{\bullet}	Kyselina chlorná, $HClO$
Peroxyl, ROO^{\bullet}	Ozon, O_3
Alkoxyl, RO^{\bullet}	Singletový kyslík, 1O_2
Hydroperoxyl, HO_2^{\bullet}	-



Obrázek 2 Metabolické cesty a zdroje reaktivních forem kyslíku.[7]

Superoxid

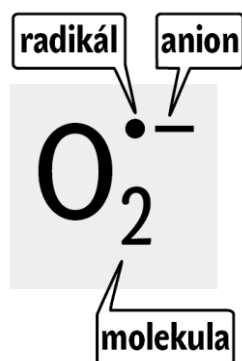
Superoxid je reaktivní kyslíkový radikál (viz obrázek 3) a vzniká z molekuly kyslíku přijetím jednoho nepárového elektronu (redukci).



Současně podléhá tzv. dizmutaci, kdy jedna jeho molekula poskytuje elektron druhé a dochází současně k oxidaci i redukci. Produkty jsou pak kyslík a peroxid vodíku:



I když tato reakce probíhá ve vodném prostředí vysokou rychlostí, v biologických systémech bývá urychlována enzymem superoxid dizmutázou (SOD).[6]



Obrázek 3 Molekula superoxidu.[6]

Peroxid vodíku

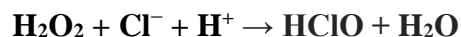
Peroxid vodíku není radikál, ale řadíme ho do skupiny ROS, protože se účastní vzniku radikálů. K urychlení velmi pomalých reakcí peroxidu vodíku s biomolekulami využíváme přítomnosti tranzitních kovů (Fe^{2+} nebo Cu^+) a pak dochází k redukci snadněji:



Tuto reakci katalyzovanou dvojmocným železem nazýváme Fentonova reakce, kdy vzniká velmi toxický hydroxylový radikál HO^\bullet , který v živých organizmech rychle reaguje s okolními molekulami. Dojde k odebrání elektronu z nenasycených mastných kyselin (MK) a napadení aminokyselin (AMK) a nukleových kyselin (NK).[6]

Kyselina chlorná

Kyselina chlorná (HClO) má silné oxidační účinky. K syntéze HClO dochází v polymorfonukleárech (v neutrofilních granulocytech) pomocí jejich myeloperoxidázy:



Polymorfonukleáry ji pak používají s dalšími ROS a reaktivními formami dusíku (RNS) jako dezinfekční prostředek proti bakteriím.[6]

1.3 Reaktivní formy dusíku

Reaktivní formy dusíku (RNS) jsou odvozené sloučeniny od oxidu dusnatého a můžeme je rozdělit podobně jako ROS do dvou skupin podle radikálové povahy viz tabulka 2.[5]

Tabulka 2 Druhy molekul reaktivních forem dusíku.[6]

Volné radikály	Látky neradikálové povahy
Oxid dusnatý, NO•	Nitrosil, NO ⁺
Oxid dusičitý, NO ₂ •	Nitroxid, NO
-	Kyselina dusitá, HNO ₂
-	Oxid dusitý, N ₂ O ₃
-	Oxid dusičitý, N ₂ O ₄
-	Nitronium, NO ₂ ⁺
-	Peroxyinitrit, ONOO ⁻
-	Alkylperoxyinitrit, ROONO

RNS produkované neurony působí jako neurotransmitery a ty, které jsou tvořeny makrofágy, působí jako mediátory imunity. Ty jsou také zodpovědné za adhezi leukocytů, trombózu, angiogenezi a vaskulární tonus. Podobně se ROS podílí na transkripci genů, na jediné transdukcii a regulaci dalších aktivit v buňkách.[5]

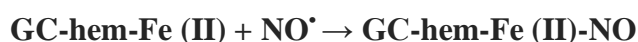
Oxid dusnatý

Oxid dusnatý (NO) je velmi jednoduchá molekula, která byla objevena v 80. letech minulého století a teď je zkoumána pro svoji funkci v buněčné signalizaci. V těle se tvoří složitým enzymovým mechanismem viz obrázek č. 6. Samotný oxid dusnatý, ale i jeho metabolitům jsou za určitých podmínek vysoce jedovaté látky. Součet elektronů dusíku a kyslíku je lichý ($7 + 8 = 15$), oxid dusnatý musí být radikál (NO•). Přesto *in vivo* NO• reaguje velmi pomalu s většinou biomolekul, dostatečně rychle reaguje pouze s radikály a tranzitními kovy. Avšak metabolity NO jsou velmi reaktivní.[6]

NO má velmi malou pravděpodobnost, že dojde k reakci *in vivo*, protože je dobře vychytáván v erytrocytech, kde pohotově reaguje se železem oxyhemoglobinu za vzniku methemoglobinu a nitrátu. Jedná se o fyziologickou inaktivaci NO• a o jednu z regulačních podmínek funkce *in vivo*. [6]



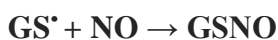
NO má vysokou afinitu k hemovému železu enzymu guanylátcyklázy, což má za následek stimulaci syntézy cyklického guaninmonofosfátu a vazodilataci cév hladkého svalstva.[6]



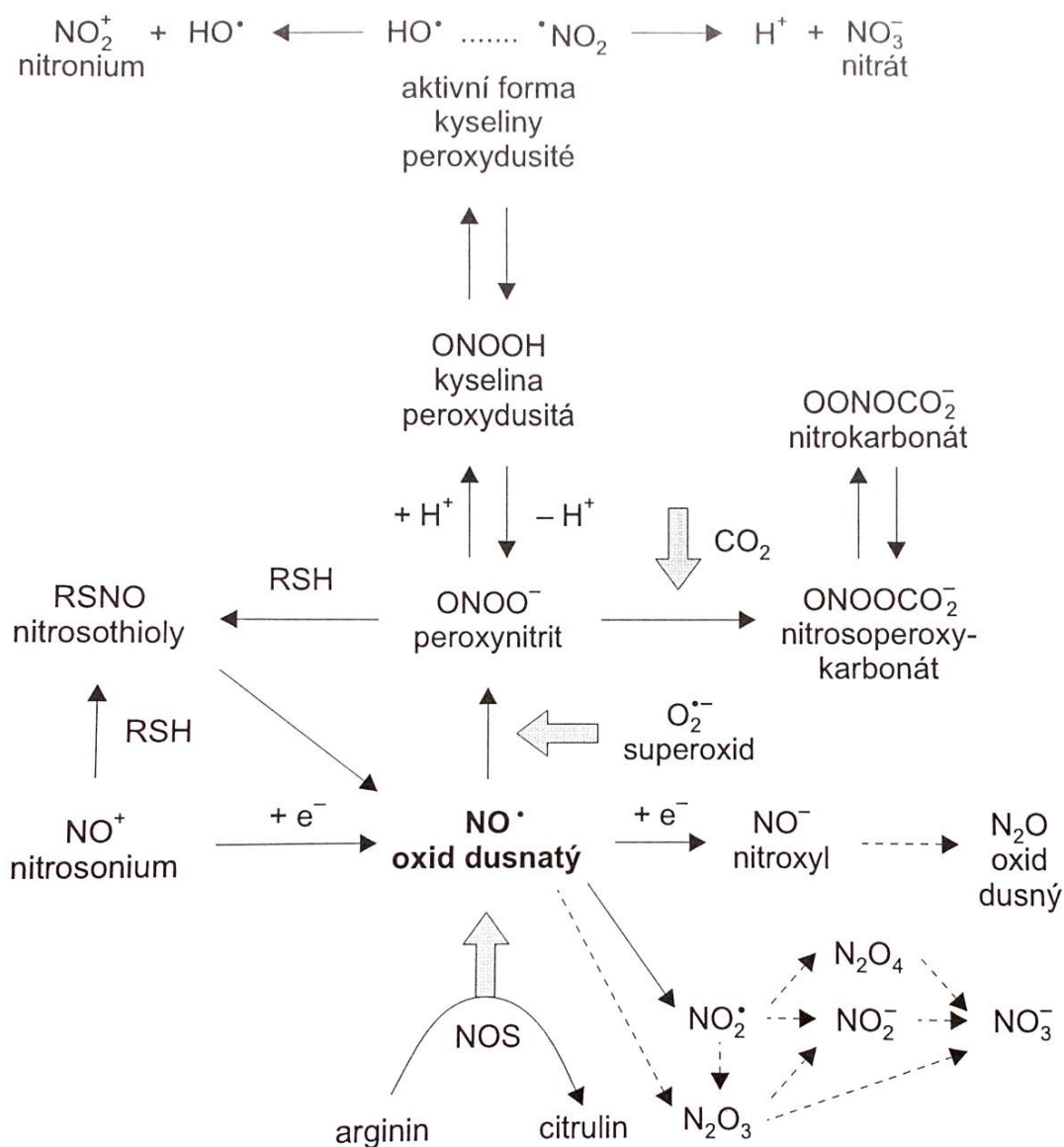
In vivo se NO snadno slučuje s thioly (cystein, albumin, glutathion), fenoly (tyrosin) a se sekundárními aminy za přítomnosti akceptorů elektronů (tranzitních kovů, NO₂•):



Glutathion (GSH) se snadno přemění na radikál GS[•] a ten pak společně s NO[•] tvoří nitrosothiol:



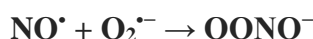
NO reakcí se sulfhydroxylovými skupinami (-SH) glutathionu, cysteinu, albuminu a dalších látek tvoří stálější thionitrity neboli nitrosothioly. Tyto molekuly jsou transportní formou NO[•], protože mohou předat nitrosyl (NO⁺) jiným molekulám a být přenašeči biologicky aktivního NO.[6]



Obrázek 4 Metabolismus oxidu dusnatého (upraveno podle Acworda a kol.)[6]

Peroxynitrit

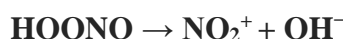
Peroxynitrit vzniká reakcí NO^\bullet se superoxidem, jedná se o nejvýznamnější patologickou reakci této molekuly:



Peroxynitrit je oxidační činidlo. Za fyziologického pH (7,0) se kyselina peroxydusitá (jakožto protonovaný peroxynitrit) rozkládá na oxid dusičitý a hydroxylový radikál:



In vivo je peroxynitrit odpovědný za hydroxylaci a nitraci aminokyseliny tyrosinu. Tranzitní kovy a myeloperoxidázy katalyzují heterolytické štěpení tyrosinu na nitroniový kation a hydroxidový anion. Nitroniový kation je schopný napadnout fenolové sloučeniny a v proteinech *in vivo* změnit tyrosin na 3- nitrotyrosin:



NO_2^+ se rychle slučuje s vodou na kyselinu dusičnou. Při pH 7,0 má příliš krátký biologický poločas, proto nemůže efektivně nitrovat biomolekuly.[6]

1.4 Biomarkery oxidačního stresu u diabetes mellitus

Proteiny

ROS reagují s aminokyselinami *in vitro*, produkují další modifikované, denaturované a nefunkční proteiny, které mohou být zodpovědné za oxidační stres. Diabetickou hyperglykémii, která je zapříčiněná tvorbou volných radikálů, způsobuje protein glykace a oxidační degenerace. Stupeň proteinové glykace se odhaduje použitím některých biomarkerů, jako jsou hladiny glykovaného hemoglobinu a fruktosaminu. Změny ve funkci a struktuře antioxidantních proteinových enzymů mohou být také způsobeny neenzymatickou glykací tak, že detoxikace volných radikálů je ovlivněna zvýšením oxidačního stresu u diabetu. Podle *in vitro* studií myeloperoxidáza katalyzuje přeměnu l-tyrosinu na 3,3-dityrosin, který slouží jako síťování mezi polypeptidovými řetězci stejných nebo různých proteinů, což z něj činí vhodný biomarker pro oxidaci proteinů.[5]

Lipidy

Diabetes mellitus vyvolává poruchy v lipidovém profilu těla, což činí buňky náchylnější k peroxidaci lipidů. Experimentální studie ukazují, že polynenasycené mastné kyseliny v buněčné membráně jsou extrémně náchylné k napadení volnými radikály v důsledku přítomnosti více vazeb. Hyperperoxydy lipidů (LHP) prostřednictvím intermediárních radikálových reakcí produkují takové mastné kyseliny, které generují vysoce reaktivní a toxické

radikály lipidů, které tvoří nový LHP. Kritickým biomarkerem oxidačního stresu je peroxidace lipidů, která je nejzkoumanější oblastí výzkumu, pokud jde o ROS. Malondialdehyd (MDA) vzniká jako důsledek peroxidace lipidů, který může být použit pro měření lipidových peroxidů po reakci s kyselinou thiobarbiturovou.[5]

