

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017

Eliška Matušková

**UNIVERZITA PARDUBICE**  
**FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ**  
**KATEDRA BIOLOGICKÝCH A BIOCHEMICKÝCH VĚD**

**SYSTÉMOVÁ ZÁNĚTLIVÁ REAKCE PŘI  
ATEROSKLERÓZE A DIABETU**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**AUTOR PRÁCE:** Eliška Matušková

**VEDOUCÍ PRÁCE:** MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková,  
Ph.D.

**UNIVERSITY OF PARDUBICE**  
**FACULTY OF CHEMICAL-TECHNOLOGY**  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL  
SCIENCES

**SYSTEMIC INFLAMMATION IN**  
**ATHEROSCLEROSIS AND DIABETES**  
BACHELOR THESIS

**AUTHOR:** Eliška Matušková

**SUPERVISOR:** MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Eliška Matušková  
Osobní číslo: C13353  
Studijní program: B3912 Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Zdravotní laborant  
Název tématu: Systémová zánětlivá reakce při ateroskleróze a diabetu  
Zadávající katedra: Katedra biologických a biochemických věd

### Zásady pro vypracování:

Seznamte se s problematikou systémové zánětlivé reakce organismu, jejími mechanismy, markery a významem v rozvoji aterosklerózy a diabetu. Proveďte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte databázi MEDLINE.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**

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

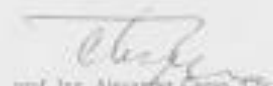
Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2015**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2016**



prof. Ing. Petr Kalašta, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čupák, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 15. února 2016

Prohlašuji:

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

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. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 28.6.2017

.

Eliška Matušková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych chtěla poděkovat MUDr. Vladimíře Novákové Mužákové PhD. za odborné vedení, cenné rady, konstruktivní kritiku a odborný dohled, který mi při zpracování bakalářské práce věnovala. Dále bych chtěla své rodině za podporu a porozumění a také spolužačkám za ochotu a vstřícnost.

## **ANOTACE**

Chronický systémový zánět nízkého stupně se podílí na vzniku aterosklerózy i diabetu 2. typu. Rozvoj zánětu ovlivňují adipokiny pocházející z tukové tkáně. Na vzniku zánětu u diabetu 2. typu se podílejí zejména volné mastné kyseliny vedoucí k lipotoxicitě. Dalším zánětlivým aktivátorem je hyperglykémie na základě inzulínové rezistence. Tyto faktory vyúsťují ve stres endoplazmatického retikula. Adhezivní molekuly podporují aterosklerotický zánět, účastní se přenosu signálu mezi buňkami a podporují adhezi imunitních buněk.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Zánět, diabetes, ateroskleróza, inzulínová rezistence, tuková tkáň



## **ANNOTATION**

Chronic low grade systemic inflammation contributes to the development of atherosclerosis and type 2 diabetes. The development of inflammation affects adipokines originating from fatty tissue. The formation of inflammation in type 2 diabetes is mainly due to the free acids that lead to lipotoxicity. Another inflammatory activator is hyperglycemia based on insulin resistance. These factors result in stress in the endoplasmic reticulum. Adhesive molecules promote atherosclerotic inflammation, participate in signal transfer between cells, and promote immune cell adhesion.

## **KEYWORDS**

Inflammation, diabetes, atherosclerosis, insulin rezistance, adipose tissue

## OBSAH

Úvod.....	14
1. ZÁNĚT .....	15
1.1 Zánět tukové tkáně .....	16
2. Systémový zánět při diabetes mellitus 2. typu .....	16
2.1 Lipidy jako aktivátory zánětu .....	16
2.1.1 Lipotoxicita .....	18
2.1.2 Neesterifikované mastné kyseliny (NEMK).....	19
2.1.3 Toll – like receptory (TLR) .....	20
2.1.4 Renin – angiotenzin – aldosteronový systém .....	20
2.2 Glukóza jako aktivátor zánětu .....	21
2.2.1 Inzulínová rezistence .....	22
2.2.2 Signalizační kaskáda .....	23
2.2.3 $\beta$ buňky.....	25
2.2.4 Glukotoxicita .....	26
2.2.5 Glukolipotoxicita .....	27
2.3 Oxidační stres .....	27
2.4 Stres endoplazmatického retikula .....	27
2.5 Makrofágy .....	29
2.5.1 IL–10 .....	31
2.6 TNF– $\alpha$ .....	31
2.7 IL–6.....	32
2.8 Interakce TNF– $\alpha$ a IL–6 .....	32
2.9 Interakce TNF– $\alpha$ a IL–1 .....	33
2.10 Hormony .....	33
2.10.1 Leptin.....	33
2.10.2 Adiponektin.....	33
2.10.3 Rezistin.....	34
3. Systémový zánět při ateroskleróze .....	34
3.1 Poškození endotelu.....	36
3.2 Rizikové faktory.....	37
3.2.1 LDL.....	38
3.2.2 LDL modifikace.....	38

3.2.3	HDL .....	39
3.3	Adhezivní molekuly .....	39
3.3.1	Selektiny .....	39
3.3.2	Integriny .....	40
3.3.3	Kadheriny .....	40
3.3.4	Imunoglobuliny .....	40
3.4	Systém renin – angiotenzin .....	41
3.5	Leukocyty .....	42
3.5.1	Makrofágy .....	42
3.5.2	Protein Sfrp5 .....	42
3.5.3	T-lymfocyty .....	43
3.5.4	IL-5 .....	43
3.6	Fibrinogen .....	43
3.7	Interferon $\gamma$ .....	44
3.8	TLR .....	44
4.	Závěr .....	45
5.	Seznam použité literatury .....	47

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A ZNAČEK

AKT	protein kináza B
ATP	adenosintrifosfát
CRP	C – reaktivní protein
ER	endoplazmatické retikulum
GLUT 4	transportér glukózy typ 4
HDL	vysokodenzitní lipoprotein (high density lipoprotein)
IL	interleukin
IKK	inhibitor nukleárního faktoru kappa-B kinázy podjednotky beta
IRS 1	receptor substrátu inzulin 1
JNK	c-jun NH <sub>2</sub> terminální kináza
KATP	kalciový adenosintrifosfát
LDL	nízkodenzitní lipoprotein (low density lipoprotein)
LPC	lysofasfatidylcholin
LPL	lipoproteinová lipáza
MCP	monocytový chemoatrakční protein
MIF	faktor inhibující migraci makrofágů
MK	mastné kyseliny
mRNA	mediátorová RNA
MyD	myeloidní diferenční faktor
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NEMK	neesterifikované mastné kyseliny
NFκB	nukleární faktor kappa B
NO·	radikál oxidu dusného
NOS	NO syntáza
PAI 1	inhibitor aktivátoru plazminogenu
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza
PPAR	peroxisomový receptor aktivovaný proliferátory

PRR	receptory rozpoznávající patogeny
RAAS	renin-angiotenzin-aldosteronový systém
RAS	renin-angiotenzinový systém
ROS	reaktivní formy kyslíku
TNF	tumor nekrotizující faktor
TLR	toll like receptory
UPR	odhalená bílkovinná odpověď (unfolded protein response)
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě (very low density lipoprotein)
WAT	bílá tuková tkáň

## ÚVOD

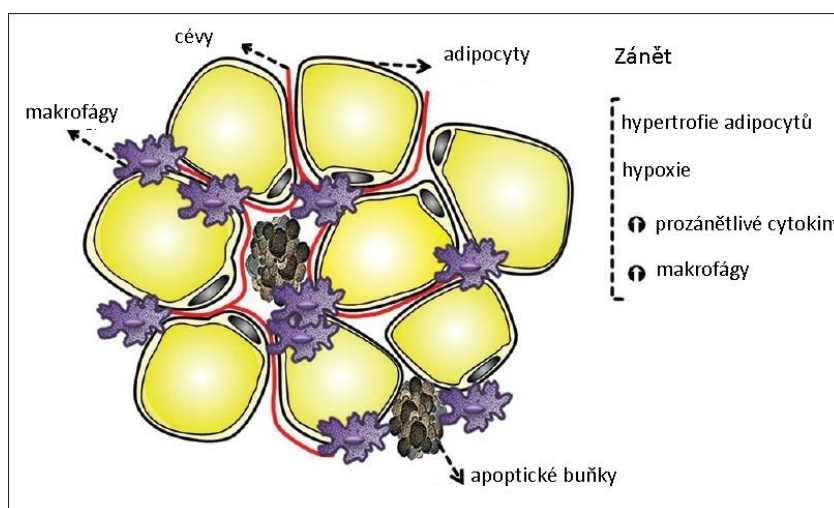
Zánět indukovaný obezitou je spojen s tukovou tkání. Tuková tkáň byla donedávna považována za pasivní zásobárnu energie. Výzkumy posledních let ovšem ukazují, že se jedná o vysoce metabolicky aktivní a multifunkční orgán. Tento orgán hraje velmi důležitou roli při rozvoji různých patofyziologických procesů. Tato práce je zaměřena na roli zánětlivých mechanismů při diabetes a ateroskleróze.

Obě choroby jsou nedílnou součástí epidemií třetího tisíciletí. Počet osob s diabetem a aterosklerózou je mnohonásobně vyšší než v uplynulém století. Podle světové zdravotnické organizace WHO se předpokládá, že v roce 2030, bude diabetes považována za čtvrtou nejčastější příčinu úmrtí. Na základě toho si WHO klade za cíl udělat potřebná opatření pro dohled, prevenci a kontrolu nad diabetes a s tím spojené komplikace v zemích ve středních i rozvojových zemích. Z tohoto důvodu je třeba poskytovat nové vědecké poznatky a postupy pro prevenci těchto onemocnění. WHO se zaměřuje i na politickou situaci, jako prostředníka k vyřešení nevědomosti a finanční podpory pro rodiny a tím i duševní pohodu. Řídí se pravidlem, že čím déle člověk žije s nediodagnostikovanou cukrovkou, tudíž neléčenou, tím horší bude jejich zdravotní stav a komplikace, včetně aterosklerózy (Gorlic, 2016).

V minulosti byla ateroskleróza vysvětlována jako prosté ukládání tuku v cévách, které je důsledkem vysokého příjmu tuků potravou. Dnes je již známo, že se jedná o velice komplikovaný zánětlivý proces, jehož jednotlivé systémové cesty jsou v poslední době intenzivně studovány.

# 1. ZÁNĚT

Obecně je zánět odpovědí organismu na poškození tkáně. Zastává obrannou funkci, ale může být také poškozující pro organismus např. při rozvoji chronického zánětlivého procesu (Anděl, 2009). Upřesnění použití pojmu zánět či zánětlivá reakce na klinicko – patologické úrovni uvádí definice: „Zánět je stereotypní, složitá, vývojem získaná schopnost reakce živých organismů na různá poškození, sestávající zjevů charakteru alterativního, exsudativního, proliferativního a imunitního, které obvykle probíhají sukcesivně, jde – li o zánět defenzivní“ (Bednář, 1982). Propojení mezi aterosklerózou a diabetem v součinnosti s obezitou spojuje chronický mírný zánět. Obezitu, poruchu glukózové tolerance, arteriální hypertenzi a hypertriacylglycerolemii, propojuje metabolický syndrom (Reaven, 1988). V 90. letech 20.století byla objevena hormonální produkce tukových buněk. Mezi objevené hormony patřil leptin, rezistin, adiponektin a další. Právě tyto hormony jsou důkazem, který spojuje obezitu s diabetem nebo aterosklerózou. Mají vliv jak na energetický metabolismus, tak i na inzulínovou rezistenci. Průlomový nález produkce prozánětlivých cytokinů v tukové tkáni a následný popis makrofágů tukové tkáně vedl k uznání teorie spojující chronický mírný zánět, diabetes 2. typu a aterosklerózu, viz obr. 1 (Anděl,2009).



Obr.1: Schéma zánětlivé reakce v tukové tkáni (de Souza a Matinini, 2015)

## 1.1 Zánět tukové tkáně

Tuková tkáň je dynamický a heterogenní endokrinní orgán. Je složena z adipocytů, extracelulární matrice, vaskulární a nervové tkáně a jiných typů buněk, jako jsou preadipocyty, fibroblasty, kmenové buňky i buňky imunitní. Mezi imunitní buňky patří makrofágy a T lymfocyty (Ibrahim, 2010). V souvislosti s propojením zánětu a obezity hovoříme o navození stavu chronického systémového zánětu. Je známo, že chronický zánět u obézních jedinců pochází z tukové tkáně a způsobuje navození vzniku inzulinové rezistence (Kalupahana et al., 2012). Důležité je odlišit zánět způsobený obezitou od akutního zánětu. Chronický systémový zánět nízkého stupně se podílí na vzniku aterosklerózy, hypertenze, diabetu 2. typu nebo dokonce i některých druhů rakoviny (Kraakman et al., 2014). Samotný zánět je charakterizován změnami v populaci imunitních buněk, které vedou ke změnám adipo/cytokinových profilů.

## 2. SYSTÉMOVÝ ZÁNĚT PŘI DIABETES MELLITUS 2. TYPU

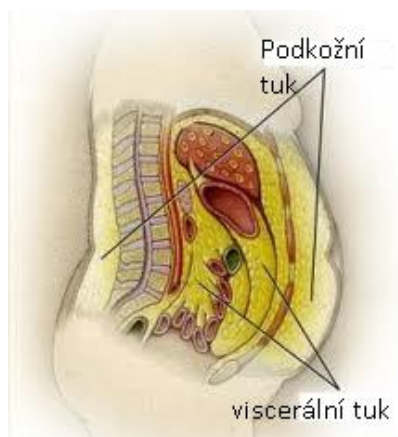
Za posledních 20 let se počet lidí s diabetem zdvojnásobil a tím se diabetes mellitus stává celospolečenským problémem. Pro svůj masový výskyt i každoroční nárůst bývá nazýván epidemií třetího tisíciletí (Kolb et al., 2010). Zhoršená tolerance glukózy a porucha glykémie nalačno zvyšuje riziko projevu diabetu 2. typu, i když to není nevyhnutelné. Pro vznik diabetes mellitus 2. typu je zapotřebí genetická vložka v kombinaci s faktory zevního prostředí. Například i zvýšení oxidačního stresu podněcuje rozvoj onemocnění. Oxidační stres je vyvoláván metabolickými faktory v korelaci se zánětlivou reakcí, která nemá klinické projevy. V důsledku selhávání ochranných protizánětlivých reakcí se projeví subklinický zánět (Pelikánová, Bartoš, 2012).

### 2.1 Lipidy jako aktivátory zánětu

Množství lymfocytů v tukové tkáni pozitivně koreluje s obvodem pasu u lidí (Kintscher et al., 2008). Důležitým rysem zánětu v tukové tkáni je, že se jedná o zánět chronický. To naznačuje, že zánětlivé procesy nedokáží spustit vlastní řešení. Slabé signály odpovídají chronickému stavu, což způsobuje, že signály nestačí ke stimulaci dalších buněk. Stimulované buňky by mohly zprostředkovat

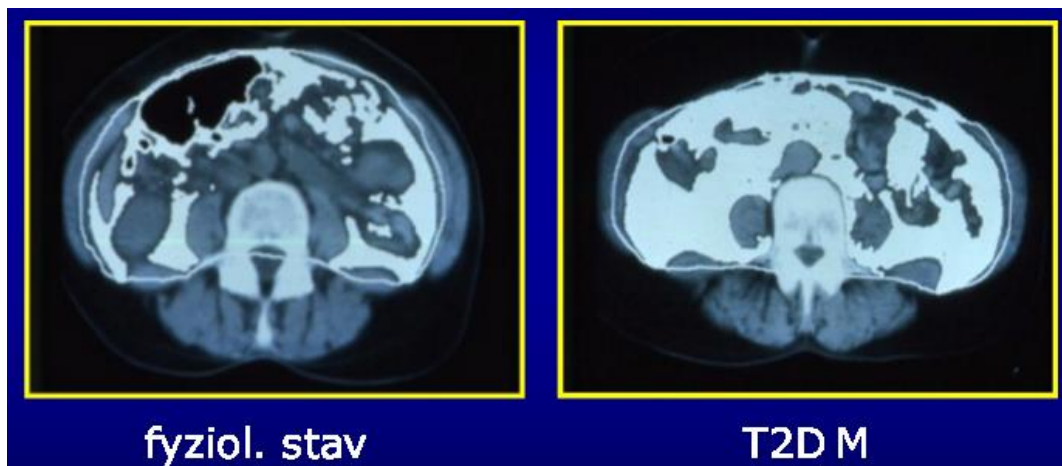


plné rozlišení zánětlivého stavu. Signální nedostatek může být také zapříčiněn defektem indukovaným obezitou. Jednou z příčin obezity je i moderní způsob života, který se skládá z nadměrného příjmu energeticky vydatné stravy se současnou fyzickou pasivitou, což vede k postupnému narůstání hmotnosti a ukládání tuku. Důsledkem je obezitou indukovaný zánět (Škrha, 2010). Rozdělení tukové tkáně popisuje obr.2.



**Obr.2: Rozložení tukové tkáně (Švarc, 2011)**

Charakteristické pro tento jev je poté zvýšené množství viscerálního tuku, jehož rozložení je popsáno na obr. 3 (Olefski a Glass,2010).



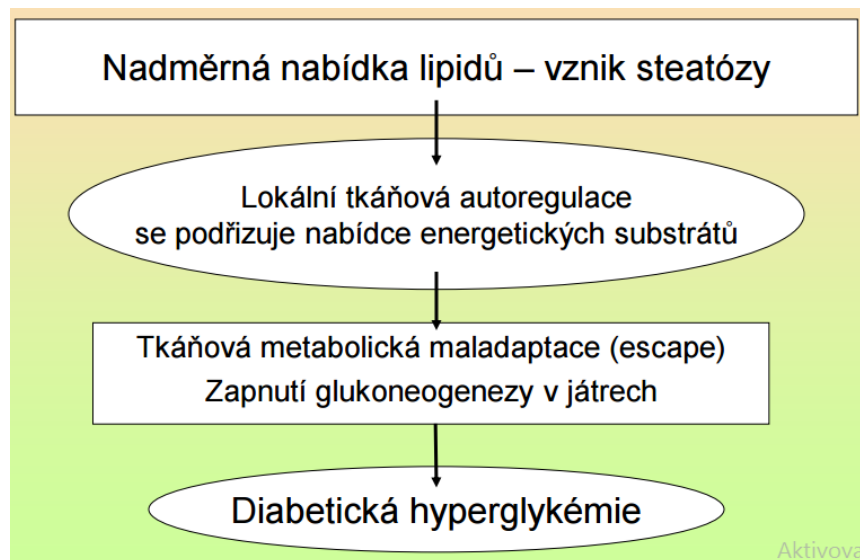
**Obr.3: Distribuce viscerálního tuku (Bultas, 2011)**

S tím je spojené i ektopické ukládání tuku v játrech, pankreatu, svalech i endotelu. Hromadění viscerálního tuku vede ke zvýšeným nárokům na sekreci inzulínu, z tohoto důvodu roste i inzulínová rezistence (Škrha, 2010).

U obézních jedinců dochází k poruše funkce tukové tkáně. Výsledkem je těžká inzulinová rezistence se všemi složkami, včetně diabetes mellitus 2. typu (Anděl et al., 2009). Tato rezistence je přičítána aktivaci tukové tkáně, která je spojena se zvýšeným uvolňováním zánětlivých cytokinů, například tumor nekrotizujících faktorů alfa (TNF- $\alpha$ ), interleukinů 1 a 6 (IL-1, IL-6) a angiotenzinu II. Mezi další zánětlivé faktory patří také PAI-1 (inhibitor aktivátoru plazminogenu), C – reaktivní protein (CRP) a aktivace monocytů. Tyto faktory jsou spojovány s inzulinovou rezistencí. Zánětlivý proces se projeví zvýšenými hladinami zmíněných cytokinů. Hladina protizánětlivého peptidu interleukinu 10 (IL-10) má naopak klesající tendenci (Cruz et al., 2013). Významnou roli má i místo uložení tukové tkáně. Od lokality uložení se odvíjí variabilní metabolické vlastnosti. Nezáleží pouze na množství cytokinů produkovaných tukovou tkání, ale také na místě, kde k produkci dochází. Tuková tkáň svojí endokrinní funkcí ovlivňuje inzulinovou senzitivitu, intermediální metabolismus a imunitní odpověď. (Alexaki et al., 2009).

### **2.1.1 Lipotoxicita**

Lipotoxicita je zvýšené hladiny mastných kyselin. Je považována za faktor, který iniciuje zhoršení funkce  $\beta$  buněk. Podobně jako v případě glukotoxicity má i lipotoxicita několik mechanismů, které se podílejí na inzulinové rezistenci. Při nadměrném příjmu živin se vyčerpá skladovací kapacita tukové tkáně pro mastné kyseliny, které se zde ukládají ve formě triacylglycerolů. Mastné kyseliny se akumulují v periferní krvi a spolu s vyšší hladinou neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) způsobují poruchu inzulinové senzitivity (Dvořáková, 2014). Ukládání nadbytečných NEMK v hepatocytech vede ke vzniku nealkoholické steatózy nebo steatohepatitidy. V játrech je stimulována glukoneogeneze, která je jednou z příčin vyvíjející se inzulinové rezistence, jak popisuje obr. 4. Tato stimulovaná glukoneogeneze vede ke zvýšené produkci glukózy játry a následně k hyperglykémii. Lipolýza v adipocytech je kontrolována hladinou mastných kyselin (MK). Adipocyty obézních jedinců jsou rezistentní k inzulinu (Biden et al., 2014).



Obr.4: Nadprodukce glukózy v játrech (Veselý podle Browning, 2013)

### 2.1.2 Neesterifikované mastné kyseliny (NEMK)

Neesterifikované mastné kyseliny jsou produktem lipolýzy a po  $\beta$  oxidaci slouží jako zdroj energie. Váží se na plazmatický albumin. Akumulace přebytku NEMK v jiných buňkách, než specializovaných k jejich bezpečnému skladování (tj. adipocytech), je předmětem intenzivního studia. Kromě oxidace, MK vstupují do neoxidativních metabolických drah. Tyto dráhy jsou zodpovědné za produkci ceramidů, které jsou ve vyšších koncentracích toxické (Dvořáková, 2014). Patologickým důsledkem je inzulínová rezistence v případě vyšší koncentrace NEMK ve svalu, dále steatóza jater a sekundárně selhání  $\beta$  buněk. Hypotéza inzulínové rezistence v kosterním svalstvu říká, že intracelulární metabolity NEMK (diacylglycerol, acyl-CoA aj.) aktivují proteinkinázu C a díky serin-threonin kinázové kaskádě pak dochází k inhibiční fosforylaci IRS-1 na serinu. Tím nedojde k aktivaci PI3K (fosfatidylinositol - 3 kináza) a AKT (proteinkináza B). GLUT – 4 není přesunut na povrch buňky. To vše vede k zhoršení glukózové homeostázy a k rozvoji inzulínové rezistence (Colleta et al., 2008). Cirkulující NEMK mohou zřejmě vyvolávat zánět přímou aktivací plazmatických membránových receptorů například Toll – like receptoru 4 (Reyna et al., 2008).