Vitamíny

Vitamíny jsou velmi důležitou součástí biologického systému, protože hrají důležitou roli v různých biochemických procesech. Mezi tyto vitamíny patří vitamín A, C a E jako antioxidanty detoxikací volných radikálů. Jakákoliv změna jejich hladiny je významným biomarkerem oxidačního stresu. Tyto vitamíny také podporují toxicitu produkcí pro-oxidantů za určitých podmínek.[5] Vitamín E je rozpustný v tucích a zabraňuje peroxidaci lipidů. Vyskytuje se v 8 různých formách, z nichž nevýznamnější je alfa-tokoferol, který reaguje s hydroxylovým radikálem za vzniku stabilní molekuly fenolového radikálu. Fenolový radikál je kyselinou askorbovou (vitamín C) a reduktázami dependentními na NAD(P)H (nikotinamindinukleotid-fosfát) redukován zpět na fenol.[8] Tělesné hladiny vitamínu E byly indikovány buď zvýšeným nebo sníženým diabetem. Negativní zprávy však uvádějí škodlivé účinky vitamínu E na vaskulární změny vyvolané diabetem.[5]

Glutathion

Diabetes vyvolává změny aktivity enzymů glutathion peroxidázy a glutathion reduktázy. Tyto enzymy se nacházejí v buňce, která metabolizuje peroxid na vodu a přeměňuje glutathiondisulfid zpět na GSH. Jakákoli změna v jejich úrovních způsobí, že buňky jsou náchylné k oxidačnímu stresu, a tedy dojde k poškození buněk.[5]

Kataláza

Kataláza (CAT) je regulátor metabolismu peroxidu vodíku, který může v nadměrném množství způsobit vážné poškození lipidů, RNA a DNA. CAT převádí peroxid vodíku katalyticky na vodu a kyslík, a tím ji neutralizuje. V případě nedostatku CAT β – buňka slinivky břišní, která obsahuje velké množství mitochondrií, podléhá oxidačnímu stresu tím, že produkuje přebytek ROS, který vede k dysfunkci β – buněk, a nakonec i k diabetu. Zatímco zkoumání hyperglykemicky indukovaných funkčních změn, produkce peroxidu vodíku, superoxidu, polarizace mitochondriální membrány a otisků genové exprese příbuzných enzymů v endoteliálních buňkách naznačují, že hyperglykémie zvýšila produkci peroxidu vodíku a expresi genu down-regulovaného CAT.[5]

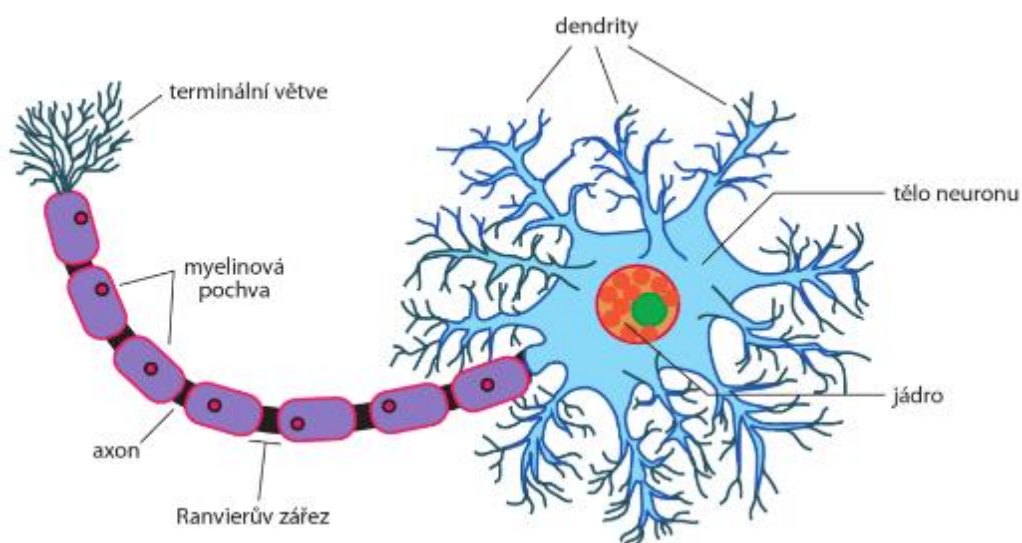
Superoxid dizmutáza

Superoxid dizmutáza (SOD) poskytuje první linii obrany proti ROS zprostředkovanému poškození buněk katalyzováním podílu superoxidu, primárního ROS v metabolismu kyslíku, na molekulární kyslík a peroxid. Můžeme říci, že superoxid je dismutován na jiné sloučeniny, které jsou méně toxické pro SOD.[5]

1.5 Nervová buňka

Nervová buňka neboli neuron je základní funkční a stavební jednotkou nervového systému. Neuron se skládá z buněčného těla (soma) a výběžků v podobě dendritů a axonů (neuritů). Dendritů bývá zpravidla větší počet, jsou kratší, bohatě větvené a jsou schopné přijímat aferentní signály od jiných nervových buněk. Axony neboli neurity jsou odstupující výběžky s různou délkou, bývají obalené myelinovou (nebo dřevnou) pochvou (výjimku tvoří začátek axonu a terminální větve) a vedou vzruch směrem od těla neuronu. Na přenosu vzruchu se také významně podílí myelinová pochva. Místo, kde axon odstupuje se nazývá tzv. axonový hrbol, který má rozhodující význam pro vznik vzruchu v nervové buňce. Čím je myelinová pochva a nervové vlákno silnější, tím rychlejší je vedení vzruchu. Myelinová vrstva na povrchu neuritů netvoří souvislý obal, ale je přerušována Ranvierovými zářezy (viz obrázek 5), které vytvářejí segmentaci periferního i centrálního nervového vlákna. Internodium je délka úseku mezi sousedními Ranvierovými zářezy a pohybuje se v rozmezí 0,3 – 1,2 mm.[9–11]

Lidský nervový systém se skládá z více než 1010 neuronů. Neurony můžeme rozdělit na principální (projekční) neurony, které propojují vzdálené oblasti nervového systému a na lokální (nazývané interneurony), které dosahují svými neurity do blízkého okolí.[10, 11]



Obrázek 5 Schéma neuronu.[11]

Vliv oxidačního stresu na neuron (mozek)

Zbavení mozku kyslíku na pouhých 30 minut u ischemické mozkové příhody způsobí zničující daň: každou minutu přibližně 1,9 milionu neuronů a přibližně 14 milionů synapsí zahyne. Neurony a jejich synapse hynou bez dostatečného kyslíku, mitochondrie jsou schopny redukovat kyslík (O_2) na H_2O a podporovat syntézu ATP. Z toho důvodu, že biochemický základní stav molekuly O_2 je di-radikál, je potenciálně toxický plyn mutagenní. Naštěstí je potenciální oxidační síla O_2 omezena chemickým chvěním, protože dva osamocené elektrony, které se točí v paralelním O_2 , mohou přijímat pouze jeden elektron najednou. Oxidační stres je skutečně úzce spjat s neurodegenerací a může vzniknout, když se redoxní signalizace zhorší.[12]

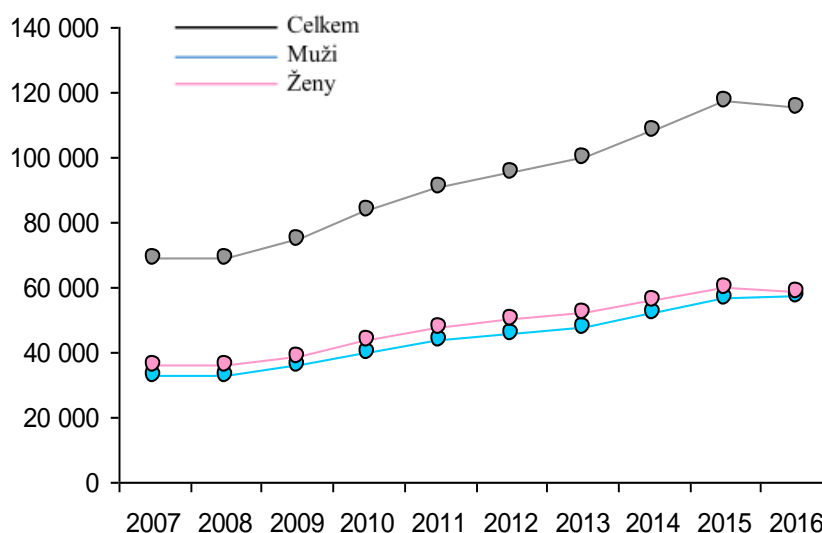
Vliv glukózy na mozek

Lidský mozek spotřebuje přibližně 25 % cirkulující glukózy na podporu neuronální aktivity, což odpovídá asi 5,6 mg glukózy na 100 g mozkové tkáně za minutu.[13] Osud glukózy v mozku je složitý a zahrnuje metabolickou vazbu neuroanglia.[14, 15] Glia metabolizuje glukózu na laktát před tím, než je absorbována, převedena na pyruvát a oxidována neuronální mitochondrií za vzniku ATP (adenosintrifosfátu). V souladu s tím, že neurony účinně metabolizují laktát.[16, 17] Souvisejícím důsledkem jsou neurony, které konstitutivně degradují glykolytický enzym omezující rychlost, fosfofructokinázu, aby přednostně používaly glukózu k pohánění dráhy pentózového fosfátu. Z redoxního pohledu se zdá, že transcelulární metabolická vazba kompenzuje omezenou schopnost neuronů metabolizovat dikarbonyly díky nízké expresi glyoxylasy 1 (GLO1) a glyoxylasy 2 (GLO2).[18, 19] Izoformy GLO metabolizují methylglyoxylát (MG) v závislosti na GSH. Bez ohledu na to je MG reaktivní (50 000 x více než glukóza) a snadno tvoří Shiffovy báze ke glykaci proteinů, RNA a DNA. Zejména proteinová glykace je podkladem pro tvorbu pokročilých koncových glykačních produktů (AGE - advanced glycation end-products), které mohou vyvolat oxidační stres stimulací zánětu prostřednictvím svého receptoru, narušením proteinové a mitochondriální funkce.[20 - 22] AGE mohou vznikat při absenci vysokých glykolytických rychlostí, protože peroxidace lipidů může poskytnout MG. V souhrnu je mozek citlivý na oxidační stres vyvolaný glukózou.[12, 21, 22]

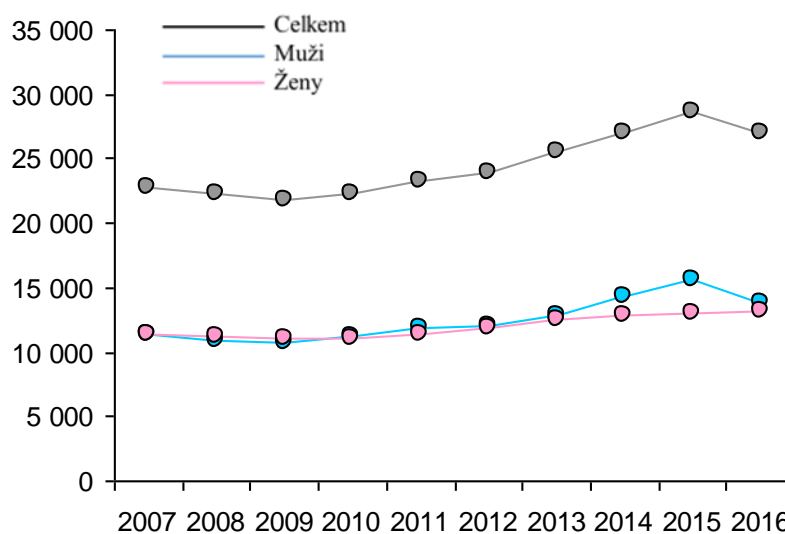
2 DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus (DM), též nazývaný cukrovka, je chronické metabolické onemocnění, jehož typickým rysem je hyperglykémie. Za normální hodnotu hladiny cukru v krvi se považuje rozmezí 3,9 – 5,5 mmol/l. DM vzniká při absolutním nebo relativním nedostatku inzulínu v důsledku poruchy sekrece nebo nedostatečného účinku buněk. Kromě zvýšené hladiny cukru v krvi se mohou objevit i další poruchy např. metabolismu tuků, cukrů a bílkovin.[23, 24]

Existují dvě primární formy diabetu, diabetes mellitus závislý na inzulínu (DM 1. typu) a diabetes mellitus nezávislý na inzulínu (DM 2. typu). DM 2. typu je nejběžnější forma DM, která představuje 90 % až 95 % všech diabetických pacientů a očekává se, že do roku 2030 vzroste na 439 milionů obyvatel světa. [25] Incidenci a úmrtí obyvatel s DM v ČR popisují obrázky 6 a 7. [26]



Obrázek 6 Narůstající počet nových případů pacientů s diabetem mellitem v ČR



Obrázek 7 Počet úmrtí pacientů s diabetem mellitem v ČR za každý určitý rok

Mezi další druhy onemocnění DM patří ostatní specifické typy DM a hraniční poruchy glukózové tolerance.[23]