### **2.1.3 Toll – like receptory (TLR)**

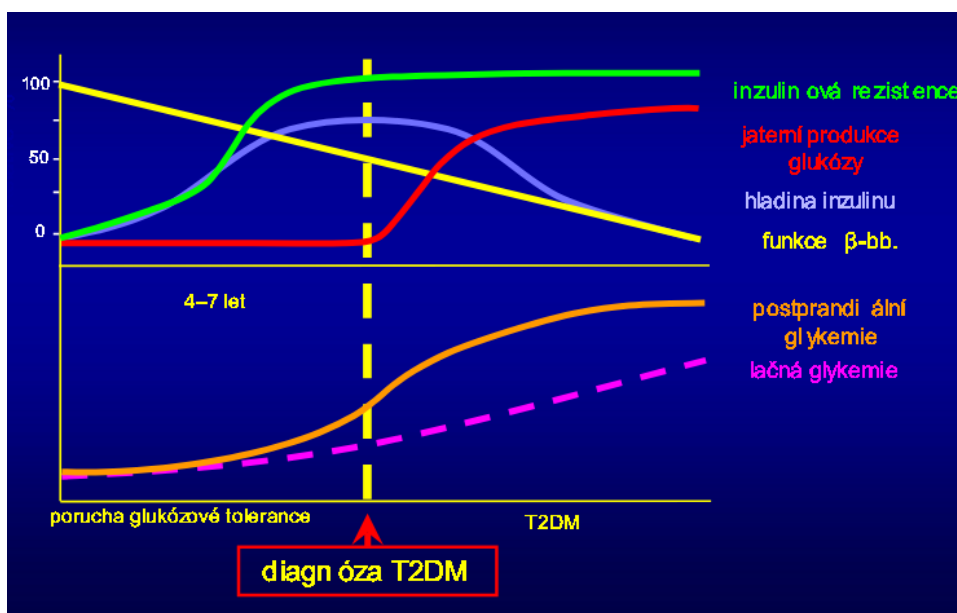
TLR, označované také jako (PRR – receptory rozpoznávající patogeny), jsou hlavní iniciátory zánětlivé odpovědi na povrchu buňky a regulují aktivaci jak vrozené, tak i adaptivní imunity. TLR jsou aktivovány u obézních jedinců. Mnoho studií naznačuje, že zvýšené hladiny zánětlivých biomarkerů mohou značit predispozici k vaskulárním komplikacím. TLR slouží jako rozpoznávací receptory vrozené imunitní odpovědi. TLR jsou exprimovány na všech buňkách a nejsou závislé na imunologické paměti. TLR reagují na ligandy a tato reakce probíhá prostřednictvím aktivace dráhy závislé na myeloidním diferenciačním faktoru (MyD). Aktivace faktoru vede k produkci prozánětlivých cytokinů. Dimer TLR2 rozpoznává bakteriální a mykobakteriální lipopeptidy. TLR4 působí jako PRR pro lipopolysacharidy (LPS). TLR2 a TLR 4 se podílejí na vzniku aterosklerózy i inzulinové rezistence. Bylo prokázáno, že vyřazením TLR2 a TLR4 má za následek snížení pravděpodobnosti vzniku aterosklerózy. Stanovení těchto receptorů může být velmi přínosné pro progresi aterosklerózy u diabetu. U obézních pacientů jsou hodnoty TLR, zvýšené, zejména pak u pacientů s diabetem 2. typu (Jialal a Kaur, 2012).

### **2.1.4 Renin – angiotenzin – aldosteronový systém**

Renin – angiotenzin – aldosteronový systém (RAAS), může být dalším důležitým spouštěčem pro zánět tukové tkáně indukovaný obezitou. RAAS je nadměrně aktivován při obezitě (Kalupahana et al.,2012). Aldosteron u obézních pacientů pozitivně koreluje s BMI. Aldosteron klesá při redukci hmotnosti, a naopak stoupá při jejím zvýšení. Aldosteron negativně koreluje s inzulinovou senzitivitou. Zvýšená hladina aldosteronu u pacientů s obezitou se vyskytuje ve viscerální tukové tkáni. Blokace RAS zlepšuje rezistenci na inzulin (Svačina, 2008). Nadměrná produkce angiotensinogenu, primárního prekurzoru peptidu tohoto systému, z tukové tkáně indukuje tukový zánět, glukózovou intoleranci a systémovou inzulinovou rezistenci (Frigolet et al.,2013). Tím se stává inhibice RAS slibným terapeutickým cílem pro zlepšení inzulinové rezistence u obézních jedinců. Předpokládá se, že hlavním mechanismem pozitivních metabolických účinků blokady systému renin – angiotenzin – aldosteron, je blokace přímo v tukové tkáni.

## 2.2 Glukóza jako aktivátor zánětu

Porucha účinku inzulínu v metabolismu glukózy se projevuje poruchou v regulaci jaterní produkce glukózy a poruchou inzulín – dependentního transportu glukózy z krve do cílových tkání. V důsledku změn, které jsou vyvolané hypertrofickými adipocyty, hlavně ve viscerální oblasti, dochází ke zvýšení rizika rozvoje inzulínové rezistence. Taktéž lze hovořit o lipotoxickém účinku, který vedl k postupnému zániku  $\beta$  buněk. Pokud má jedinec genetickou vlohku k diabetu, dochází ke snižování množství  $\beta$  buněk i k útlumu jejich sekreční schopnosti, tedy sekreci inzulínu. Nemohou tedy zajistit fyziologickou glykoregulaci a tím dochází k manifestaci diabetu (Škrha, 2010). Obr. 5 graficky znázorňuje vývoj poruchy  $\beta$  buněk pankreatu ve vztahu s prediabetem a diabetes 2. typu.

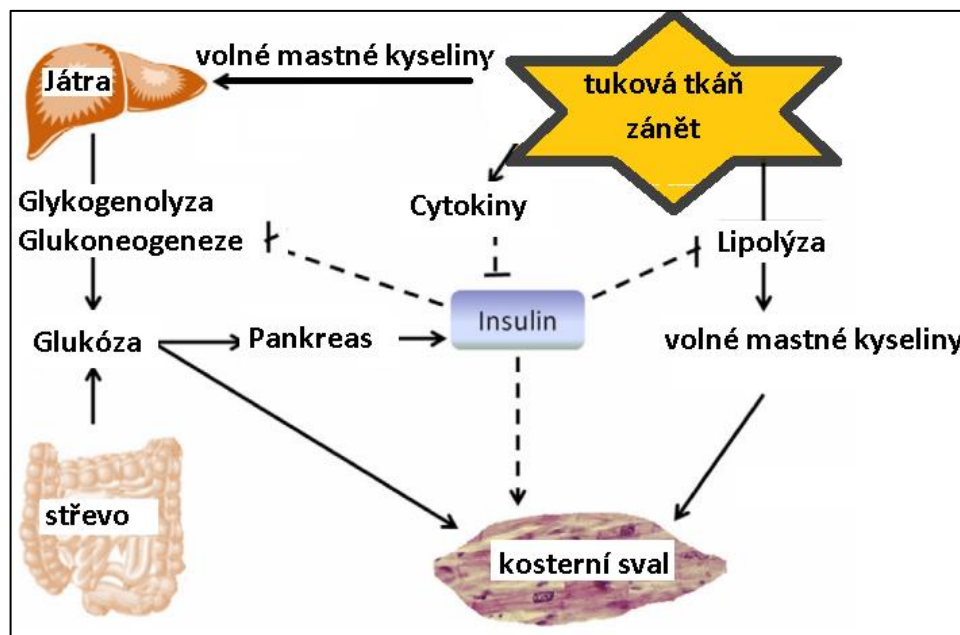


Obr.5:Schéma poruchy  $\beta$  buněk v závislosti na čase při porovnání prediabetes a diabetes 2.typu (Bultas, 2011)

V případě kombinace poruchy lipidů a glukózy můžeme hovořit o tzv. „diabetes mellipidus“ (Škrha, 2010). Po jídle a následném vstřebávání ve střevě stoupá hladina glykémie, viz obr.6, což v pankreatu stimuluje vylučování inzulínu, který reguluje transport glukózy do cílových tkání. Inzulín potlačuje produkci jaterní glukózy prostřednictvím inhibice glukoneogeneze a glykogenolýzy. Tím se zvýší jaterní hladina glykogenu.

Dalším významným účinkem inzulínu je zvýšení příjmu a využití glukózy v kosterním svalstvu. Zvýšená sekrece inzulínu podporuje lipogenezi zvýšením

rychlosti vstupu glukózy do adipocytů. V tukové tkáni inzulín inhibuje enzymy hydrolýzy triacylglycerolů i uvolňování lipoproteinů o velmi nízké hustotě (VLDL) z jater do krevního oběhu a zvyšuje regulaci lipogeneze (Kalupahana, 2012). Naopak při inzulínové rezistenci je sníženo množství glukózy vstupující do adipocytů. MK jsou mobilizovány z tukové tkáně a zvýší se jejich koncentrace v krvi. Dojde k posunutí metabolismu ve prospěch tuků místo sacharidů. Proto je stav inzulínové rezistence charakterizován poškozením inzulínem zprostředkované inhibice tvorby glukózy v játrech (Rokyta, 2015).



Obr.6: Schéma patogeneze inzulínové rezistence související s obezitou (Kalupahana, 2012)

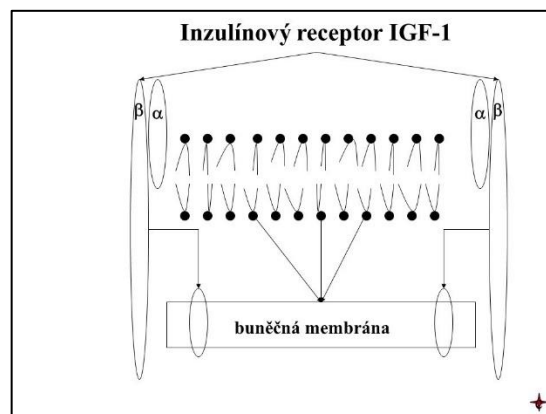
## 2.2.1 Inzulínová rezistence

Jednou z hlavních příčin vzniku diabetes mellitus 2. typu je inzulínová rezistence. Jedná se o molekulární mechanismus poruchy v inzulínové signální dráze. Mezi inzulín senzitivní buňky patří zejména adipocyty, myocyty, hepatocyty a  $\beta$  buňky s cílem koordinovat dodávání a ukládání živin (Livingstone et al., 2017). V důsledku této poruchy dojde k navození stavu hyperglykémie, která vede ke zhoršení nejen účinku, ale i samotné sekrece inzulínu (Pelikánová, Bartoš, 2011). Glukóza produkovaná v játrech pomáhá udržet normální cirkulační hladinu inzulínu během doby nalačno. Glukóza udržuje normální hladinu prostřednictvím glykogenolýzy a glukoneogeneze. Tato produkce

hepatické glukózy a mastných kyselin, mobilizovaných z tukové tkáně ve stavu nalačno slouží jako palivo periferních tkání v prostředí s nízkou dostupností živin. Podstatou je stav, kdy koncentrace plazmatického inzulínu odpovídá sníženému vychytávání glukózy v cílové struktuře. Snížená odpověď organismu může vzniknout na jakékoli úrovni inzulínové signalizační kaskády (Pelikánová, Bartoš 2011).

## 2.2.2 Signalizační kaskáda

Inzulín se váže na inzulínové receptory, jejichž počet na povrchu buňky je rozdílný v závislosti na jednotlivých tkáních, přičemž největší množství zůstává u tukové tkáně, jater a kosterního svalstva s klesající tendencí. Inzulínový receptor má strukturu tetramerního glykoproteinu (460kDa) složeného ze dvou alfa a dvou beta podjednotek, spojených disulfidickými můstky, jak lze vidět na obr. 7 (Pelikánová, Bartoš, 2011).