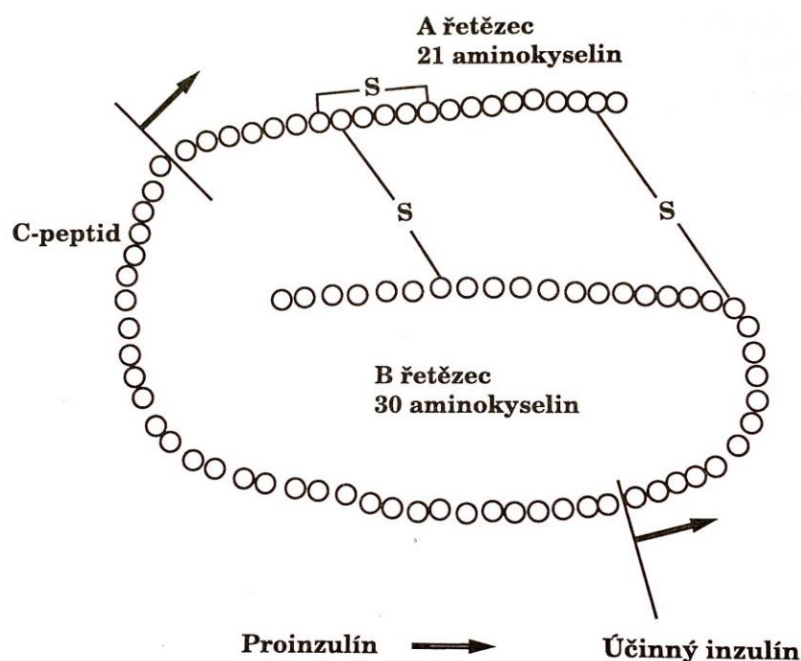
Na rozdíl od hyperglykémie existuje několik dalších faktorů, které hrají velkou roli v patogenezi diabetu, jako je hyperlipidémie a oxidační stres vedoucí k vysokému riziku komplikací.[5]

Klinické příznaky diabetu:

- Polyurie (diuréza větší než 2,5 l/den)
- Polydipsie (nadměrná žízeň), která je způsobená osmotickou diurézou
- Nykturie (časté močení v noci)
- Slabost a vleklá únava
- Hubnutí při normálním stravování
- Bolesti nebo křeče ve svalech
- Poruchy vidění (zrakové ostrosti)
- Svědění kůže, kožní hnisavé infekce
- Plísňová onemocnění
- Parodontóza provázena kazivostí a vypadáváním zubů [27]

2.1 Inzulín

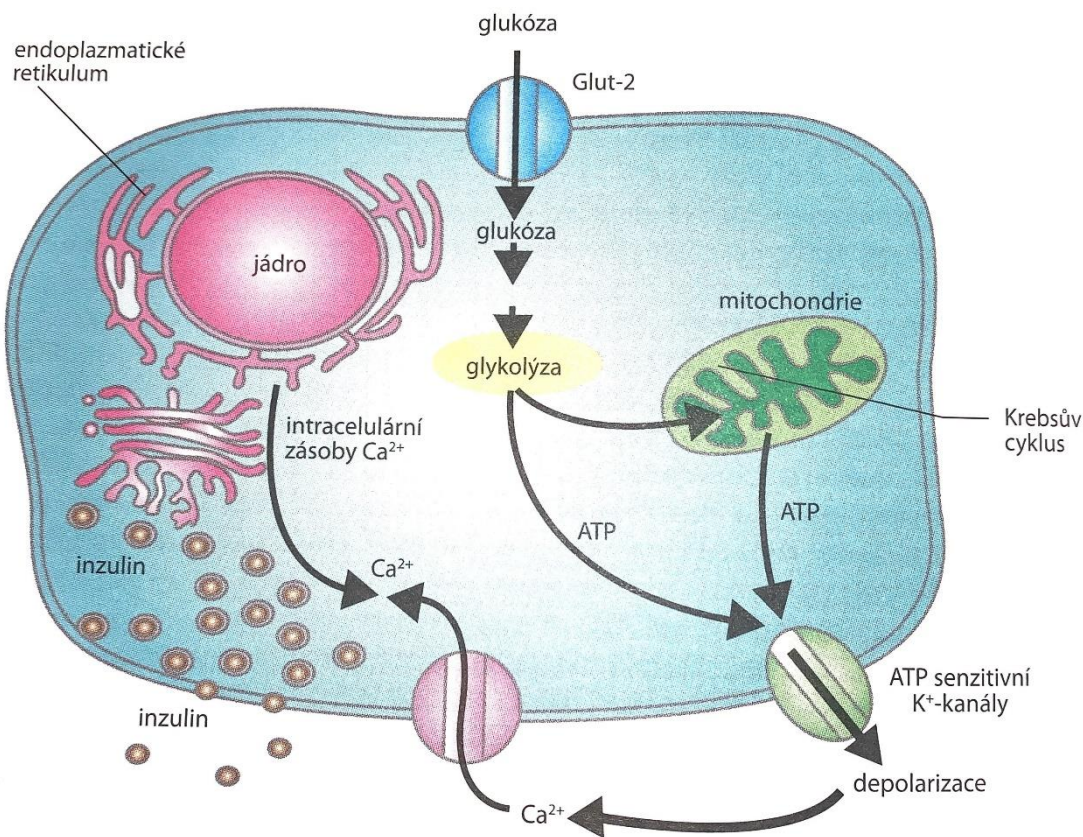
Inzulín je bílkovinný hormon, který je syntetizován β -buňkami Langerhansových ostrůvků slinivky břišní. Počet ostrůvků v pankreatu je kolem miliónu. Skládá se z 51 aminokyselin, které jsou uspořádány do dvou řetězců A a B a spojeny C řetězcem. Odštěpením tzv. C peptidu vzniká z proinzulínu funkční inzulín viz obrázek 8. Vyprodukované množství funkčního hormonu je pak shodné s množstvím hladiny C peptidu.[28, 29]



Obrázek 8 Molekula inzulinu.[28]

Hlavním podnětem pro sekreci inzulinu je glukóza, která vstupuje do nitra buňky facilitovanou difúzí pomocí glukózového transportéru GLUT-2. Glukóza se v buňkách metabolizuje, v plazmatické membráně uvolněná energie ve formě ATP uzavírá ATP-K⁺ senzitivní iontové kanály a dochází k depolarizaci (viz obrázek 9). Otevření vápníkových kanálků napěťově řízených umožní vstup vápníku z extracelulární tekutiny ve směru koncentračního spádu a vytvořený inzulin je exocytózou uvolněn do krve spolu se spojovacím peptidem. V cílových buňkách a tkáních se inzulin váže na membránové receptory (znázorněno na obrázku 10), které tvoří dvě α -podjednotky (vnější strana membrány) a dvě β -podjednotky (s vlastní tyrosinkinázovou aktivitou). Autofosforylace pak spouští kaskádu biologických účinků, které můžeme rozdělit podle rychlosti nástupu na:

- Rychlé – glukóza a aminokyseliny vstupují do buněk během několika sekund
- Střednědobé – projev v rámci několika minut, aktivují se glykolytické enzymy, stoupá proteosyntéza
- Dlouhodobé – účinky se projevují až po několika hodinách, zvyšuje se tvorba enzymů důležitých pro tvorbu lipidů.[11]



Obrázek 9 Řízení tvorby a sekrece inzulínu.[11]

Inzulín se do krve uvolňuje také podle množství přijaté potravy a jejích vstřebávaných složek (zejména glukózy). Denní potřeba inzulínu zdravého člověka je asi 30 – 40 j, první polovinu představuje základní syntéza inzulínu nezávisle na jídle a druhou polovinu pak tvorba závislá na přijaté potravě.[28]

Účinky inzulínu v organismu

Tuková tkáň

- Zvýšený vstup glukózy
- Zvýšená syntéza mastných kyselin a triacylglycerolů (TAG)
- Inhibice hormon-senzitivní lipázy

Svalová tkáň

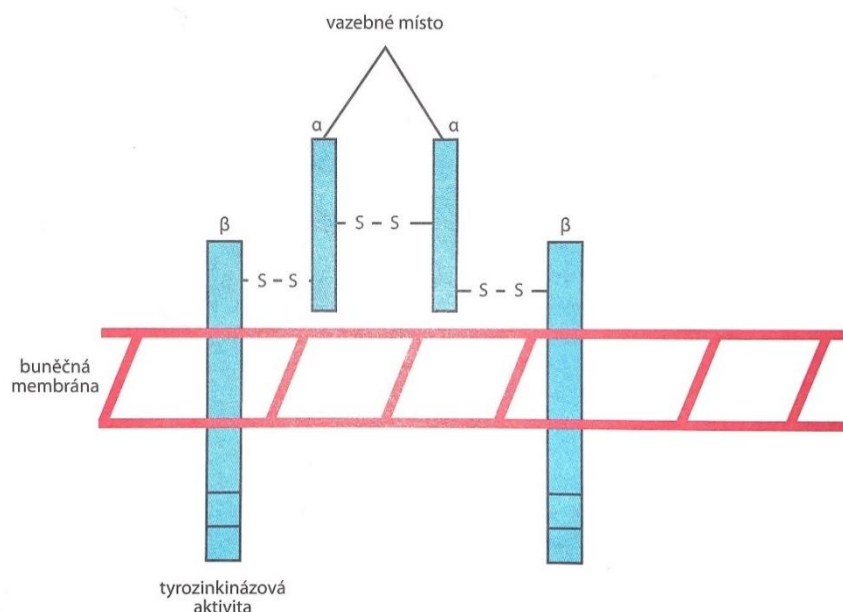
- Zvýšený vstup glukózy
- Zvýšená produkce glykogenu
- Zvýšené vychytávání aminokyselin
- Zvýšená proteosyntéza
- Inhibice proteolýzy

Jaterní tkáň

- Zvýšení proteosyntézy
- Lipogeneze
- Glykogeneze [11]

Vstup glukózy je dán přítomností dvou druhů specifických bílkovin, umístěných v plazmatické membráně, které umožňují:

- Facilitovanou difúzi po směru koncentračního spádu pomocí glukózových transportérů (tuková tkáň, svaly, některé orgány např. mozek a Langerhansovy ostrůvky)
- Sekundární aktivní transport glukózy se sodíkem (ledviny, střevo) [11]



Obrázek 10 Schéma stavby inzulínového receptoru.[11]

2.2 Diabetes mellitus 1. typu

Jedná se o nejzávažnější a nejčastější chronické onemocnění u dětí a dospívajících. U dospělých k diagnostikování dochází vzácně. Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je imunodeficientní typ diabetu a jeho výskyt stále stoupá. Díky autoimunitním procesům dochází k destrukci β – buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu (β – buněk slinivky břišní), jejichž funkcí je vytvářet a uvolňovat peptidický hormon inzulín.[30, 31] Charakteristickým rysem DM1 je tedy absolutní nedostatek inzulínu. Onemocnění v počátku probíhá skrytě několik týdnů, někdy i let až do autoimunitní destrukce (zničení) 80 % β – buněk, kdy se již objeví první klinické příznaky.[28]

Glukóza kolující krví není schopna pronikat do buněk v dostatečném množství bez inzulínu, kde je využívána k získávání energie. Hladina glykémie stoupá (nad 5,6 mmol/l na lačno, nad 6,7 mmol/l za 1 hodinu po jídle), dojde – li k překročení tzv. ledvinného prahu pro glukózu (u každého člověka individuální, průměrně kolem 10 mmol/l), následně začnou

ledviny vylučovat glukózu do moče a vzniká glykosurie. Mezi další klinické příznaky patří nadměrné močení. Při nedostatku inzulínu a při neschopnosti využít glukózu jako zdroj energie při glukoneogenezi v játrech je organismus nucen získat energii z necukerných zdrojů, z bílkovin a tuků. Lipolýzou (rozpadem tuků) vznikají MK, které se v játrech přeměňují na kyselinu betahydroxymáselnou, kyselinu acetocetovou a aceton. Část těchto ketolátů je v organismu využita jako zdroj energie a jejich nadbytek je vyloučen močí – vznik ketonurie.[28]