Obr.7: Inzulínový receptor v buněčné membráně (Doležal, 2015)

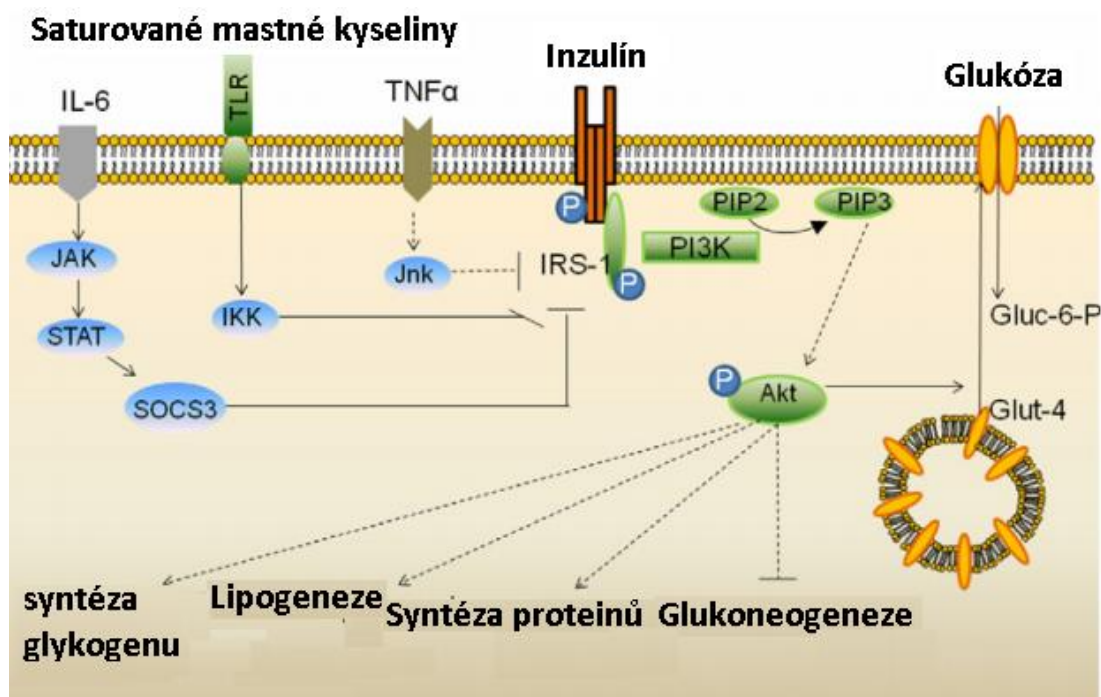
Signalizační kaskáda se aktivuje po navázání inzulínu na receptor, následuje autofosforylace jeho betapodjednotky, čímž je umožněn příjem a následná fosforylace substrátu 1 inzulínového receptoru (IRS1). Dojde k aktivaci tyrosinkinázy (Pilch et al. 2004), dále následuje série fosforylačně – defosforylačních reakcí, které vedou k tvorbě signálu pro transportéry glukózy a intracelulární enzymy. Samotný signální mechanismus zatím není zcela objasněn. Jisté je uplatnění zejména serinkinázy pro fosforylaci a treoninkinázy při defosforylaci fosfatázy. Signalizační kaskáda se lineárně větví na dvě základní

cesty. Lze je rozdělit na větev PI – 3 –kinázu (PI3K) a Ras komplex. Ukotvení fosfolipid – dependentní kinázy (PDK) a proteinkinázy B (Akt) je umožněno díky fosforylaci PI – 3 – kinázou na membránový inositol (PIP3). Tyto látky nepřímo aktivují následné signalizační kaskády. Ty postupně vedou k aktivaci Akt, známé jako proteinkináza B, indukující možnou translokaci GLUT – 4 a syntézu glykogenu. Akt funguje jako hlavní signál proinzulín a od tohoto kroku jsou signály děleny podle buněčných pochodů v cílových strukturách (Jackson 2017, Osborn et al. 2012). Aktivace Akt hraje velmi důležitou roli v metabolické signalizaci. Z toho důvodu může dojít k narušení inzulínové signální kaskády, a tím k vyvolání inzulínové rezistence. Konečné kroky této signální kaskády vedou k syntéze glykogenu, proteinů a již zmíněného transportéru glukózy (GLUT – 4) (Kalupahana et al, 2012). Krok navíc u Ras komplexu, spočívá v tom, že je potřeba nejdříve aktivovat samotný Ras komplex, a to navázáním guanosintrifosfátu místo guanosindifosfátu za pomoci proteinů ze skupiny GEFs (guanin – nukleotidové výměnné faktory). Tím se Ras komplex stává aktivátorem kroků, kterými je ovlivněna zejména genová transkripce. Ras-GTP aktivuje kroky, které ovlivní zejména genovou transkripci i přepis mRNA enzymů podílejících se na syntéze lipidů, proteinů a glykogenu. Hlavní mechanismus poruchy inzulínové senzitivity v místě působení, jak transkripce, tak i translace mRNA je stres endoplazmatického retikula (ER). V důsledku toho jsou akumulovány proteiny, které neprošly procesem svinování. Výsledkem spuštění signální dráhy je zpomalení translace mRNA, degradace proteinů a zvýšení exprese chaperonových genů. V případě nedostatku či absence regulačních mechanismů je spuštěna apoptóza (Vincenz et al., 2011).

Dalo by se říci, že první část kaskády řídí metabolické pochody a druhá reguluje cytotkinetiku (White, 2002). Popsanou signalizační kaskádu vyobrazuje obr.8. Vadná signální transdukce v inzulínové signalizační kaskádě vede k inzulínové rezistenci. Hyperinzulinémie samotná může snížit hladinu IRS proteinu pomocí transkripce. Prozánětlivé cytokiny zhoršují signalizaci inzulínu ve tkáních citlivých na inzulín. Jako příklad poslouží supresor signalizace cytokinu



(SOCS 3), který je *downstream*<sup>1</sup> molekula v signalizaci IL-6. Tato molekula pak může blokovat interakci mezi inzulínovým receptorem a IRS. Signalizační kaskáda je zobrazena na obr. 8 (Emanuelli et al, 2001).



Obr.8: Inzulínová signalizační kaskáda (Kalupahana, 2012)

### 2.2.3 β buňky

Při procesu stárnutí dochází k úbytku β buněk, což způsobuje vzestup glykemie. Jakmile apoptóza β buněk dosáhne kritického stupně v korelaci s inzulínovou rezistencí, projeví se porucha metabolismu glukózy. Sekrece inzulínu se vlivem apoptózy β buněk snižuje. Jako kritická hodnota se uvádí pokles pod 50% fyziologického množství β buněk. Jakmile je dosaženo kritické hodnoty, znamená to, že není možné zachovat euglykemii. Přetrvávající nároky organismu prohlubují relativní hypoinzulinémii. Rychlost apoptózy β buněk při diabetu 2. typu je závislá na inzulínové senzitivě a toxickém vlivu glukózy (glukotoxicita) (Škrha, 2014).

Fyziologická regulace sekrece inzulínu β buněk z pankreatu spočívá v exocytóze inzulínové granule, která vyžaduje zvýšení intracelulárního vápníku,

<sup>1</sup>*Downstream* – z angl. dole po proudu, je myšlená taková molekula signální dráhy, která v buněčných procesech dle hierarchie situována níže; její aktivita je úplně nebo částečně závislá na jiné hierarchicky výše situované molekule.

který (alespoň v případě sekrece inzulínu vyvolaného glukózou) prostoupí přes kalciový kanál. Draselný kanál citlivý na ATP (KATP kanál) hraje klíčovou roli v sekreci inzulínu. Draselný ion udržuje membránu hyperpolarizovanou. Sekrece inzulínu je potlačena a  $\beta$  buňky jsou při otevření kanálu hyperpolarizovány.  $\beta$  buňky mají nízkou hustotu kalciových kanálů, ale bylo zjištěno, že i když se tyto kanály otevírají pouze krátce, vstup kalciového iontu stačí k vyvolání exocytózy. Při nízkých hladinách glukózy v plazmě je kanál otevřený. Po ztrátě kolokalizace dojde k tomu, že i když se kalciové kanály stále otevírají, výsledný nárůst kalcia nevyvolává sekreci. Při nadměrné aktivitě KATP kanálu je navozen diabetický stav (Flanagan et al., 2007).

V  $\beta$  buňkách pacientů s diabetem 2. typu byla nalezena vyšší expreselL-1 $\beta$ . V preparátech lze pozorovat i ostrůvky asociované s makrofágy. IL-1 $\beta$  je primárním antagonistou  $\beta$  buněk u diabetu 2. typu. IL-1 $\beta$  se vyskytuje ve zvýšené míře u obézních pacientů a zodpovídá za sníženou sekreci inzulínu. Kromě toho zvyšuje i apoptózu pankreatických  $\beta$  buněk. Vlastní zánětlivý proces  $\beta$  buněk je důsledkem vzájemného působení hyperglykemie, hyperlipidemie a cirkulujících cytokinů (Anděl, 2009).

#### **2.2.4 Glukotoxicita**

Všechny buňky, které jsou závislé na inzulínu nereagují stejně na hyperglykémii. Strukturní a funkční změny jsou způsobeny lokálními parakrinními a autokrinními ději a jsou odpovědné za konkrétní orgánové projevy. Děje navazují na primární změny způsobené hyperglykemií. V buňkách, ve kterých není příjem glukózy závislý na inzulínu, směřuje hyperglykemie k akutnímu intracelulárnímu vzestupu koncentrace glukózy, a tím k přetížení glykolýzy (Dvořáková, 2014). V citrátovém cyklu poté vzniká větší množství donorů elektronů (NADH). Dochází k zablokování přenosu elektronů v dýchacím řetězci a k tvorbě reaktivních forem kyslíku (ROS), které taktéž mohou poškodit DNA (Szabo, 2005). Vystavení chronické hyperglykémii je hlavní příčinou morbidity a mortality diabetes mellitus 2. typu prostřednictvím poškození cévní stěny, ledvin, sítnice a periferního nervového systému. Glukotoxicita je obecně méně zřejmá než lipotoxicita, přinejmenším u myší a lidí (Biden et al., 2014).

## 2.2.5 Glukolipotoxicita

Mastné kyseliny se obvykle  $\beta$  oxidují. V přítomnosti glukózy jsou ale rozděleny na komplexnější meziprodukty, které jsou potenciálně škodlivé. Glukóza zhoršuje lipotoxicitu. Zkoumání gluuko–lipotoxicity se zabývá otázkou, zda –li jde pouze o součet jednotlivých komponent nebo se vzájemně potencují (Biden et al., 2014).

## 2.3 Oxidační stres

Oxidační stres je nerovnováha mezi antioxidační kapacitou buňky a množstvím volných radikálů. Oxidační stres je projevem vyústění procesů glukotoxicity a lipotoxicity (Mancada et al., 2006). Za vznik oxidačního stresu jsou zodpovědné reaktivní kyslíkové částice (ROS). Vznik oxidačního stresu je podmíněn porušením rovnováhy na různých úrovních v buňce. Hlavním zdrojem ROS jsou mitochondrie. Při přetížení dýchacího řetězce donory elektronů, které vzniknou při metabolismu glukózy a NEMK, dojde k zabránění přenosu elektronů. Kromě mitochondrií může být zdrojem ROS i syntáza oxidu dusnatého (NOS) (Schaffer et al., 2012). NO je důležitý vazodilatátor a regulátor interakcí mezi leukocyty a cévní stěnou. Snížená dostupnost NO vede k endoteliální dysfunkci a často vede k pozdním diabetickým komplikacím (Szabo, 2009).

## 2.4 Stres endoplazmatického retikula

Stres endoplazmatického retikula (ER) je způsoben akumulací chybně sbalených proteinů v endoplazmatickém retikulu. Stres může být vyvolán špatnými vnějšími podmínkami jako je například nedostatek živin, hypoxie či nedostatek energie. Tento stresový stav se buňka snaží vyrovnat obranným mechanismem. Selhání odpovědi na protein UPR<sup>2</sup>, vede ke stresu endoplazmatického retikula a smrti  $\beta$  buněk. To přispívá nejen k různým formám diabetu, včetně diabetes mellitus 2. typu (Biden et al., 2014). Studie uplynulého desetiletí jsou založené na modelu lipotoxicity, který zahrnuje chronickou expozici  $\beta$  buněk, čímž zvýší hladiny mastných kyselin. Mastné kyseliny iniciují stres endoplazmatického retikula. Jak již

---

<sup>2</sup> UPR – unfolded protein response, souhrnné označení pro signální dráhy, které se spustí jako odezva na nahromadění proteinů, které neprošly svinováním a endoplazmatické retikulum je vyvedeno z homeostázy.

bylo řečeno, proinzulín je hlavní sekreční náplní  $\beta$  buněk, která migruje z endoplazmatického retikula do Golgiho aparátu a následně je zabalena do sekrečních váčků (granulí). Proinzulín se zpracovává na inzulín prostřednictvím účinku endopeptidáz. Na rozdíl od myši a krysa, které mají dva proinzulínové geny, lidé mají pouze jeden (Sano a Reed, 2013).

Je zajímavé, že při nadměrné expresi mutagenních sekrečních proteinů, je také vyčerpáno kalcium z endoplazmatického retikula, což naznačuje, že tento jev nastane jako důsledek a také spouštěč stresu endoplazmatického retikula. Důkazy o vztahu mezi stresem endoplazmatického retikula a sníženou sekrecí proteinů nalezneme u Wolframova syndromu. Stres endoplazmatického retikula provází reakce, které zahrnují aktivaci serinových kináz IKK (I $\kappa$ B kináza – kináza inhibitoru  $\kappa$  B) a JNK (c-Jun NH2 – terminální kináza). Tyto enzymy se podílejí na hlavní regulaci zánětlivé odpovědi, diferenciaci a apoptóze buněk, včetně adipocytů. Snížení přenosu signálu z inzulínového receptoru do nitra buněk přispívá k inzulínové rezistenci, jakožto i zvýšení sekrece již zmíněných prozánětlivých cytokinů. Celý cyklus se uzavírá tím, že JNK a IKK mohou být aktivovány přímo zvýšenou hladinou MK. Jejich zdrojem často bývá vysokotuková dieta (Anděl, 2009).

Stres endoplazmatického retikula vychází z akumulace nesprávně složených proteinů, což může být způsobeno dvěma mechanismy. První se týká přetížení proteinu. Rychlost syntézy poté představuje to, že protein vystupuje ze své sekreční dráhy endoplazmatického retikula. Druhý mechanismus souvisí se změnami v prostředí ER. V obou případech se UPR pokouší spustit reakci k vyřešení stresu ER.  $\beta$  buňky, kde proinzulín tvoří více než 50% celkové syntézy proteinů, vyžadují vysoce efektivní UPR. Toto platí zejména v podmínkách zvýšené poptávky po inzulínu během obezity. Opravdu mírná aktivace UPR přispívá k akutní stimulaci biosyntézy proinzulínu glukózou.

Stres endoplazmatického retikula může způsobit smrt a dysfunkci  $\beta$  buněk. Je tudíž příčinou nejčastěji se vyskytující diabetes mellitus 2. typu (Biden et al., 2010). Studie prokázaly, že stresové markery endoplazmatického retikula se vyskytují ve zvýšené míře v pankreatických ostrůvcích pacientů s diabetem. Stres endoplazmatického retikula tedy vede k aktivaci NF- $\kappa$ B dráhy. NF- $\kappa$ B je přitom zásadní pro expresi cytokinů, např. IL-1, IL-2, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , CCL2,

kteře jsou produkovány ve větším množství obézní tukovou tkání. Na modelu makrofágů bylo ukázáno, že stres endoplazmatického retikula vyvolaný thapsigarginem významně zvyšuje sekreci TNF $\alpha$ . Thapsigargin je experimentálně využívaný induktor stresu endoplazmatického retikula. Působí jako selektivní a ireverzibilní inhibitor kalciové ATPázy vedoucí k vyčerpání zásob kalcia v endoplazmatickém retikulu (Kmočnicková et al., 2005).

Stres endoplazmatického retikula není jediným prostředkem, kterým je lipotoxicita schopna poškodit funkci  $\beta$  buněk. Na jejich poškození mají vliv i trans mastné a jiné mastné kyseliny nebo toxické látky přijímané s potravou (DDT)(Anděl, 2014).

## 2.5 Makrofágy

Existuje patofyziologický vztah mezi makrofágy, obezitou a inzulínovou rezistencí. Důraz je kladen na regulaci zánětu tukové tkáně. Je dobře známo, že imunitní systém a metabolismus jsou vysoce integrované. Makrofágy jsou popsány jako kritické efektorové buňky. Za produkci mnoha prozánětlivých cytokinů jsou zodpovědné právě makrofágy, které jsou v tukové tkáni přítomny. Do tukové tkáně jsou makrofágy přitahovány ve zvýšené míře během rozvoje obezity. Makrofágový chemoatrakční protein (MCP) je produkován v důsledku nadměrného zvětšení adipocytu. Makrofágy jsou v tukové tkáni udržovány pomocí dalších faktorů produkovaných adipocytou, jako je faktor inhibující migraci makrofágů (MIF).

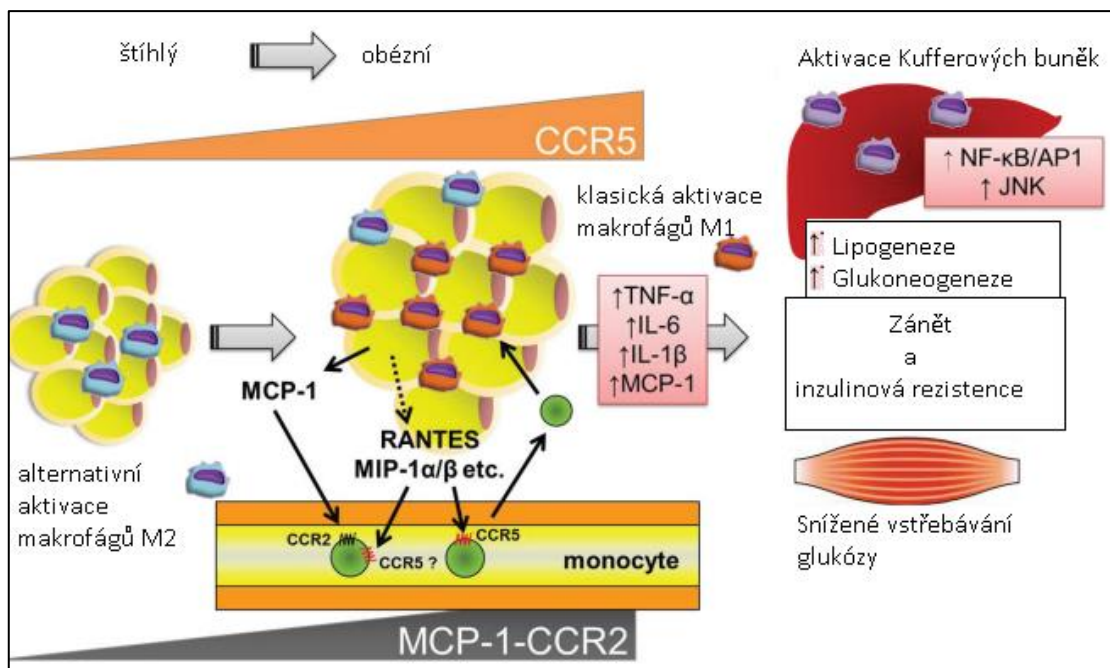
MIF je prozánětlivý cytokin, který se podílí na řadě zánětlivých procesů a reakcí, ovlivňujících homeostázu glukózy. MIF je produkován B lymfocyty, přičemž může zvyšovat sekreci inzulínu. MIF má jak imunologickou funkci, tak i endokrinní schopnost a podílí se na rozvoji diabetu 2. typu (Anděl, 2009). Jak uvádí Weisberg et al., 2003, tuková tkáň infiltrovaná makrofágy je zásadní pro vznik zánětu indukovaného obezitou a inzulínové rezistence.

Hlavní funkcí makrofágů je fagocytóza. Fagocytóza makrofágům umožňuje podílet se na tkáňové homeostáze. Dochází ke shlukování makrofágů převážně kolem velkých hypertrofických, umírajících, popřípadě mrtvých adipocytů. Nejvýznamnější imunologické změny vznikající během obezity pocházejí z tukové tkáně. Tuková tkáň se částečně podílí na procesu odstranění glukózy v celém těle.

Dokáže totiž způsobit dostatečné narušení systémového metabolismu glukózy (Kraakmann et al., 2014). Pomocí průtokové cytometrie jsou zaznamenávány dvě skupiny makrofágů. Skupiny se stanovují v adipózní tkáni (WAT) obézních pacientů (Weisberg et al., 2003). Studie *in vivo* prokázaly, že cytokin Th1 vyvolává klasickou M1 aktivaci makrofágů, zatímco Th2 cytokiny (IL4 a IL3), vyvolávají alternativní formu aktivace – M2 makrofágů (Mosser et al., 2008).

Klasicky aktivovaný fenotyp makrofág M1 hraje hlavní roli v obraně hostitele tím, že vylučuje prozánětlivé cytokiny. Naopak aktivovaný M2 fenotyp makrofágů podporuje hojení ran a může také za modulaci imunitní odpovědi. Tyto odlišné fenotypy, mají během vývoje onemocnění různé role a mohou přispět k udržení homeostázy (McNellis, Olefsky, 2014).

Bylo zjištěno, že manipulace s transkripčními faktory receptoru aktivovaného peroxizomovými proliferátory (PPAR), potřebné právě pro polarizaci makrofágů M2, byly spojeny s metabolickou dysfunkcí (Desverhne et al., 2008). Současná teorie podporuje to, že přírůstek hmotnosti indukuje lokální zánět a produkci chemokinů, které vedou k náboru cirkulujících prozánětlivých monocytů. Tyto monocyty se diferencují na makrofágový fenotyp M1 a M2. Zvýšená produkce cytokinů z makrofágů M1 nebo snížené protizánětlivé signály z makrofágů M2 podporují dysfunkci tukové tkáně a snižují glukózovou toleranci (Kraakman et al., 2014). Jak můžeme vidět na obr. 9, hypertrofie iniciuje sekreci MCP-1 a vede k náboru cirkulujících monocytů do tukové tkáně. Jakmile jsou makrofágy infiltrovány, podporují odezvu zánětlivého onemocnění. Následuje uzavřený kruh, který zahrnuje nábor makrofágů do tukových tkání a tvorbu zánětlivých cytokinů, jako je TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 ve spojení s adipocyty i dalšími infiltrovanými buňkami. V důsledku jejich zvýšené sekrece je způsobena inzulinová rezistence v tukové tkáni. Dojde k aktivaci i několika kináz, včetně JNK (c-Jun NH2-terminal kinase) a NF- $\kappa$ B. Mezi hlavní účinky těchto kináz patří omezení přenosu signálu z inzulinového receptoru do nitra buněk (Xu et al., 2015).



**Obr.9: Regulace zánětlivé odezvy při přeměně štíhlého fenotypu na obézní a vývoj systémové rezistence na inzulín ( Xu et al., 2015)**

Škodlivost fenotypu M1 při podpoře inzulínové rezistence má souvislost se shromažďováním v bílé tukové tkáni. Zánětlivý fenotyp M1 se soustřeďuje kolem nekrotických adipocytů.

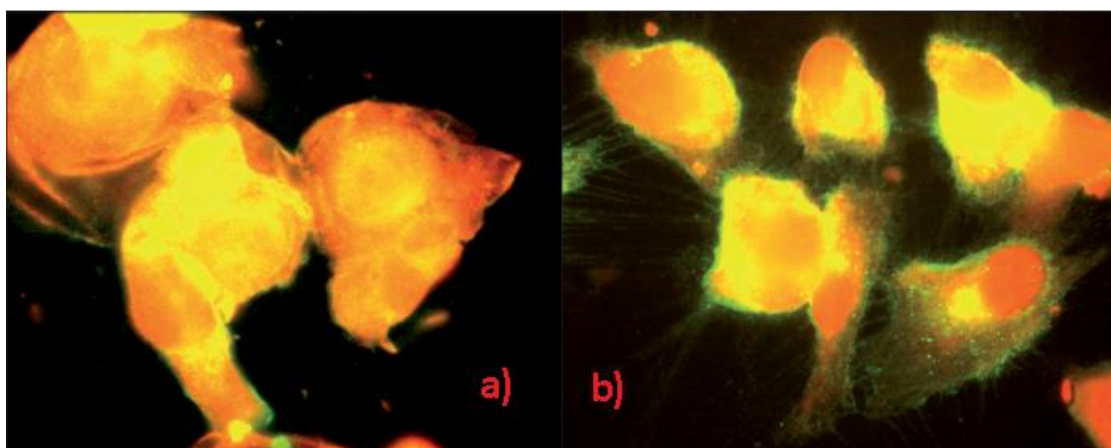
### 2.5.1 IL-10

Protizánětlivé mediátory IL-10 a adiponektin, na rozdíl od zánětlivých cytokinů, vykazují inzulín senzibilní účinky. IL-10 vykazuje protizánětlivé účinky inhibicí prozánětlivých účinků cytokinů, včetně TNF- $\alpha$  a IL-6. Snížená hladina IL-10, produkovaného makrofágy a lymfocyty, souvisí se zánětlivou odpovědí u pacientů s diabetes mellitus 2. typu a metabolickým syndromem snížením tyrosinkinázové aktivity inzulínových receptorů (Zigmond et al., 2014).