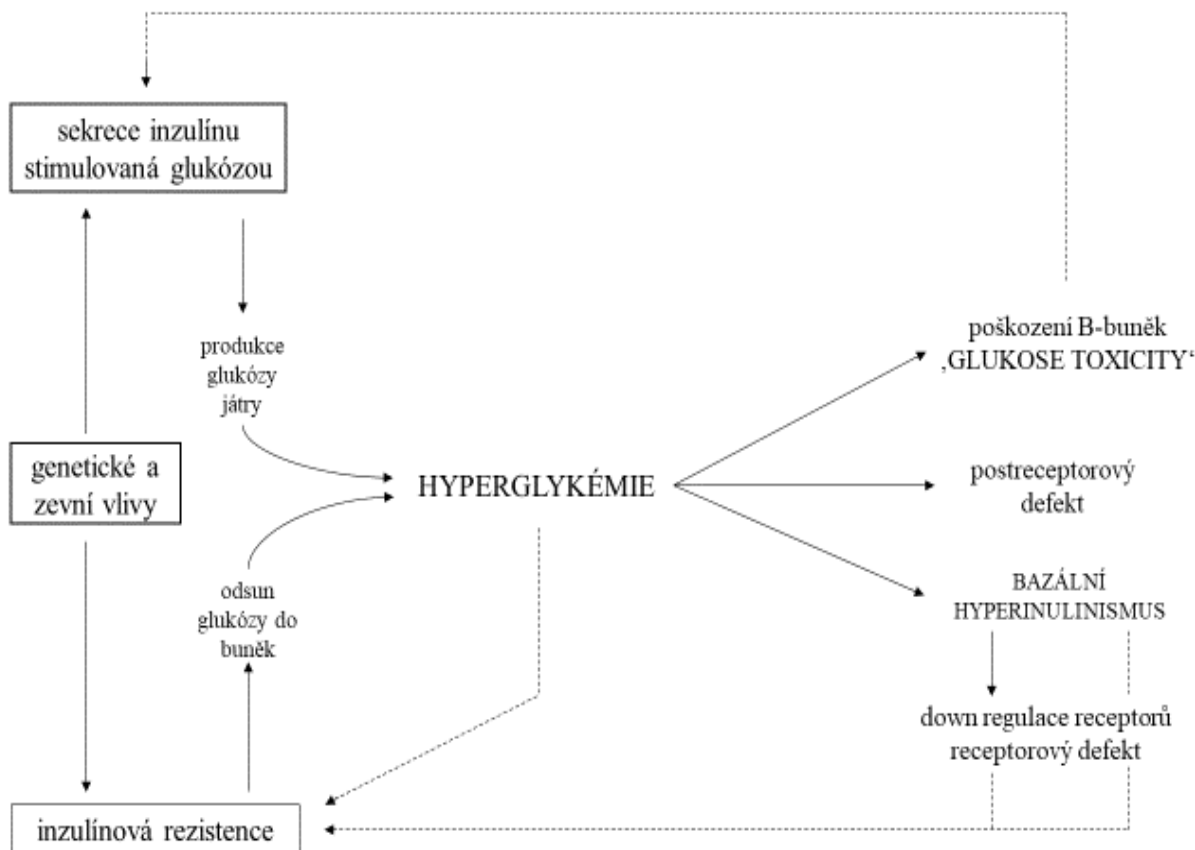
Na začátku DM1 dochází k postupnému snižování produkce inzulínu a k vzrůstu hladiny krevního cukru. Cukr není využit jako zdroj energie bez inzulínu a u nemocného se projevuje únava. Pokud dojde ke zvýšení glykémie nad hodnotu ledvinného prahu, je glukóza vyloučena do moče. K tomu je zapotřebí zvýšený příjem tekutin, který vede k nadměrnému močení – polyurie. Zvýšenou ztrátou tekutin vede k pocitu žízně a nadměrnému pití – polydipsii. Organismus začíná využívat náhradní zdroje energie, tuky a bílkoviny tělu vlastní, což se projevuje ztrátou hmotnosti, únavou, spavostí až apatií. Snaha udržet acidobazickou rovnováhu vyvolává prohloubené dýchání s typickým zápachem při výdechu (kyselý dech).[28]

Léčbou DM1 je náhrada (podávání) nedostačujícího množství inzulínu, ale také dodržování jídelníčku a dostatečného pohybu.[30, 31] Cílem léčby je oddálení nebo snížení rizika vzniku chronických komplikací a metabolická kompenzace akutních komplikací.[28]

2.3 Diabetes mellitus 2. typu

Diabetes mellitus 2. typu (DM2) je nejčastější forma diabetu, která vzniká většinou po 40. roce života. Vznik tohoto typu podporuje přítomnost obezity, nedostatek pohybové aktivity, stresové situace a také dědičnost. Diabetici 2. typu zahrnují 85 % všech pacientů z celkového počtu diabetiků na světě, bývají to nejčastěji lidé středního a vyššího věku. Až 90 % diabetiků 2. typu trpí poruchami metabolismu a orgánů, které souvisí s nadváhou či obezitou.[28, 32, 33]

DM2 (dříve označovaný jako NIDDM – diabetes mellitus nezávislý na inzulínu nebo jako diabetes dospělého věku) je komplexní metabolické onemocnění, kdy dochází k nepoměru mezi tvorbou a sekrecí inzulínu a tím k nedostatečné odpovědi periferních tkání – rozvoj inzulínové rezistence (IR) (viz obrázek 11). Pacienti s DM2 mohou mít hladinu inzulínu v krvi normální, ale i sníženou či vysokou. DM2 v populaci stále narůstá.[27]



Obrázek 11 Mechanismus vzniku diabetu 2. typu, bludný kruh zhoršující sekreci a účinek inzulínu (podle V. Bartoše).[27]

Zvýšená hladina glukózy v krvi nebo hyperinzulinémie (zvýšená hladina inzulínu v krvi) vede ke vzniku glykovaných produktů (např. glykovaného hemoglobinu), které mohou urychlit rozpad β – buněk pankreatu, a ke vzniku glukózové tolerance nebo k rozvoji DM2.[28, 32, 33]

Rizikové faktory vzniku DM2:

- DM u příbuzných (rodiče, děti, sourozenci)
- Nadváha a obezita
- Hypertenze (krevní tlak nad 140/90)
- Věk nad 45 let
- Hyperlipidémie

- Přítomnost glukózové tolerance u předchozího vyšetření
- U žen porod plodu nad 4 500 g či přítomnost gestačního diabetu [28]

Léčba DM2 nespočívá v podávání inzulínu, ale na počátku onemocnění, kdy převládá IR, je léčení řešeno dietou, pohybem a v nutném případě perorálními antidiabetiky (PAD). Pokud ale dojde k vyčerpání inzulínových rezerv (převládá inzulínová insuficience), je nutné u DM2 zahájit léčbu i podáváním inzulínu.[28, 34]

PAD můžeme rozdělit podle jejich účinku na látky:

- Snižující jaterní glukoneogenezi
- Redukující zpracování glukózy ve střevě
- Zvyšující inzulínovou senzitivitu v periferních tkáních
- Zvyšující sekreci inzulínu ve slinivce břišní

Léky snižující IR se nazývají inzulínové senzitivizéry a léky, které zvyšují uvolňování inzulínového hormonu z beta-buněk pankreatu, označujeme jako inzulínová sekretagoga. Gliptiny (inhibitory dipeptidylpeptidáz 4) jsou řazeny mezi inzulínová sekretagoga, protože zvyšují uvolňování inzulínu ze sekrečních granul, ale mají odlišný mechanismus účinku, proto jsou uvedeny zvlášť. Dostupná PAD jsou uvedena v tabulce č. 3.[34]

Tabulka 3 Přehled v současnosti dostupných perorálních antidiabetik.[34]

Inzulínové senzitivizéry
<ul style="list-style-type: none"> • Metformin • Deriváty thiazolidindionů: rosiglitazon, pioglitazon
Inzulínová sekretagoga
<ul style="list-style-type: none"> • Deriváty sulfonylurey: glibenklamid, gliklazid, glimepirid, gliquidon, glipizid • Nesulfonylureová (krátce působící): nateglinid, repaglinid
Inkretinové zvyšovače (gliptiny)
<ul style="list-style-type: none"> • Sitagliptin, vildagliptin

2.4 Gestační diabetes mellitus

Gestační diabetes mellitus (GDM) je definován jako jakýkoli stupeň nesnášenlivosti glukózy s nástupem nebo prvním rozpoznáním během těhotenství. GDM bývá zachycen po 20. týdnu gravidity, kdy se vyvíjí progresivní IR. Charakterově se tento typ diabetu blíží DM 2. typu. Zvýšený estrogen, progesteron a kortizol během těhotenství přispívají k narušení rovnováhy glukózy. Pro kompenzaci periferní IR během těhotenství vzrůstá sekrece inzulínu

z pankreatu ženy. K rozvoji GDM dochází, když ženská slinivka nevylučuje dostatek inzulínu, aby udržovala krok s IR. GMD se vyskytuje 3 – 6 % těhotných žen a po porodu vymizí.[28, 35]

Rizikové faktory pro vznik GMD:

- Těhotenství po 30. roku věku ženy
- Předchozí porod dítěte, které mělo hmotnost nad 4 000 g
- Obezita
- Výskyt DM v rodinné anamnéze
- GMD u předchozí gravidity, glykosurie
- Zvýšený krevní tlak, preeklampsie v předchozím těhotenství [28]

Léčba spočívá v dodržování dietního režimu a dostatečné pohybové aktivitě, která bude odpovídat stupni gravidity. U pacientek s GMD se doporučuje selfmonitoring moče a krve. Pokud dodržování těchto režimů nezajistí dostačující kompenzaci GMD, je nutné začít s inzulínovou léčbou.[28]

3 OXIDAČNÍ STRES A DIABETICKÉ KOMPLIKACE

Předpokládá se, že v nástupu a progresi pozdní diabetické komplikace mají volné radikály (ROS, RNS) hlavní roli v důsledku jejich schopnosti poškodit tyto biologické struktury – lipidy, proteiny a nukleové kyseliny (zejména DNA), což může vést až ke smrti organismu. Mitochondriální oxidativní fosforylace přispívá ke tvorbě ROS, jedná se tedy o cestu, při které je energie z chemických vazeb živin vložena do adenosintrifostátu a představuje hlavní syntézu ATP. U tohoto pochodu se většina molekulárního kyslíku zredukuje na vodu. Asi 1 – 4 % kyslíku se však přemění na superoxid a další molekula superoxidu vzniká v mitochondriálním elektronovém řetězci.[5]

Molekula superoxidu je hlavní a nejběžnější ROS produkovanou v mitochondriích. Z ní se vytváří další molekuly ROS a RNS pomocí neenzymatických či enzymatických pochodů. Pomocí enzymu SOD dochází k přeměně superoxidu na peroxid vodíku, který je za normálních okolností redukován na vodu v přítomnosti glutathionu, enzymu glutathion peroxidázy a katalázy. Tímto se mitochondrie zbavují ROS. Pokud ale tento neutralizační pochod dostatečně nefunguje, může docházet v přítomnosti tzv. tranzitních kovů, jako je měď nebo železo, k přeměně peroxidu vodíku na hydroxylový radikál, který je vysoce reaktivní. Což může vést k poškození organel tím, že napadají proteiny, lipidy a DNA.[5]

Za normálních okolností již zmíněný glutathion pomocí glutathion peroxidázy a katalázy je schopný odstranit vedlejší metabolické produkty peroxidu vodíku. Ovšem u hyperglykémie se výrazně zvyšuje mitochondriální aktivita a následná tvorba superoxidu. Tato aktivita vede k nadměrné produkci ROS a RNS v neuronu, které glutathion nestíhá odstranit, což vede k poškození organel. Mitochondrie jsou poškozeny jako první. Axony jsou velmi citlivé k hyperglykémii vlivem vysokého počtu mitochondrií, které jim dodávají energii. Postupně dochází k axonální degeneraci.[5]

Řada patologických stavů je tedy indukována oxidačním stresem, jako je například revmatoidní artritida, DM a rakovina.[5]

Obecně lze komplikace diabetes mellitus rozdělit na specifické, které jsou přítomny pouze u diabetiků, kde základním rysem je hyperglykémie, a nespecifické, které nacházíme i u nediabetiků a u diabetiků mohou být přítomny v nižším věku a rychleji progredovat a způsobit těžší následky.[28]

3.1 Specifické komplikace diabetu

Základním rysem specifických komplikací u diabetiků je dlouhodobá hyperglykémie a z ní plynoucí změny v pojivových tkáních v organismu. Do této skupiny řadíme mikroangiopatie (diabetická retinopatie a nefropatie) a neuropatie.