### 2.6 TNF- $\alpha$

TNF je spojen s inhibicí diferenciací adipocytů. Snížením regulace důležitých genů, které se podílejí na diferenciaci GLUT 4, PPAR a TNF nepřímo ovlivňují adipozitu a lipogenezi. TNF má také důležitou roli v inzulínové signalizační kaskádě, a to inhibicí aktivity tyrosinkinázy. Tím je snížena fosforylace a aktivace IRS-1, která následně snižuje buněčnou reakci na inzulín. Snížená exprese genů, které kódují proteiny pro tvorbu substrátu inzulínového receptoru,

byla také přiřazena TNF- $\alpha$ . Infuze TNF- $\alpha$  indukuje inzulínovou rezistenci cestou inhibice AKT, má vliv i na patogenezi diabetu 2. typu (Cruz et al., 2013). Na obr. 10 je ukázáno srovnání kultivovaných endoteliálních buněk při hladině glukózy v médiu 5,5 mmol/l, kde pozorujeme hladké tvary endoteliálních buněk. Po přidání TNF- $\alpha$  při hladině glukózy v médiu 15,5 mmol/l jsou patrné nerovnoměrné kontury endoteliálních buněk. Nerovnosti znázorňují exprimované adhezivní molekuly, na kterých jsou zachycené částice jako trombocyty, leukocyty, erytrocyty či LDL (Anděl, 2009).



Obr.10: Srovnání endoteliálních buněk po přidání TNF $\alpha$  při vyšší hladině glukózy (Anděl, 2009)

## 2.7 IL-6

Periferní rezistence vůči inzulínu a vývoj diabetes mellitus 2. typu jsou také spojeny se zvýšením IL-6 v tukové tkáni. Vysoká hladina IL-6 zvyšuje produkci volných mastných kyselin a přispívá k zablokování cesty inzulínové signalizace, což snižuje schopnost tkáňové resorbce. IL-6 má několik rolí souvisejících s regulací metabolismu lipidů, včetně inhibice lipoproteinové lipázy (LPL) a ukládání triacylglycerolů. IL-6 má také důležitou roli při blokování cesty inzulínu do jater a svalů (Pradhan et al., 2001).

## 2.8 Interakce TNF- $\alpha$ a IL-6

K inzulínové rezistenci přispívá jak TNF- $\alpha$ , tak IL-6, které v játrech zvyšují produkci C – reaktivního proteinu (CRP), což může vést na jedné straně k indukci



či akceleraci aterosklerózy a na straně druhé k poškození  $\beta$  buněk. Interakce mezi TNF- $\alpha$  a IL-6 spočívá v tom, že TNF- $\alpha$  stimuluje transkripci genu IL-6 a indukuje produkci receptoru (Cruz et al., 2013).

## **2.9 Interakce TNF- $\alpha$ a IL-1**

Prozánětlivé cytokiny TNF- $\alpha$  a IL-1 jsou spojovány s dysfunkcí  $\beta$  buněk a mohou vést ke zvýšené citlivosti  $\beta$  buněk na toxicitu. Tyto účinky se projevují prostřednictvím zvýšené produkce volného radikálu oxidu dusnatého (NO $\cdot$ ), který omezuje buněčný metabolismus tím, že inhibuje mitochondriální funkce (Winer et al., 2014).

## **2.10 Hormony**

### **2.10.1 Leptin**

Leptin je hormon tvořený v tukové tkáni. Bylo prokázáno, že souvisí s několika metabolickými, zánětlivými a hemostatickými faktory. Jeho sérová koncentrace je přímo proporcionální k množství tukové tkáně. Leptinové účinky v hypotalamu jsou závislé na fosfatidylinositolu 3 kinázové (PI3K) signalizaci a rezistenci na leptin. Leptin je produkován ve vysokých hladinách během zánětlivých stavů a je schopný modulovat vrozené a adaptivní imunitní systémové odpovědi, včetně reakce T buněk, aktivace monocytů a neutrofilů. Leptin v makrofázích působí jako silný chemoatraktant a vyvolává produkci mediátorů zánětu včetně TNF- $\alpha$  a IL6. Lymfocyty jsou taktéž aktivovány leptinem, který stimuluje proliferaci buněk Th1, což vede ke zvýšení produkce IL-1 a následně k vývoji autoimunitní nemoci.

### **2.10.2 Adiponektin**

Adiponektin je proteinový hormon, který je produkován prakticky jenom adipocyty. Bylo prokázáno, že snížené hladiny adiponektinu i jeho exprese v tukové tkáni jsou odrazem inzulínové rezistence i aterosklerózy. Hladiny adiponektinu jsou tisícinásobně větší, než je koncentrace inzulínu nebo leptinu, což znesnadňuje stanovení působení adiponektinu na inzulínovou rezistenci. Cirkulující izoformy adiponektinu mají tendenci tvořit multimery, které mají různou aktivitu a afinitu podle lokalizace (Matloch et al., 2016).

### 2.10.3 Rezistin

Rezistin je proteinový hormon, který byl původně objevený v souvislosti s obezitou a inzulínovou rezistencí. Jeho hladina byla nejméně snížená po podání inzulín – senzitivních léků. Hladiny byly zvýšené u obézních jedinců. Podávání rezistinu vede k inzulínové rezistenci v jaterní tkáni. Experimentální studie na zvířatech dokazují, že inhibice rezistinu, vede ke zvýšení inzulínové senzitivity. Předpokládá se tedy, že ovlivnění inzulínové rezistence je možné provést cestou inhibice rezistinu. Tyto poznatky byly bohužel vyvráceny, jelikož se projeví velké rozdíly týkající se rezistinu u lidí a zvířat. Můžeme konstatovat, že rezistin je u lidí spíše cytokinem, který je produkován imunokompetentními buňkami. Regulačním faktorem produkce rezistinu je aktivace zánětlivé reakce, vedoucí ke zvýšení hladin rezistinu. U pacientů s akutním zánětem nebo i chronickým zánětlivým onemocněním, jsou hodnoty rezistinu zvýšené (Haluzík et al., 2008).

## 3. SYSTÉMOVÝ ZÁNĚT PŘI ATEROSKLERÓZE

Ateroskleróza je multifaktoriální onemocnění cévní stěny, při kterém dochází k řadě zánětlivých, imunitních i funkčních změn. Onemocnění způsobená aterosklerózou vykazují více než 50% úmrtnost. Ateroskleróza – *arterosclerosis* pochází z řeckého *atero*, což znamená kaše a podléhá koronární tepen neboli tvrdnutí – *sclerosis* (Pospíšil, Zeman, 2003). Již z názvu vyplývá že se jedná o degenerativní onemocnění cévní stěny. Přítomnost rizikových faktorů ovlivňuje rychlost jejího vývoje. V mládí jsou cévy kolem srdce pružné, ale s přibývajícím věkem vnitřní stěny tepen postupně slábnou a ztrácejí svoji pružnost (Husain, 2015).

Během několika desítek let se na stěně cévy hromadí tukové pláty v důsledku ukládání tukových a minerálních látek z krve. Dojde k remodelaci cévní stěny, přičemž se zmenšuje průměr tepen. Tím je zabráněno normálnímu průtoku krve a dostatečnému zásobování cílových orgánů a tkání. Projevy se liší podle postižené části. Mezi nejčastěji poškozené patří mozkové arterie, epikardinální arterie myokardu a arterie dolních končetin (Khan et al., 2015).

Průsvit cévy je zúžen – aterosklerotické pláty. Pláty se zvětšují a postupně se stávají křehčími. Mohou prasknout, zlomit se nebo oddělit od stěny tepny. Tělo

reaguje na poranění spuštěním koagulační kaskády, kdy se utvoří sraženina na povrchu cévy, která cévu definitivně uzavře. Průtok krve do srdce nebo mozku je zablokován. Postupný vývoj aterosklerotických lézí je popsán v následujících obr. 11 a-d (McLaren, Ramji, 2009).



**Obr. 11 a:** Průřez zdravou cévou. V počátečním stádiu rozvoje aterosklerózy vznikají na stěně cévy tukové proužky (Bristol-Myers Squibb, 1998)



**Obr. 11 b:** Průřez cévou při začínajícím ukládání cholesterolu. Postupným spojováním a zvětšováním vznikají ateromy, které často vedou k zúžení průsvitu tepny (Bristol-Myers Squibb, 1998)



**Obr. 11 c:** Průřez cévou, při aterosklerotickém plátu. Zmnožením hladkých svalových buněk a zvětšením ateromu vznikají fibroateromy, které výrazně zužují průsvit tepny (Bristol-Myers Squibb, 1998)



**Obr. 11 d: Průřez tepnou při aterosklerotickém plátu s trombem. V zúženém místě může dojít k prasknutí fibroateromu a ke vzniku krevní sraženiny, která cévu částečně nebo úplně uzavře (Bristol-Myers Squibb, 1998)**

Vznik aterosklerózy je podmíněn specifickou odpovědí na nespecifické poškození cévní stěny. V buňkách endotelu se tvoří mediátory, které regulují smáčivost povrchu a mají antikoagulační a antiadhezivní vlastnosti. Regulují propustnost cévy pro buněčné a nebuněčné složky krve. Jednotná hypotéza vzniku aterosklerózy je tvořena lipidovou a endotelovou teorií. Lipidová teorie je založena na ukládání tukových částic do stěny tepny. U endotelové dochází k poškození buněk vnitřní výstelky stěny (Moore, Tabas, 2011).

### **3.1 Poškození endotelu**

Porucha funkce endotelu při zachování morfologické integrity je první vývojovou fází poškození endotelu. Endoteliny jsou vazokonstrikční mediátory produkované endotelem. Regulují propustnost cévní stěny pro některé látky jako například lipoproteiny nebo inzulín. Mezi rizikové faktory poškozující endotel patří kouření, vysoký krevní tlak, porucha metabolismu glukózy a tuků. Spasmu se projeví při shlukování trombocytů nebo zvýšeným průnikem zánětlivých buněk do cévní stěny. Ve vnitřní výstelce cév (*intima*) nalezneme tukové proužky (Golia et al. 2014). Ty se mohou objevovat již v dětském věku, ovšem neovlivňují průtok krve. Pod endotelem ve střední části cévní stěny (*media*) se nacházejí pěnové buňky.

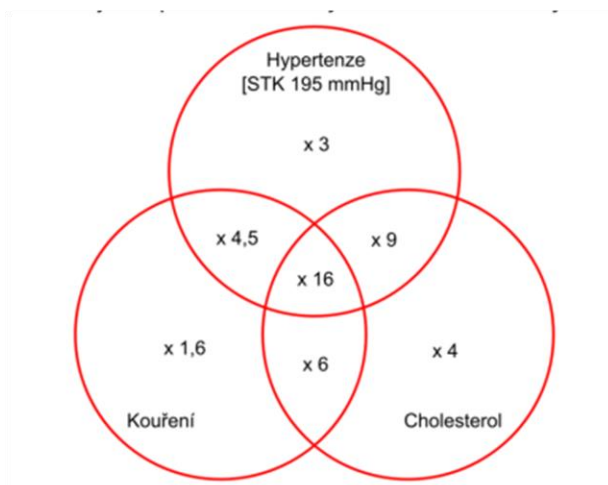
Pěnové buňky vznikají buď z makrofágů, které jsou bohaté na oxidované lipoproteiny nebo z buněk hladkých svalů. Časem se tukové proužky mohou vyvinout v aterosklerotické léze. Dalším obdobím aterosklerózy jsou fibrózní pláty, které cévní stěnu zesílí a prominují do průsvitu arterií. Pláty mohou být buď šedé nebo nažloutlé barvy, podle převažujícího obsahu kolagenní matrix nebo tuků. V plátu je přítomno velké množství pozměněných tukových buněk a pěnových buněk. Pěnové buňky jsou přeplněné tukovými vakuolami. V hlubších vrstvách

se nacházejí kalcifikovaná nekrotická ložiska s obsahem cholesterolových krystalů.