Ve změně struktury i funkce pojiva se uplatní proces neenzymatické glykace, polyolová cesta a toxický účinek volných radikálů. Tyto tři patologické metabolické cesty, které vedou ke vzniku chronických diabetických komplikací, můžeme eliminovat dlouhodobou normoglykemií. Chronická hyperglykémie vede ke zvýšenému průtoku krve ledvinami, poté ke zvýšení filtračního tlaku v glomerulech, ztlustění bazální membrány a změny její propustnosti.[28]

Neenzymatická glykace

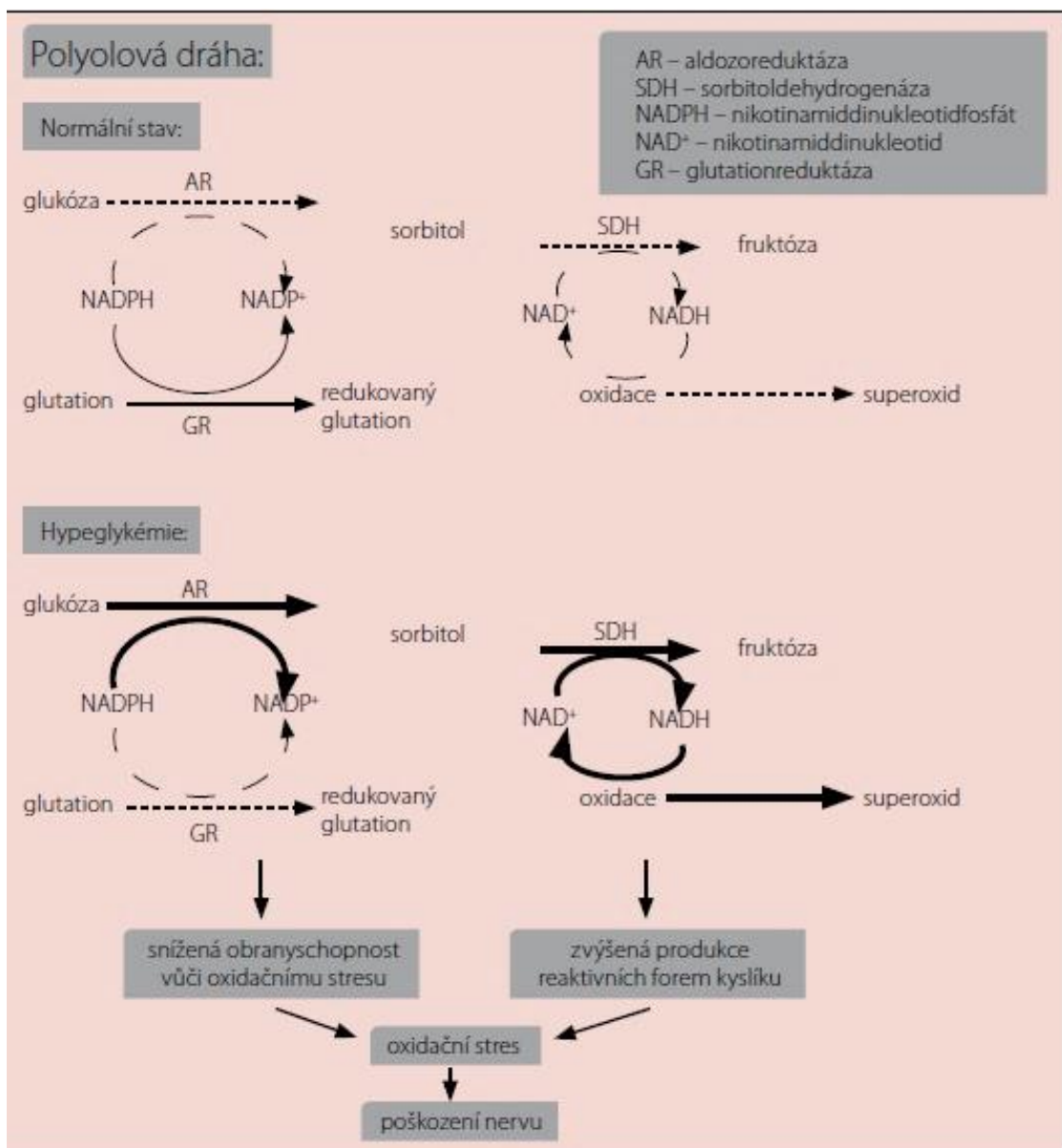
Bez přítomnosti enzymů se glukóza jednoduchou reakcí váže na aminokyseliny bílkovin a dochází ke vzniku časných produktů glykace (Schiffovy báze, Amadoriho produkty). Tento děj probíhá v organismu nepřetržitě. Hladina glykovaného hemoglobinu odpovídá normální hladině glykémie, kterou naměříme i u zdravých jedinců. Tato cesta neenzymatické glykace je pro diabetika nevýhodná, protože její intenzita je přímo úměrná hladině glukózy v krvi, délce jejího trvání a druhu bílkoviny, na kterou se glukóza naváže. Nebezpečné jsou hlavně časně proteiny s dlouhým biologickým poločasem na pozdní (pokročilé) produkty této cesty glykace (AGE) – Maillardova reakce. Důležitá je reakce AGE s tzv. RAGE, což jsou jejich receptory na makrofázích, poté dojde k aktivaci nukleárního faktoru kappa B, což vede ke tvorbě endotelinu 1, následuje vazokonstrikce, aktivace tkáňového faktoru a trombomodulinu. Tyto mikrovaskulární komplikace napadají i vasa nervorum, kde akumulace AGE vede k anatomickým změnám, např. ztlustění cévní stěny. Výsledkem je stimulace růstových faktorů, porucha hemoreologického systému a aktivace buněk endotelu.[28, 36]

Polyolová cesta

Krevní cévy, ledviny, sítnice a nervy jsou vulnerabilní (zvýšeně citlivé) k hyperglykémii, protože glukóza dovnitř nervových buněk a dalších vulnerabilních tkání vstupuje facilitovanou difúzí pomocí transportérů, které nejsou závislé na inzulínu. Proto dochází ke zvýšené koncentraci glukózy uvnitř těchto buněk při chronické extracelulární hyperglykémii. Pozmění se saturace normální glykolytické cesty, což má za následek zvýšenou aktivitu polyolové cesty.[28, 36]

Glukóza uvnitř buňky je zpracována na cukerný alkohol – sorbitol, pomocí enzymu aldózoreduktázy (AR) za přítomnosti kofaktoru NADPH (nikotinamidinnukletidfosfát), který

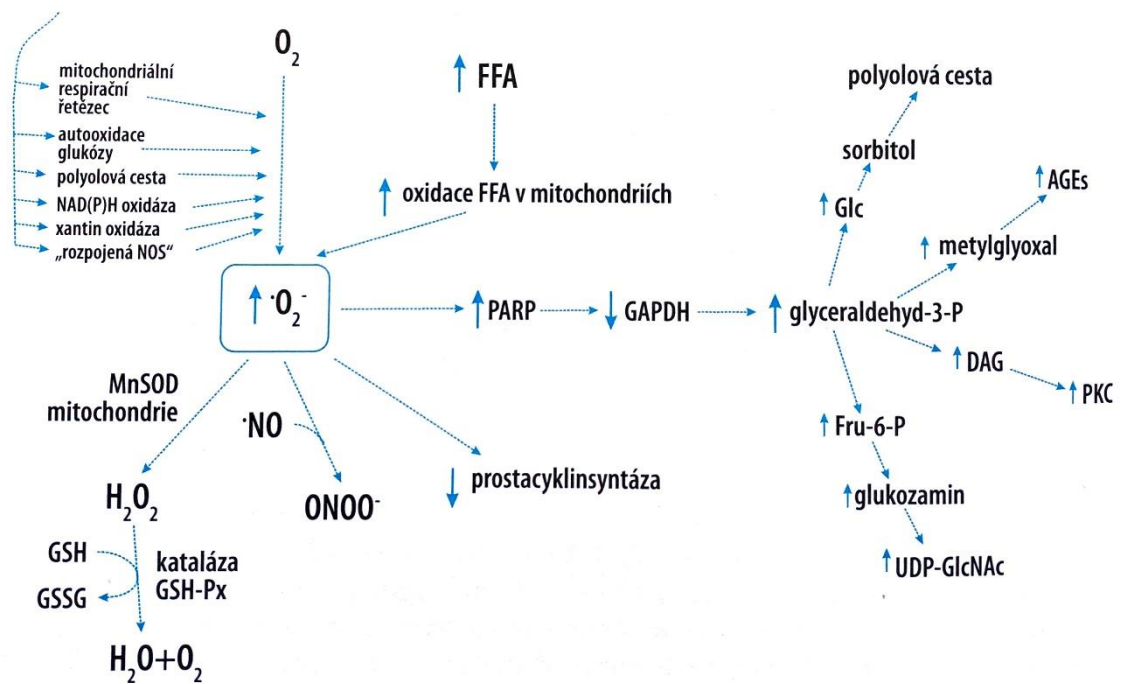
se mění na NADP^+ . Dále je sorbitol sorbitoldehydrogenázou (SDH) přeměněn na fruktózu, kdy kofaktorem reakce je NAD^+ (nikotinamiddinukleotid), který se současně mění na NADH . NAD^+ a NADPH jsou kofaktory, které mají vazbu k oxidačnímu stavu, reakce jsou znázorněny na obrázku 10. Je-li NADPH spotřebováván touto cestou, glutathionu je nedostatek a snižuje se obranyschopnost organismu vůči oxidačnímu stresu, což vede k dysfunkci nervu a k jeho poškození. Sorbitol je také osmoticky aktivní látka a do nitra buňky (nervu) nasává vodu. Buňka pak pod vysokým tlakem praská a zaniká. Buňky centrální nervové soustavy a čočky v oku mají vysokou aktivitu tohoto enzymu a polyolová dráha je hlavní příčinou vedoucí k rozvoji diabetické polyneuropatie, k úbytku pericytů v kapilárách a k poruchám akomodace.[28, 36]



Obrázek 12 Polyolová dráha za normálního hyperglykemického stavu.[36]

Inhibitory aldozoreduktázy u diabetiků způsobily redukcii tvorby sorbitolu, lepší vedení vzruchu nervem a také zlepšení průtoku krve nervem. Bohužel byly prokázány nepříjemné vedlejší účinky nebo neúčinnost u nižších dávek.[28, 36]

U zvýšené hladiny glukózy v krvi dochází také k modifikaci aktivity proteinkinázy C, která patří mezi strukturálně homogenní enzymy ovlivňující signální transdukcii. Aktivovaná proteinkináza C vyvolává řadu reakcí uvnitř buňky, které vedou k regulaci vnitřních procesů. Tato aktivovaná molekula je za normálního stavu přechodná a závisí na endogenně produkovaném diacylglycerolu a kalcium. Proteinkináza C výrazně ovlivňuje propustnost cév, průtok krve i angiogenezi (novotvorbu krevních kapilár). Působí na cytokiny např. transformační růstový faktor beta nebo cévní endotelový růstový faktor.[28, 36] Schéma působení OS za patologických stavů u diabetu znázorňuje obrázek č. 13.[8]



Obrázek 13 Oxidační stres v patofyziologii vaskulárních komplikací diabetu.[8]

Toxický účinek volných radikálů

Molekula glukózy se může samovolně měnit (autooxidovat), neboť hydroxylové skupiny přenášejí elektrony a pomocí náboje zničí okolní struktury. Pokud se tato molekula glukózy naváže v glykovaném glukózovém komplexu, dojde k narušení funkce bílkovinné tkáně, např. změna propustnosti a pevnosti cévní stěny. Tento proces se uplatňuje zejména v začátečních fázích aterosklerózy.[28]

3.1.1 Diabetická retinopatie

Diabetická retinopatie (DR) je nejčastější mikrovaskulární komplikací u diabetických pacientů a jednou z hlavních příčin získané slepoty na světě.[37] Jedná se o nejobávanější chronickou komplikaci diabetu, kterou je poškození zraku.[28] Incidence tohoto onemocnění stoupá na 50 % po 10 letech od diagnózy diabetu a dosahuje až 90 % po 25 letech, je však ovlivněna typem diabetu, věkem a stupněm kompenzace.[28, 37] V normálních biologických podmínkách jsou ROS udržovány v rovnováze, nicméně jejich nadprodukce může vést k rozvoji oxidačního stresu, který je pak považován za hlavní mechanismus rozvoje DR. Sítnice je citlivá na ROS z důvodu vysoké energetické náročnosti a vystavení světlu. Když dojde k nerovnováze, reaktivní formy kyslíku vyvolávají poškození sítnicových buněk interakcí s buněčnými složkami.[37]

Dlouhodobá zvýšená hladina glukózy v krvi vede k poruše mikrocirkulace, ke zvýšené permeabilitě stěn kapilár, vzrůstu viskozity krve a neschopnosti agregace krevních destiček. V kapiláře vzroste průtok krve a současně poklesne oxygenace a poškození endotelu cévy. Důsledkem je sítnicová abnormalita – uzávěr cév, dilatace cév s prosakováním a proliferace (novotvorba) cév. Cévy sítnice na rozdíl od ostatních cév organismu mají stejný poměr endoteliálních buněk i pericytů ve vnitřní vrstvě cévy. Ztráta pericytů při selhání kompenzačních mechanismů u diabetu vede k poruše funkce kapilár sítnice, protože pericyty mají jako hlavní úkol udržování průsvitu kapilár. U dlouhodobého rozšíření kapilár může dojít ke vzniku balónkovitých vyklenutí cévní stěny – mikroaneurysmat. Stěna mikroaneurysmat je křehká a tenká, snadno praská při zvýšeném krevním tlaku uvnitř cévy a krvácí do okolí (hemoragie). Se zánikem pericytů dochází současně ke ztlušťování bazální membrány a při poklesu průtoku krve i k hypoxii tkání.[28]

Zvýšená viskozita krve, funkční změna vnitřní výstelky cévy a snížená ohebnost červených krvinek vede ke vzniku mikrotrombů nebo až k úplnému uzávěru cév. Poškozené tkáni se snaží pomoc okolní cévy tvorbou nových cév – proliferativní stádium DR (viz tabulka 4). Nové cévy nemají plnohodnotnou cévní stěnu, která snadno praská (vznik hemoragií) a postižené místo se hojí jizvou.[28]

Tabulka 4 Stádia diabetické retinopatie.[28]

Neproliferativní	Počínající	Mikraneurismata, hemoragie, tvrdé exsudáty
	Pokročilá	Ucpávání cév, hypoxie, vatovité exsudáty
Proliferativní		Nově tvořené cévy, vazivové pruhy, amoce retiny, ztráta zraku
Makulopatie		Edém žluté skvrny, pokles ostrosti zraku

Diabetická makulopatie je výsledkem multifaktoriálních a komplexních změn kapilár sítnice ve spojení s DM. U pacientů s DM2 se obvykle začíná rozvíjet retinopatie 7 let po diagnóze onemocnění. V současné době se zkoumají nové způsoby léčby DR, aby se snížila incidence a progrese onemocnění.[37] Současnou terapií je dlouhodobá kompenzace DM a laserová fotokoagulace.[28]

3.1.2 Diabetická nefropatie

Diabetická nefropatie (DNF) je další nejčastější a závažnější komplikací diabetických pacientů, kdy dochází k postupnému selhání ledvin při dlouhodobé hyperglykémii. Na jejím vývoji se podílejí volné mastné kyseliny, pokročilé glykované konečné produkty (AGE), autofagie a receptorová cesta angiotensinu II. Typickým nálezem u DNF je perzistentní albuminurie s postupným zhoršováním glomerulární filtrace. Buněčný stres je součástí vývoje různých onemocnění ledvin. Studie ukázaly, že zvýšený OS a stres endoplazmatického retikula (ER) jsou příčinami komplikací souvisejících s diabetem. V roce 2000 byla DNF příčinou terminálního selhání ledvin u 33 % dialyzovaných pacientů v ČR.[38, 39]

Mikroangiopatické změny postihují ledvinná klubička – glomeruly, ve kterých probíhá čištění krve. Mikrocirkulační změny a účinky biologicky aktivních látek podporují bujení (proliferaci) mesangiových buněk glomerulu. Bazální membrána ztrácí svoji funkci v důsledku jejího ztlušťování, což vede ke změnám glomerulů a společně s kapilárním tlakem, který je zvýšený, k výskytu plazmatických bílkovin v moči. Cévní stěnou ledvinných klubiček začnou procházet molekuly větší (i krvinky), které se do moče za normálních okolností nepronikají. Malé molekuly (močovina, voda, glukóza, kuchyňská sůl) přes filtr cévní stěny pronikají snadno, velké molekuly (např. bílkoviny) pronikají u zdravých ledvin jen zřídka nebo vůbec. Změna funkce propustnosti glomerulů se projeví proteinurií. Proteinurii nad 3 g / 1 den s otoky, hyperlipidémií a vysokým krevním tlakem označujeme jako nefrotický syndrom. Expanze buněk mesangia vede k postupnému zániku ledvinných klubiček, dochází tak k poklesu očišťování krve ledvinami od zplodin metabolických procesů (zejména dusíkatých látek). Řadu látek organismus neumí vyloučit jinak než ledvinami. Ledviny se také podílejí na regulaci metabolismu iontů a vody, stimulaci krvetvorby, tvorbě hormonů, stavby kostí, na regulaci tlaku krve a odbourání části inzulínu.[28]

Jedovaté látky se kumulují v organismu a v konečném stádiu DNF (viz tabulka 5) ustává i tvorba moči. Ledvinné funkce musí být nahrazeny dialýzou nebo transplantací ledviny.[28]

Tabulka 5 Stádia diabetické nefropatie.[28]

1. stádium	Hypertroficko – hyperfunkční
2. stádium	Mikroskopické změny
3. stádium	Incipientní (počínající) nefropatie
4. stádium	Manifestní proteinurie
5. stádium	Ledvinné nedostatečnosti a selhání ledvin

Léčba závisí na stádiu DNF, základem je dlouhodobá kompenzace DM, léčba hypertenze (zejména dietní opatření s omezením soli). Infekce močových cest obvykle vždy vyžaduje antibiotickou léčbu a zvýšený příjem tekutin. U proteinurie sledujeme bílkovinný poměr příjmu a výdaje a u všech pacientů s poruchou funkce ledvin jsou monitorovány také hladiny iontů (zejména draslíku – hyperkalémie) a jejich úprava příjmu.[28]

3.1.3 Diabetická neuropatie

Diabetická neuropatie (DN, polyneuropatie) je heterogenní onemocnění, které je charakteristické difúzním nezánětlivým poškozením struktury a funkcí periferních nervů. Hlavním důvodem vzniku DN je zvýšená hladina glukózy v krvi.[28, 40, 41] Cukrovka je celosvětově nejběžnější příčinou neuropatie, která produkuje široké spektrum stavů zahrnujících různé typy nervů a patologické mechanismy (např. metabolické, ischemické, imunologické a kompresivní).[40] DN je přítomna u 5 – 10 % diabetiků již u stanovení diagnózy a asi po 10 letech se vyskytuje u 40 – 50 % nemocných s diabetem.[27] Různé formy diabetické neuropatie mohou být klasifikovány z hlediska jejich:

- Anatomické distribuce – dle lokalizace (somatické – periferní nebo vegetativní – autonomní), počtu a typu postižených vláken (např. Proximální nebo distální, symetrické nebo asymetrické, fokální nebo multifokální nebo difúzní) viz tabulka 6
- Dle možné reverzibility (viz tabulka 7)
- Klinického průběhu (např. Akutní, subakutní nebo chronické)
- Charakteristických rysů (bolestivé, smyslové, motorické nebo autonomní)
- Patofyziologie.[40]

Tabulka 6 Klasifikace a formy diabetické neuropatie.[42]

Symetrické	Fokální / Multifokální
Distální převážně senzitivní (senzitivně-motorická) <ul style="list-style-type: none"> • Převážně tenká vlákna • Převážně silná vlákna • Smíšená 	Kraniální
Autonomní	Trupová (thorakoabdominální, thorakolumbální)
Proximální a distální motorická	Končetinová <ul style="list-style-type: none"> • Proximální diabetická amyotrofie • Izolované neuropatie, radikulopatie, úžinové syndromy
Akutní bolestivé stavy <ul style="list-style-type: none"> • Neuropatie indukovaná léčbou • Hyperglykemický typ • Diabetická neuropatická kachexie 	Multifokální mononeuropatie
Smíšené	

Tabulka 7 Klasifikace diabetické neuropatie podle možné reverzibility.[43]

Rychle reverzibilní	Hyperglykemická neuropatie
	Inzulínová neuropatie (vyvolaná léčbou)
Reverzibilní	Mononeuropatie
	Proximální motorická neuropatie
	Kraniální neuropatie
	Thorakoabdominální neuropatie
Kompresivní neuropatie	-
Progresivní	Symetrická distální senzitivně-motorická polyneuropatie (převážně silná vlákna)
	Polyneuropatie tenkých vláken
	Autonomní neuropatie
Smíšené formy	-

DN se závažně podílí na výskytu diabetické nohy, kde je důležitý včasný záchyt, a na bolesti u diabetiků hraje roli autonomní neuropatie. Toto onemocnění se projevuje silnými bolestmi, parézami nervů, svalovou slabostí a může u diabetika vést až k invaliditě.

U polyneuropatií jsou dvě základní poruchy periferních nervů, které se u DN kombinují. Jsou to:

- postižení myelinové pochvy – demyelinizace
- axonální degenerace, která vzniká při poškození axonu [27]

U postižení tenkých vláken dochází k poruše vnímání bolesti a tepla. U poruch silných sensorikomotorických vláken vzniká porucha taktilního čítí, svalová slabost a propiocepce.[27, 44, 45] Nejtypičtější formou diabetické neuropatie je chronická distální (na délce závislá) symetrická polyneuropatie (DSP), která představuje asi 75 % z celkového výskytu onemocnění. [40]

Základem léčby je kompenzace diabetu a normální hladina glykémie. Dobrá kompenzace diabetu redukuje rozvoj DN v následujících 5 letech asi o 60 %. V léčbě bolesti se používají různá analgetika (antipyretika), tricyklická antidepresiva, antikonvulziva, antirytmika třídy 1b a myorelaxancia.[27, 46]

3.1.4 Syndrom diabetické nohy

Syndrom diabetické nohy (SDN) je výsledkem kombinace mikrovaskulárních a makrovaskulárních postižení s určitým podílem ischemické choroby srdeční (ICHS).[47] SDN představuje hlavní příčinu amputací a patří mezi nejzávažnější komplikace diabetu. U diabetiků je počet amputací 15x vyšší než u lidí bez onemocnění DM. 40 – 70 % amputací dolní končetiny je prováděno u diabetiků. Jedná se o ulceraci a destrukci hlubokých tkání nohy u neuropatií, infekcí a angiopatií. Diabetická ulcerace znamená ránu pronikající celou vrstvou kůže. U gangrény se jedná o nekrózu kůže a přilehlých struktur jako jsou svaly, klouby, šlachy a kosti. Povrchová ulcerace nezasahuje do podkožní tkáně, ale hluboká ulcerace už penetruje do podkožní tkáně zasahuje, často šlachy a svaly.[27]

SND můžeme rozdělit na primární a sekundární podle Liverpoolské klasifikace. Primární dělíme podle příčiny na:

- Ischemickou ulceraci
- Neuropatickou ulceraci
- Neuroischemickou ulceraci

Sekundární dělíme na:

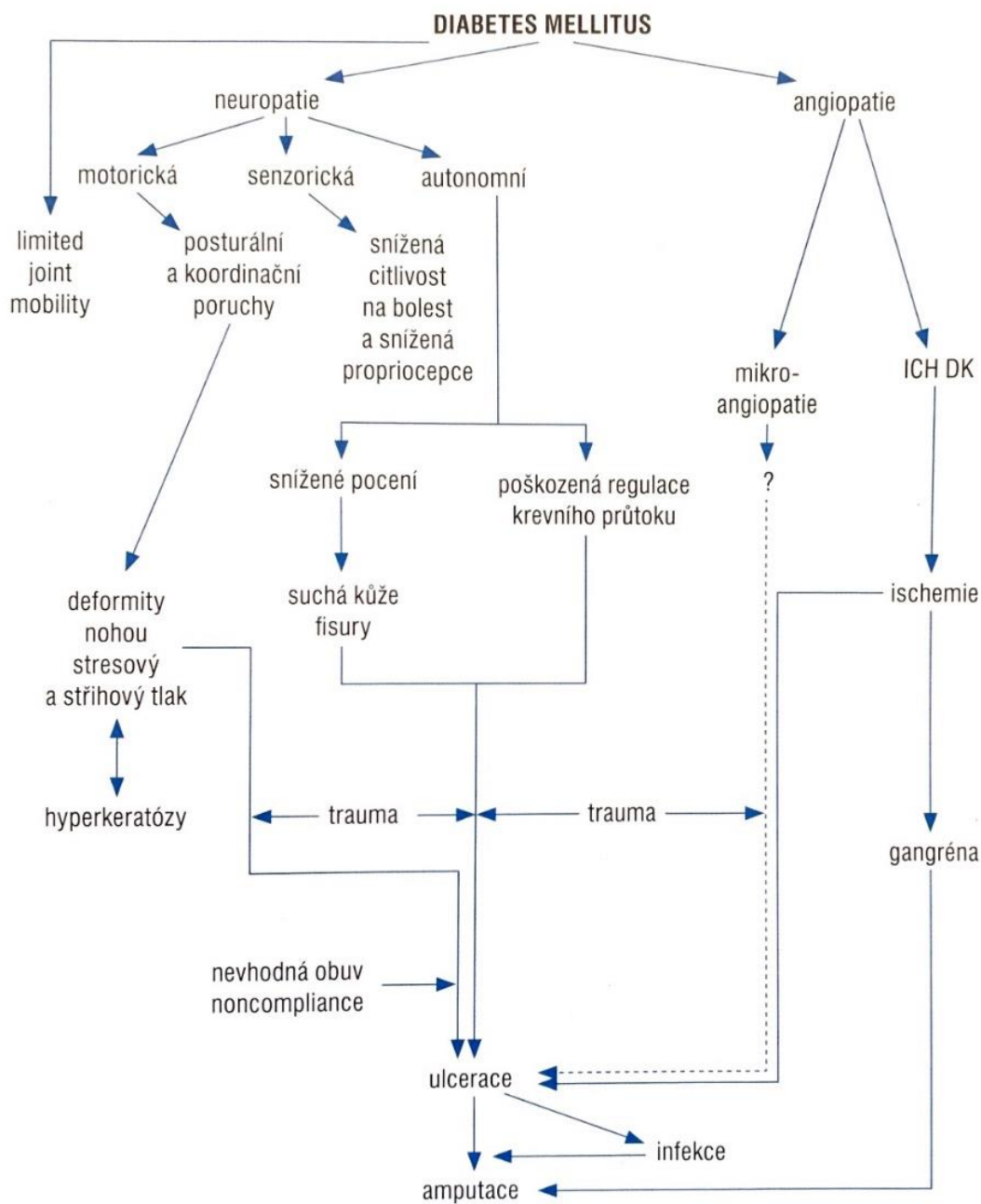
- Komplikovanou ulceraci – absces, flegmóna, osteomyelitida
- Nekomplikovanou ulceraci