Dalším stupněm jsou komplikované aterosklerotické léze. Jedná se o pláty, které jsou fibrózní, silně kalcifikované a prominují do průsvitu cév. Mohou podléhat ulceraci či ruptuře (Pospíšil, Zeman, 2003). Se zvýšeným obsahem lipidů v jádře plátu stoupá riziko ruptury. Plát je infiltrován makrofágy a T lymfocyty, které uvolňují cytokiny s následným narušením plátu. Samotné léze můžeme rozdělit na stabilní a nestabilní. Nestabilní léze je bohatá na LDL částice cholesterolu s velkým množstvím zánětlivých buněk, které produkují cytokiny. Povrch vnitřní výstelky cévní stěny snadno praská a stává se smáčivým. Následuje shlukování krevních elementů s následným uzávěrem tepny. Naopak stabilní plát má nízký obsah tuků a vyšší obsah kolagenu a nemá tedy tendenci k ruptuře (Bucley et al., 2015). Jeho škodlivost je založena na postupném zužování až k výslednému uzavření.

### 3.2 Rizikové faktory

Rizikové faktory rozdělujeme na ovlivnitelné a neovlivnitelné. Mezi neovlivnitelné řadíme genetickou zátěž, pohlaví, věk, rodinnou anamnézu. Jako ovlivnitelné jsou uvedeny hypertenze, kouření, poruchy metabolismu glukózy, inzulínová rezistence, porucha metabolismu tuků. Mezi zánětlivé iniciátory řadíme LDL lipoproteiny, oxidované LDL, monocyty i různé typy leukocytů, dendritické buňky, T lymfocyty. Zvýšené koncentrace zmíněných leukocytů a cytokinů, bývají u pacientů s aterosklerózou (Pospíšil, Zeman, 2003).



Obr. 12: Vzájemná potenciace rizikových faktorů (Pouter, 1993)

### 3.2.1 LDL

LDL částice hrají důležitou roli v metabolismu cholesterolu. Zprostředkovávají transport pro 70 % celkového cholesterolu v plazmě. Cholesterol transportují do jater i jiných tkání. Na povrchu je apoprotein B-100, který se v játrech naváže na LDL receptor a tím zajistí vychytávání LDL z plazmy. Částice oddělená od receptoru je rozložena v buňce, v lysozomu na volný cholesterol. Další možností odbourání LDL jsou scavenger receptory, které se nacházejí na povrchu makrofágů. Vzhledem k tomu, že LDL jsou molekuly s nejvyšším obsahem cholesterolu, je jejich zvýšená hladina v plazmě velkým rizikem pro rozvoj aterosklerózy. Imunitní odpověď organismu na LDL v intimě, je spuštění chronického zánětu. (Češka, 2012).

### 3.2.2 LDL modifikace

LDL jsou modifikovány volnými radikály. Volné radikály vnikají při enzymových i neenzymových reakcích. Modifikace probíhá především v intimě arterií. Nejčastěji se jedná o oxidaci, acetylaci nebo glykaci. Modifikované lipoproteiny nejsou rozpoznávány receptory v játrech, tudíž nedochází k jejich odbourávání. Váží se pouze na scavenger receptory, kde ale nefunguje zpětná vazba, která napomáhá regulaci koncentrace cholesterolu v buňce. Následuje hromadění cholesterolu v makrofázích, čímž vznikají tzv. pěnové buňky, jakožto základ aterosklerotické léze (McLaren et al., 2011).

Nejčastější formou je oxidovaný LDL, který se rozděluje na mírně a silně oxidovaný. Silně oxidovaný má větší proaterogenní vliv než mírně oxidovaný. Jedná se o výraznou změnu včetně bílkovinné složky. Silně modifikované LDL částice modulují syntézu proaterogenních cytokinů, poškozují endoteliální buňky přímou cytotoxicitou a inhibují NO syntázu, čímž je narušena vazorelaxace arterií. Mírně oxidované LDL částice obsahují zejména lipidové peroxidy bez výraznějších změn apoproteinu B 100. Jsou odpovědné za syntézu MCP-1 (monocytový chemoatrakční protein 1), který napomáhá infiltraci makrofág do arteriální stěny. Dále podporuje specifické adhezivní molekuly, které zprostředkovávají vazbu monocytů na endotel.

Oxidované LDL lipoproteiny jsou při vyšších koncentracích toxické a může být příčinou buněčné smrti v lézích. Prozáňtlivé a imunitně stimulační účinky oxidovaného LDL jsou obdobou zánětlivých účinků fosfolipidů, jako je například lysofosfatidylcholin (LPC), jakožto hlavní fosfolipid v aterosklerotických lézích. Kouření bývá spojováno právě s oxidací lipidů (Frostedgard, 2011).

### 3.2.3 HDL

Lipoproteiny o vysoké hustotě jsou syntetizovány v játrech. HDL se vyskytují v plasmě, kde vycytávají volný cholesterol, fosfolipidy a apolipoproteiny z tkání. HDL jsou nedílnou součástí reverzního transportu cholesterolu. Podílí se na antiaterogenních mechanismech, jako je například inhibice zánětu a apoptózy, snižují viskozitu plazmy, zabraňují oxidaci LDL a snižují expresi adhezivních molekul chemokinů. V Tab. 2 jsou uvedeny fyziologické hodnoty lipidových částic (Luna-Luna et al., 2015).

Tab. 2: Fyziologické hodnoty lipidů (Ignarro, 2005)

Lipoproteiny	Fyziologické hodnoty v krvi (mmol/l)
HDL	1,25-2,59
LDL	0-3,0
triacylglyceroly	0,20-1,70

## 3.3 Adhezivní molekuly

Pro průběh zánětu jsou důležité buněčné interakce. Jedná se zejména o interakce mezi leukocyty a endotelem, leukocyty a hladkými svalovými buňkami. Tyto buněčné reakce zprostředkovávají adhezivní molekuly, které jsou exprimovány na povrchu všech tkání organismu. Účastní se přenosu signálu mezi buňkami a podporují adhezi. Podle strukturních vlastností je rozdělujeme na čtyři základní skupiny: selektiny, integriny, kadheriny a skupinu imunoglobulinů (Pospíšilová, 2009).

### 3.3.1 Selektiny

Selektiny jsou proteiny, které se účastní první fáze interakce mezi lymfocylem a endotelem. Prvním selektinem je E-selektin, který je exprimován na endoteliálních buňkách a zprostředkovává adhezi leukocytů na cévní stěnu. Aby došlo k expresi E-selektinu, musí být nejdříve aktivován endotel zánětlivými

faktory (TNF- $\alpha$  a IL-1) L-selektin je exprimován na leukocytech a na nezralých erytrocytech. Funkcí L-selektinu je zajistit vazbu leukocytu na endotel v místě zánětu. P-selektin se nachází v alfa granulích destiček a je důležitý pro interakci leukocytu a destiček. Po aktivaci histaminem nebo trombinem popřípadě oxidovanými LDL je exprimován P-selektin. E i P-selektin jsou řazeny mezi markery časné aktivace endotelu a podílejí se na iniciaci akumulace makrofágů a T lymfocytů v cévní stěně (Husain, 2015).

### **3.3.2 Integriny**

Integriny jsou transmembránové glykoproteiny exprimované převážně na leukocytech a trombocytech. Ve vztahu k ateroskleróze jsou významné tři skupiny integrinů. Mezi integriny první skupiny patří VLA. Jsou exprimovány na monocytech, T lymfocytech a trombocytech. Jsou odpovědné za navázání složek mezibuněčné hmoty jako kolagen, fibrinogen a fibronectin. Druhou skupinou jsou leukocytární integriny, které se účastní jako komplementové receptory interakce. Třetí skupina integrinů se uplatňuje hlavně při interakci trombocytů se složkami mezibuněčné hmoty. Mají tedy důležitou roli v zachytávání destiček v místě vaskulárního poškození. Jsou zodpovědné za vytvoření pevné a stabilní vazby leukocytů k endotelu v místě zánětlivé reakce.

### **3.3.3 Kadheriny**

Kadheriny jsou transmembránové glykoproteiny, které zprostředkovávají adhezi buněk. Jsou závislé na přítomnosti kalciových iontů. Ve vztahu k ateroskleróze mají největší význam epiteliální E-kadheriny a vaskulární-endoteliální VE-kadheriny. E-kadheriny jsou nepostradatelné pro morfogenezi tkání. Jejich exprese byla zjištěna na pěnových buňkách v lidských ateroskleróзовých lézích. E-kadherin se podílí právě na agregaci pěnových buněk. VE-kadherin je důležitý pro udržení endoteliální integrity a permeability. Jeho porucha vede ke vzniku endoteliální dysfunkce.

### **3.3.4 Imunoglobuliny**

Imunoglobuliny jsou povrchové membránové molekuly, tvořené opakujícími se Ig doménami z  $\beta$  řetězců. Patří zde specifické receptory T a B lymfocytů. Z hlediska vztahu k ateroskleróze jsou nejvýznamnější VCAM-1 (buněčná

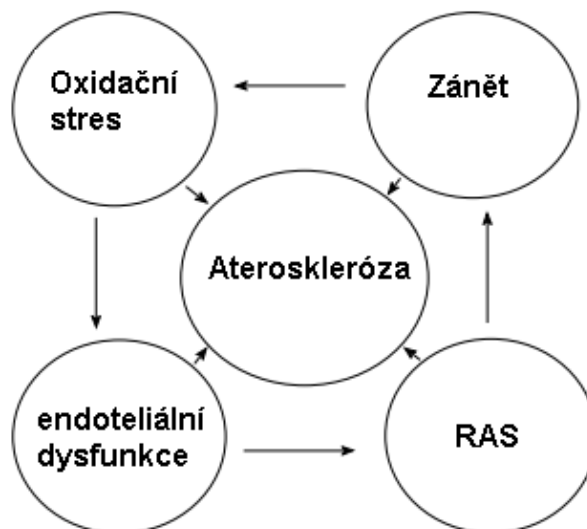


vaskulární adhezní molekula -1), ICAM-1 (intercelulární adhézní molekula -1) a PECAM-1 (endoteliální adhézní molekula -1) (Pospíšilová, 2009).

### 3.4 Systém renin – angiotenzin

Systém renin – angiotenzin hraje důležitou roli v postupu aterosklerotického onemocnění, ovlivněním fyziologie endotelu. Porucha endotelu je spojená s kardiovaskulárním rizikem. Je vytvořena nerovnováha mezi vazodilatačními a vazokonstrikčními faktory. Jedná se zejména o Angiotensin II a sníženou koncentraci NO. Angiotensin II působí na endoteliální funkci i celkový zánět, má přímý vliv na rovnováhu a stabilitu plátu (Husain, 2015). Angiotensin II, podporuje proliferaci buněk, apoptózu, fibrózu a zánět. Angiotensin II způsobuje oxidační poškození cévního systému. Prostřednictvím aktivace NADPH oxidázy dochází k oxidaci biomolekul, včetně lipidů, lipoproteinů i DNA, což vede k poškození endotelu.