Existují i další klasifikace SND např. Texaská klasifikace SND podle Armstronga (1998), která rozděluje podle hloubky ulcerace do 1 – 3 stupňů a 5 stadií podle ischemie a zánětu, další klasifikací je tzv. S (AD) SAD – Size (area and depth), Septis, Arteriopathy and Denervation podle autorů Macfarlane a Jeffcoate.[27]

Na vzniku SND se také podílejí imunitní faktory a těmi jsou:

- Oslabená systémová odpověď na zánět
- Dysfunkce imunitního systému
- Zvýšená náchylnost k infekci

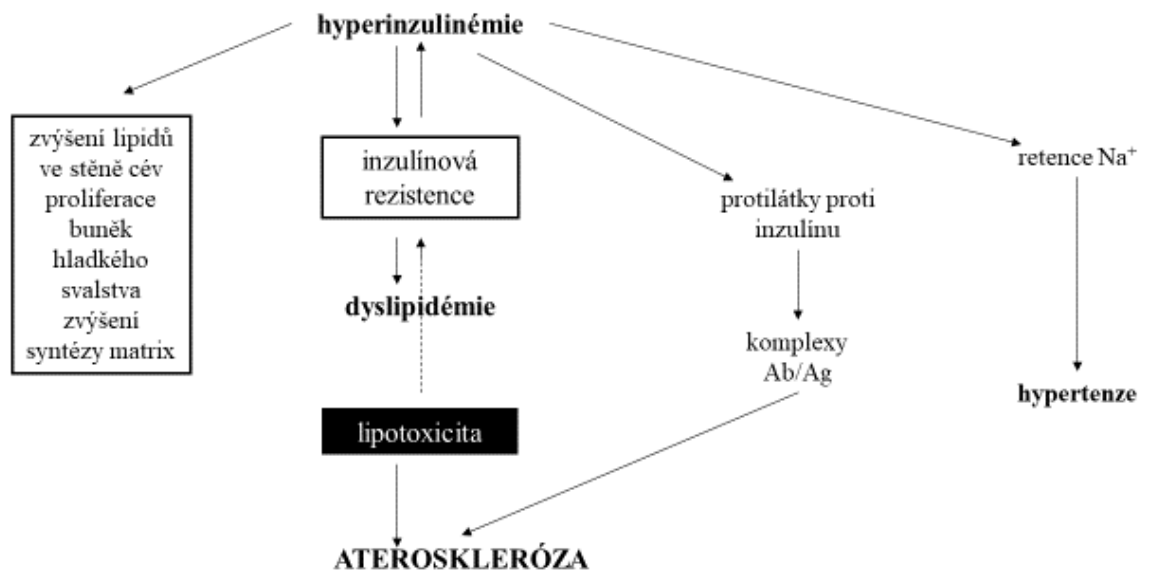
To vše vede k obtížnému hojení a k poruše reparace poškozené tkáně. Projevy imunitních faktorů sledujeme u dekompenzace diabetu viz obrázek č. 14.[27]



Obrázek 14 Patogeneze diabetických ulcerací (podle T. Pelikánové).[27]

3.2 Nespecifické komplikace diabetu

Nespecifické komplikace u diabetiků nacházíme v nižším věku, rychleji postupují a mají těžší následky. Zvýšením hladiny glukózy a inzulínu spolu s dyslipidémií u pacientů trpících diabetem se vyvíjí makroangiopatie, která způsobuje oxidační stres vedoucí k ateroskleróze (viz obrázek 15).[27, 28]

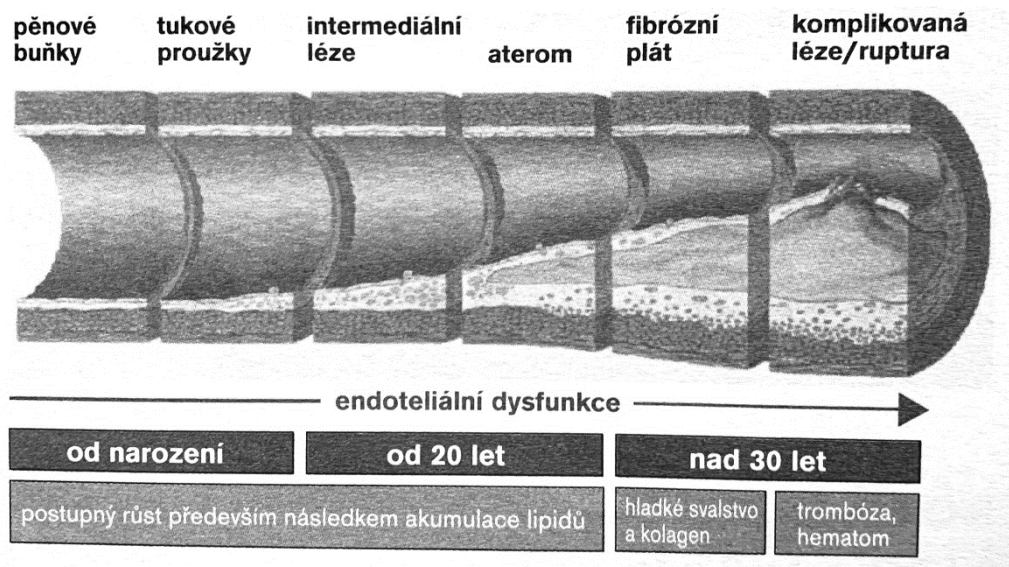


Obrázek 15 Aterogenní účinek hyperinzulinémie (podle J Perušicové).[27]

Makrovaskulární komplikace diabetu jsou aterosklerotické změny velkých cév, kdy klinickými projevy jsou ischemická choroba srdeční, cévní mozkové příhody – onemocnění centrálního nervového systému, ischemická choroba dolních končetin – např. syndrom diabetické nohy. Prevence je minimalizovat rizikové faktory. Terapií je léčba diabetu, hyperlipidémie a hypertenze.[5, 28, 48]

3.2.1 Ateroskleróza

Ateroskleróza je chronické zánětlivé onemocnění, u kterého dochází ke změně funkce endotelu cévní stěny až k její přestavbě, protože akumulací oxidovaných lipoproteinů a leukocytů vede ke vzniku aterosklerotických plátů.[49, 34] Klinicky manifestuje jako cévní mozková příhoda (CMP), ischemická choroba srdeční (ICHS) nebo ischemická choroba dolních končetin (ICHDK). DM patří mezi hlavní rizikové faktory vzniku aterosklerózy. Současnou představu vzniku aterosklerózy znázorňuje obrázek č. 15.[34]



Obrázek 16 Aterogeneze (vznik aterosklerózy).[34]

Následující děje aterosklerotického postižení lze popsat podle klasifikace AHA (American Heart Association):

- Endoteliální dysfunkce
- Časně, potenciálně reverzibilní. aterosklerotické postižení (typ I-III)
- Rozvinuté aterosklerotické postižení (typ IV, V)
- Komplikované léze (typ VI)
- Chronické léze (typ VII-VIII)

Typ komplikované léze je klinicky nejvýznamnější a je spojen s rozvojem akutního koronárního syndromu (AKS). V poslední době došlo k rozvoji metod, které by detekovaly tento typ ještě před rozvojem AKS. Jedná se o metody jako je virtuální histologie, automatická detekce plátů s tenkou fibrózní čepičkou, spektroskopie, vysokofrekvenční intravaskulární ultrazvuk či optická koherenční tomografie.[49]

3.2.2 Ischemická choroba srdeční

Jedná se o akutní nebo chronickou poruchu srdeční funkce, která vzniká při nedostatku krevního zásobení myokardu u postižení věnčitých tepen, zejména u koronární aterosklerózy.

ICHS dělíme na:

- Akutní koronární syndromy podle elevace ST úseku na křivce EKG (s elevací nebo bez elevace)

- Chronické formy ICHS (namáhavá a variantní angina pectoris, němá ischemie, srdeční selhání při ICHS a arytmiické formy ICHS)

Prevalence u zdravých lidí je přibližně 2 – 4 %, u diabetiků více než 50 %. Vyskytuje se 2x více u mužů s diabetem než u mužů bez diabetu, u žen diabetiček 4x častěji než u žen zdravých. Více než 20 % z celkového počtu hospitalizovaných s infarktem myokardu představují diabetici a umírají 2x častěji na toto onemocnění.[27]

3.2.3 Ischemická choroba dolních končetin

U ischemické choroby dolních končetin je vznik podmíněn u většiny případů aterosklerotickým procesem tepen, které zásobují oblast dolních končetin. Aterosklerotický proces je difúzní, takže napadá nejen tepenné řečiště, ale může dojít i k poškození mozkové a renální tepny. Dochází k poruše flexibility endotelu a tím i ke ztrátě rychle reagovat na změnu v krevním proudu, což způsobí větší propustnost endotelu a vznik aterosklerotických plátů. [49,50] Výskyt ICHDK stoupá s věkem.[51]

U diagnózy ICHDK je důležité mít pod kontrolou rizikové faktory, kterými jsou kouření, dyslipidémie (porucha látkové výměny lipidů), diabetes mellitus a hypertenze. U pacientů s ICHDK se nejčastěji vyskytuje smíšená dyslipidémie, která je zřejmě způsobená vznikem inzulínové rezistence, kouřením a přítomností DM2. Mezi léčebné procesy řadíme farmakologickou léčbu, změnu životního stylu a specifické instrumentální metody.[50,52]

ZÁVĚR

Uvedené mechanismy, u kterých je počátečním rysem hyperglykémie, jsou úzce spjaty s oxidačním stresem, což dává vzniku i cévním změnám a rozvoji aterosklerózy. Nedostatečnost organismu regulovat ROS v nadbytku vede k rozvoji chronických diabetických komplikací. S přibývajícím počtem diabetiků a jejich zvyšující se průměrný věk v důsledku stále se zlepšující zdravotní péče a prohlubujících se znalostí vede k zamyšlení, jak zlepšovat prevenci a terapii v rozvoji pozdních komplikací u diabetu mellitu. Proto časný záchyt rizikových faktorů v klinické praxi a jejich účinná kompenzace v ranném stádiu je prevencí před dalším průběhem onemocnění a špatnou prognózou diabetika. K tomu poslouží podrobnější prozkoumání genetických faktorů a jejich vhodné ovlivnění. Tím ale však neklesá význam důležitosti farmakoterapie již existujících potíží.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PIZZINO, G., N. IRRERA, M. CUCINOTTA, a kol. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. [online]. 2017, s. 1-13 [cit. 2019-03-20]. DOI: 10.1155/2017/8416763. ISSN 1942-0900. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2017/8416763/>
- [2] RAAD, M., A. ALBADRI, J. WEI, P.K. MEHTA, J. MAUGHAN, A. GADH, L. THOMSON, D.P. JONES, A.A. QUYYUMI, Q.J. PEPINE, aC.N.B. MERZ. Oxidative Stress Is Associated With Diastolic Dysfunction in Women With Ischemia With No Obstructive Coronary Artery Disease. *Journal of the American Heart Association*, [online]. 2020, 9 (10), DOI: 10.1161 / JAHA.119.015602. Dostupné z: <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/JAHA.119.015602>
- [3] LI, Y. Robert a Michael TRUSH. Defining ROS in Biology and Medicine. *Reactive Oxygen Species*. [online]. 2016, 1 (1) [cit. 2019-03-20]. DOI: 10.20455/ros.2016.803. ISSN 23802367. Dostupné z: <http://aimsoci.com/ros/index.php/ros/article/view/11>
- [4] GUTTERIDGE, J. M., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*. [online]. 1995, 41 (12 Pt 2), s. 1819-28 [cit. 2017-01-16]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7497639>.
- [5] ASMAT, U., K. ABAD, a K. ISMAIL. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi pharmaceutical journal: SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, [online]. 2015, 24 (5), s. 547-553. DOI: 10.1016/j.jsps.2015.03.013
- [6] ŠTÍPEK, S. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. Praha: Grada, 2000. ISBN 80-7169-704-4.
- [7] KYAW, M., M. YOSHIZUMI, K. TSUCHIVA, I. IZAWA, Y. KANEMATSU a T., TAMAKI, Atheroprotective effects of antioxidants through inhibition of mitogen-activated protein kinases. *Acta Pharmacologica Sinica*. [online]. 2004, 25 (8), s. 977-985 [cit. 2017-02-07]. Dostupné z: <http://www.chinaphar.com/1671-4083/25/977.pdf>.
- [8] ŽÁK, A. a MACÁŠEK, J. *Ateroskleróza: nové pohledy*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3052-3.
- [9] MOUREK, J. *Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 2., dopl. vyd. Praha: Grada, 2012. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-3918-2.

- [10] SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS A. *Atlas fyziologie člověka*. 6. vyd., zcela přeprac. a rozš., Vyd. 3. české. Praha: Grada, 2004. ISBN 978-80-247-0630-6.
- [11] LANGMEIER, M. *Základy lékařské fyziologie*. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2526-0.
- [12] COBLEY, J. N., M.L. FIORELLO, a D.M. BAILEY. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox biology*, [online]. 2018, 15, s. 490–503. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.01.008>
- [13] BÉLANGER, M., I. ALLAMAN a P.J. MAGISTRETTI. Brain energy metabolism: focus on Astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab.*, [online]. 2011, 14, s. 724-738, DOI: 10.1016/j.cmet.2011.08.016
- [14] MAGISTRETTI, P.J. a I.A. ALLAMAN. A cellular perspective on brain energy metabolism and functional imaging. *Neuron*, [online]. 2015, 86, s. 883-901, DOI: 10.1016/j.neuron.2015.03.035
- [15] ALLAMAN, I., M. BÉLANGER a P.J. MAGISTRETTI. Astrocyte-neuron metabolic relationships: for better and for worse. *Trends Neurosci.*, [online]. 2011, 34, s. 76-87, DOI: 10.1016/j.tins.2010.12.001
- [16] ITOH, Y., T. ESAKI, K. SHIMOJI, M. COOK, M.J. LAW, E. KAUFMAN a L. SOKOLOFF. Dichloroacetate effects on glucose and lactate oxidation by neurons and astroglia in vitro and on glucose utilization by brain in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, [online]. 2003, 100, s. 4879-4884, DOI: 10.1073/pnas.0831078100
- [17] MÄCHLER, P., M.T. WYSS, M. ELSAYED, J. STOBART, a kol. In vivo evidence for a lactate gradient from astrocytes to neurons. *Cell Metab.*, [online]. 2016, 23, s. 94-102, DOI:10.1016/j.cmet.2015.10.010
- [18] HERRERO-MENDEZ, A., A. ALMEIDA, E. FERNÁNDEZ, C. MAESTRE, S. MONCADA, a J.P. BOLAÑOS. The bioenergetic and antioxidant status of neurons is controlled by continuous degradation of a key glycolytic enzyme by APC/C-Cdh1. *Nat. Cell Biol.*, [online]. 2009, 11, s. 747-752, DOI: 10.1038/ncb1881
- [19] BELANGER, M., J. YANG, J.M. PETIT, T. LAROCHE, P.J. MAGISTRETTI a I. ALLAMAN. Role of the glyoxalase system in astrocyte-mediated neuroprotection. *J. Neurosci.*, [online]. 2011, 31, s. 18338-18352, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1249-11.2011

- [20] RABBANI, N., THORNALLEY, P.J. Dicarbonyls linked to damage in the powerhouse: glycation of mitochondrial proteins and oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.*, [online]. 2008, 36, s. 1045-1050, DOI: 10.1042/BST0361045
- [21] PUN, P.B.L., MURPHY, M.P. Pathological significance of mitochondrial glycation. *Int. J. Cell Biol.*, [online]. 2012, 2012, DOI: 10.1155/2012/843505
- [22] PUN, P.B.L., A. LOGAN, V. DARLEY-USMAR, a kol. A mitochondria-targeted mass spectrometry probe to detect glyoxals: implications for diabetes. *Free Radic. Biol. Med.*, [online]. 2014, 67, s. 437-450, DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.11.025
- [23] ČEŠKA, R., T.ŠTULC, V. TESAŘ a M. LUKÁŠ, ed. *Interna. 2., aktualizované vydání [brožované]*. V Praze: Stanislav Juhaňák – Triton, 2015. ISBN 978-80-7387-895-5.
- [24] MARTINÍK, K. *Obezita, nadváha: Od teorie k praxi*. Hradec Králové: Garamon s.r.o. Hradec Králové, 2008. ISBN 978-80-86472-37-9.
- [25] WU, Y., Y. DING, Y. TANAKA a W. ZHANG, W. Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *International Journal of Medical Sciences*. [online]. 2014, 11(11), s. 1185-1200 [cit. 2019-04-25]. DOI: 10.7150/ijms.10001. ISSN 1449-1907. Dostupné z: <http://www.medsci.org/v11p1185.htm>
- [26] Stručný přehled činnosti oboru diabetologie a endokrinologie za období 2007–2016. *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR*. [online]. Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. ISSN: 1210-8626, (0862-5646) Dostupné z: <https://www.uzis.cz/index.php?pg=vystupy--statistika-vybranych-oboru-lekarske-pece--diabetologie>
- [27] RYBKA, J. *Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění: diagnostické a léčebné postupy*. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1671-8.
- [28] BĚLOBRÁDKOVÁ, J. a L. BRÁZDOVÁ. *Diabetes mellitus*. V Brně: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2006. ISBN 80-7013-446-1.
- [29] ZHANG, J. a F. LIU. Tissue-specific insulin signaling in the regulation of metabolism and aging. *IUBMB life*, 2014, 66 (7), s. 485–495. DOI:10.1002/iub.1293
- [30] ACHENBACH P., E. BONIFACIO, K. KOCZWARA, A.G. ZIEGLER. *Natural history of type 1 diabetes*. *Diabetes*. 2005, 54, s. 25-31.

- [31] AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. [online]. 2011, 35, s.64-71 [cit. 2019-03-20], DOI: 10.2337/dc12-s064. ISSN 0149-5992. Dostupné z: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc12-s064>
- [32] PERUŠIČOVÁ, J. *Diabetes mellitus 2. typu: léčba perorálními antidiabetiky, inkretiny, inzuliný, hypolipidemiky a antihypertenzivy*. 1. vyd. Semily: Geum, 2011, 583 ISBN 978-80-86256-78-8.
- [33] TUOMILEHTO, J, J LINDSTRÖM a J.G. ERIKSSON a kol. Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle among Subjects with Impaired Glucose Tolerance. *N Engl J Med*. 2001, 3.
- [34] PERUŠIČOVÁ, J., ČEŠKA, R. *Kardiabetes: kardiovaskulární choroby & diabetes mellitus*. Brno: Facta Medica, 2009. ISBN 978-80-904260-1-6.
- [35] ALFADHLI, E. Gestational diabetes mellitus. *Saudi Medical Journal*. [online]. 2015, 36 (4), s. 399-406 [cit. 2019-04-25]. DOI: 10.15537/smj.2015.4.10307. ISSN 03795284. Dostupné z: <http://www.smj.org.sa/index.php/smj/article/view/smj.2015.4.10307>
- [36] KOTAS, R. a Z. AMBER. Patofyziologie diabetické neuropatie. *Neurologie pro praxi*. [online]. 2012, 13, s. 7-11 ISSN 1803-5280. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/neu-201290-0003_Patofyziologie_diabeticke_neuropatie.php
- [37] CALDERON, G. D., O.H. JUAREZ, G.E. HERNANDEZ, S.M. PUNZO a Z.D. DE LA CRUZ. Oxidative stress and diabetic retinopathy: development and treatment. *Eye (London, England)*, 2017, 31 (8), s. 1122–1130. DOI: 10.1038/eye.2017.64
- [38] WU, Y., Y. LI, a T. JIANG, a kol. Reduction of cellular stress is essential for Fibroblast growth factor 1 treatment for diabetic nephropathy. *J Cell Mol Med*. 2018, 22 (12), s. 6294–6303. doi: 10.1111/jcmm.13921
- [39] POKRIVČÁK, T., P. MILOŠOVÁ, K. ŠEVELA, E. KOTULÁNOVÁ, M. TICHÝ a M. SOUČEK. Diabetická nefropatie. *Interní medicína pro praxi, Solen*, 2013, 15(8-9), s. 277-279. ISSN 1803-5256. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/int-201308-0011_Diabeticka_nefropatie.php
- [40] ALBERS, J.W., a R. POP-BUSUI. Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments, and subtypes. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2014, 14(8), s.473. DOI:10.1007/s11910-014-0473-5

- [41] HAVLOVÁ, K. Periferní neuropatie z pohledu urologa. *Urologie pro praxi, Solen*, 2016, 17(1), s. 11-13. DOI: 10.36290/uro.2016.003. ISSN 1803-5299. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/uro-201601-0003_Periferni_neuropatie_z_pohledu_urologa.php
- [42] AMBLER, Z. Léčba diabetické neuropatie. *Interní medicína pro praxi, Solen*, 2013, 15(11-12), s. 358-362. ISSN 1803-5256. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/int-201311-0008_Lecba_diabeticke_neuropatie.php
- [43] LÁŠTICOVÁ, M. Diabetická neuropatie z pohledu diabetologa. *Medicína pro praxi, Solen*, [online]. 2012, 9 (12), s. 477-479. ISSN 1803-5310. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/med-201212-0004_Diabeticka_neuropatie_z_pohledu_diabetologa.php
- [44] AMBLER, Z. Bolestivé a fokální diabetické neuropatie. *Neurologie pro praxi, Solen*, [online]. 2012 (13), s. 21-24 ISSN 1803-5280. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/neu-201290-0006_Bolestive_a_fokalni_diabeticke_neuropatie.php
- [45] KRAUS, J., I. PERNÍKOVÁ a M. BROŽOVÁ. Periferní neuropatie u dětí. *Neurologie pro praxi, Solen*, [online]. 2018, 19 (3), s.175-182. DOI: 10.36290/neu.2018.021. ISSN 1803-5280. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/neu-201803-0005_Periferni_neuropatie_u_deti.php
- [46] HALBICHOVÁ, D. Diabetická neuropatie: nové zkušenosti a poznatky v léčbě. *Neurologie pro praxi, Solen*, [online]. 2011,12 (6), s. 422-425. ISSN 1803-5280. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/neu-201106-0011_Diabeticka_neuropatie_nove_zkusenosti_a_poznatky_v_lecbe.php
- [47] KARÁSEK, D., a D.ČÍHALÍKOVÁ. Dyslipidemie a syndrom diabetické nohy. *Medicína pro praxi, Solen*, [online]. 2019, 16 (3), s. 157-160. DOI: 10.36290/med.2019.055. ISSN 1803-5310. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/med-201903-0005_dyslipidemie_a_syndrom_diabeticke_nohy.php
- [48] KARÁSEK, D. Diabetes a kardiovaskulární riziko. *Interní medicína pro praxi, Solen*, [online]. 2018, 20 (2), s. 58-61. DOI: 10.36290/int.2018.011. ISSN 1803-5256. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/int-201802-0002_Diabetes_a_kardiovaskularni_riziko.php

- [49] KOVÁRNÍK, T. a K. KOPŘIVA. Regrese koronární aterosklerózy ve světle recentních studií. *Intervenční a akutní kardiologie, Solen* [online]. 2019, 18(2), s. 81-85. DOI: 10.36290/kar.2019.024. ISSN 1803-5302. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/kar-201902-0006_regrese_koronarni_aterosklerozy_ve_svetle_recentnich_studii.php
- [50] PÍŤHA, J. Proč umírají pacienti s ICHDK na ICHS a proč často zbytečně? *Interní medicína pro praxi, Solen*, [online]. 2017,19 (4), s. 179-185. DOI: 10.36290/int.2017.032 ISSN 1803-5256. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/int-2017040002_Proc_umiraji_pacienti_s_ICHDK_na_ICHS_a_proc_casto_zbytecne.php
- [51] INDRÁKOVÁ, J. a L. KALINOVÁ. Farmakologická léčba ischemické choroby dolních končetin. *Klinická farmakologie a farmacie, Solen* [online]. 2009,23 (2), s. 71-75. ISSN 1803-5353. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/far-200902-0006_Farmakologicka_lecba_ischemicke_choroby_dolnich_koncetin.php
- [52] PÍŤHA, J. Farmakologická léčba dyslipidemií u pacientů s ischemickou chorobou dolních končetin. [online]. *Solen*, 2014, 16 (4), s. 145-147. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/int-201404-0004_Farmakologicka_lecba_dyslipidemii_u_pacientu_s_ischemickou_chorobou_dolnich_koncetin.php