Antagonisté Angiotensinu II a inhibitory reninu, mohou zpomalit zánětlivé onemocnění a progresi. Studie zabývající se použitím protizánětlivých činidel u lidí a inhibitorů RAS, odhalily snížení progresu koronární aterosklerózy u pacientů. Snížilo se množství zánětlivých markerů i tloušťka a objem plaku. Nejnovější studie prokázaly i terapeutickou účinnost analogu vitamínu D (Van Thiel et al, 2015). Vztah mezi zánětem, oxidačním stresem, systémem RAS a dysfunkcí endotelu a aterosklerózou je znázorněn na obr. 14



Obr.14: Vztah mezi oxidačním stresem, endoteliální dysfunkcí, zánětem, RAS a aterosklerózou (Husain, 2015)

## 3.5 Leukocyty

Leukocyty se podílí na cytokinové syntéze. Počet leukocytů, je často spojován s různými faktory kardiovaskulárního rizika, jako je kouření, obezita a vysoký krevní tlak (Lind, 2003). Leukocyty adherují k endotelu. K pevnější adhezi monocytů na cévní stěnu s následnou migrací dochází prostřednictvím molekul ICAM a VCAM. Působením cytokinů, dochází k diferenciaci monocytů v makrofágy. M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) stimuluje scavengerové receptory a tím dojde k vychytávání modifikovaných lipoproteinových částic. Makrofágy mohou být také stimulovány k uvolnění IL-1 a TNF  $\alpha$ , které zvýší expresi ICAM, VCAM a E-sektinu na endoteliálních buňkách (Jarpeisad et al., 2014).

### 3.5.1 Makrofágy

Makrofágy se transformují v pěnové buňky a stimulují ve stěně cévy endotelové buňky. Pěnové buňky produkují metaloproteinázy (MMP), které působí proteolyticky proti proteinům pojivové tkáně. Jejich působením dochází k ruptuře aterosklerotického plátu. Makrofágy také produkují tkáňový faktor (TF), který aktivuje prokoagulační a trombogenní proces v plátu. Exprese tkáňového faktoru je regulována mediátory produkovanými makrofágy. Mohou být produkovány dva typy makrofágů, aktivovaný typ M1 a alternativně aktivovaný typ M2. Cytokiny hrají důležitou roli v jejich polarizaci. Th1 a IL-1b, jsou důležité pro produkci makrofágů M1 a naopak Th2 cytokiny, IL-4 a IL13, jsou pro aktivaci M2 makrofágů kritické. M1 makrofágy mají tendenci produkovat prozánětlivé cytokiny – tumor nekrotizující faktor alfa, IL-6. Na druhé straně M2 makrofágy produkují spíše protizánětlivé signály sekrece cytokinů, IL-10. Oba typy se nacházejí v aterosklerotických lézích a jejich vzájemná nerovnováha může přispět k rozvoji plaku a k jeho poruše (McLaren et al, 2011).

### 3.5.2 Protein Sfrp5

Protein Sfrp5 (secreted fizzled-related protein5) je novými studii považován za adipokin s protizánětlivými vlastnostmi. Jeho nejvyšší hladiny nalezneme v bílé tukové tkáni, ve viscerální oblasti. Nedostatek Sfrp5, je spojen se zvýšenou akumulací makrofágů v tukové tkáni, tudíž i zvýšené produkci prozánětlivých látek (adiponektin) (Huet al., 2013).

### 3.5.3 T-lymfocyty

T-lymfocyty jsou iniciátory a regulátory, které hrají důležitou roli při rozvoji aterosklerózy. T buňky jsou heterogenní buňky s různými aktivačními mechanismy. Nejdříve je nutné určit fenotypové vlastnosti subpopulací. Th0 buňka se rozlišuje na Th1 (zánětlivá) a Th2 (pomocná). Diferenciace CD4 na TH1 a Th2 fenotyp je regulována specifickými cytokiny. IL-12 produkovaný aktivními makrofágy, indukuje Th1 cytokinový vzor (Taleb et al., 2015).

Naproti tomu IL-10 jiného makrofágového produktu podporuje diferenciaci Th2. Th1 proinflační cytokiny, interferon gama a tumor nekrotizující faktor alfa. To je výsledkem při aktivaci makrofágů se souběžnou sekrecí cytokinů. Naproti tomu Th2 buňka stimuluje sekreci B buněk, faktor IL-4, podobně i regulátory sekrece cytokinů IL-10 a IL-13. Na regulaci hematopoézy se podílí i IL-3 a IL-5. Th2 tedy podporují diferenciaci B buněk a produkci protilátek, ale také stimulují žírné buňky. T-lymfocyty pronikají spolu s makrofágy do intimy. Jsou aktivovány k sekreci řady cytokinů. Mezi hlavní patří interferon gama a lymfotoxin (tumor nekrotizující faktor beta). Interferon gama tlumí syntézu kolagenu v buňkách hladké svaloviny. Dále ovlivňuje i stabilitu aterosklerotického plátu (Frostedgard, 2011).

### 3.5.4 IL-5

IL-5 bývá definován jako faktor nahrazující T lymfocyty. Podporuje aktivaci B lymfocytů pro jejich diferenciaci a sekreci protilátek. Slouží jako hlavní diferenční faktor pro eozinofily. IL-5 je indukovaný specifickým podtypem LDL (Malondialdehyd LDL), aktivuje imunoglobulin M (IgM) produkovaný B1 buňkami, čímž poskytuje ochranný účinek proti ateroskleróze (Silviera et al., 2015).

## 3.6 Fibrinogen

Fibrinogen je tvořen játry a je to hlavní koagulační protein v plazmě. Působí jako kofaktor pro agregaci trombocytů. Zvyšuje viskozitu krve a adhezivitu leukocytů. Jeho sekrece je regulována množstvím různých cytokinů. Stejně jako CRP souvisí s výskytem kardiovaskulárních rizikových faktorů, včetně kouření. Funguje jako marker zánětu, který je u zdravých jedinců zvýšený (Lindl, 2003).

### 3.7 Interferon $\gamma$

Interferon  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) má jak pro, tak i anti aterogenní účinky. Je pravděpodobné, že působí oběma způsoby při rozvoji aterosklerózy. Je známo, že zhruba  $\frac{1}{4}$  genů uvnitř makrofágů je citlivá na IFN  $\gamma$  při ateroskleróze. IFN  $\gamma$  ovlivňuje jak tvorbu pěnových buněk, tak i adaptabilní Th1 specifickou odpověď a s tím spojený i vývoj plaku. Při vzniku pěnových buněk, IFN  $\gamma$  inhibuje expresi CD36 a výsledkem je snížená absorpce acetylovaného LDL. Tato forma LDL se používá k *in vitro* testování pěnových buněk. IFN  $\gamma$  tak zabraňuje pěnové buňce se formovat. Snižuje také syntézu makrofágového ApoE a naopak zvyšuje expresi acylCoA, který podporuje skladování intracelulárního cholesterolu. Ne všechny změny v expresi genu IFN  $\gamma$  vedou k podpoře pěnových buněk. Například lipoproteinová lipáza (LPL) je u makrofágů proaterogenní, jelikož napomáhá přijímat modifikovaný LDL. Nicméně IFN  $\gamma$  potlačuje expresi LPL, čímž nakonec představuje antiaterogenní působení IFN  $\gamma$ . Navzdory těmto skutečnostem je zřejmé, že ateroprotektivní aktivita v globálním kontextu s IFN- $\gamma$  přispívá k ateroskleróze podporou vzniku pěnových buněk a patologickým narušením cholesterolové homeostázy (McLaren, Ramji, 2008).

### 3.8 TLR

Toll like receptory mohou přímo ovlivňovat tvorbu ateromů. Stimulují makrofágy svými ligandy TLR2, TLR4, TLR9, čímž podporují příjem lipidů. Studie ukazují, že TLR2 a TLR4 přispívají k akumulaci pěnových buněk právě v místech aorty citlivých k tvorbě lézí. TLR4 může stimulovat makropinocytózu lipidů v makrofágu. TLR a jejich ligandy mohou narušovat i mechanismus cholesterolu, který přispívá k tvorbě pěnových buněk. Exprese TLR2 je zvýšena v endotelových buňkách při ateroskleróze, zejména zakřivení aortálního oblouku. Nedávné studie prokázali že TLR jsou čistě proaterogenní, k tomuto tvrzení je zapotřebí rozlišit samotné TLR. Zatímco TLR buněčného povrchu mohou rozvoj aterosklerózy podporovat, intracelulární TLR chrání proti hypercholesterolémi (Seneviratne, 2012).

## 4. ZÁVĚR

Zánět je společným součinitelem pro diabetes a aterosklerózu. Zánět je spojen s obezitou prostřednictvím imunitních buněk, mezi které patří zejména makrofágy a T lymfocyty.

Tuková tkáň je v současné době považována za aktivní sekreční a imunitní orgán. Zvýšením jejího objemu v důsledku dlouhodobé pozitivní energetické bilance dochází k nárůstu produkce adipokinů s prozánětlivým účinkem. Tyto hormony a cytokiny produkované adipocyty i makrofágy působí lokálně v tukové tkáni, současně vykazují systémové účinky. Mohou se tak různou měrou podílet na vzniku patofyziologických změn charakterizujících metabolický syndrom a vedoucích k rozvoji endoteliální dysfunkce a progresi aterosklerózy. Endoteliální dysfunkce a zánět jsou důležitými markery aterogenního procesu a zhoršené prognózy u pacientů s diabetem 2. typu.

Jedním z aktivátorů zánětu jsou tedy lipidy týká se to jak diabetes, tak i aterosklerózy pouze s mírně odlišným mechanismem působení. Závislost hromadění tuku zvyšuje nároky na sekreci inzulínu tudíž roste inzulínová senzitivita, respektive rezistence. Aktivace tukové tkáně je spojena s uvolňováním zánětlivých cytokinů TNF alfa, interleukiny 1 a 6 angiotenzin II CRP jako hlavní marker. Naopak protizánětlivým peptidem je IL 10. Nadměrná nabídka lipidů spojená se vznikem steatózy vede k diabetické hyperglykémii s tím souvisejí i neesterifikované mastné kyseliny.

Mezi nové poznatky v rozvoji a regulaci systémového zánětu patří stres endoplazmatického retikula. Stres endoplazmatického retikula může způsobit smrt a dysfunkci  $\beta$  buněk. Stres může být vyvolán špatnými vnějšími podmínkami jako je například nedostatek živin, hypoxie či nedostatek energie.

Etiopatogeneze aterosklerózy je multifaktoriální. Vzniká jako specifická reakce na nespecifické poškození cévní stěny. Jednoznačná příčina jejího vzniku není zcela jasná, známe ale řadu faktorů, které se na jejím vzniku podílejí a které nazýváme rizikovými faktory. Tyto rizikové faktory se dají rozdělit na základní rizikové faktory, které se dále dělí na ovlivnitelné rizikové faktory (hypercholesterolemie, kouření, hypertenze, diabetes mellitus, fyzická inaktivita, obezita) a neovlivnitelné rizikové faktory (věk, rodinná anamnéza, mužské pohlaví), a další rizikové faktory (zvýšený CRP, a jiné). V boji proti

kardiovaskulárním onemocněním má zásadní význam ovlivnění a léčba rizikových faktorů aterosklerózy.

V současné době je všeobecně akceptována souvislost mezi zvýšenou produkcí určitých faktorů v tukové tkáni a rozvojem metabolických a kardiovaskulárních komplikací. Na druhou stranu i výrazně redukované množství tukové tkáně je doprovázeno četnými metabolickými a endokrinními abnormalitami. Pochopení endokrinní funkce tukové tkáně by mělo výrazně napomoci v hledání efektivních přístupů v terapii patologických stavů spojených s její nadměrnou akumulací či naopak úbytkem. Zkoumání vlastností tukové tkáně a její úloha při rozvoji diabetes, aterosklerózy a komplikací s nimi spojených bude i do budoucna zájmem mnoha studií.

## 5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ALEXAKI V., NOTAS G., et al.: Adipocytes as Immune Cells: Differential Expression of TWEAK, BAFF, and APRIL and Their Receptors (Fn14, BAFF-R, TACI, and BCMA) at Different Stages of Normal and Pathological Adipose Tissue Development. *The Journal of Immunology* [online]. 2009, 183(9), 5948-5956 [cit. 2017-06-20]. DOI:10.4049/jimmunol.0901186.
2. ANDĚL M., et al.: Faktory vedoucí k poškození a destrukci beta buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. *Vnitřní lékařství* [online]. Praha, 2014, 60(9), 684–690 s. [cit. 2017-06-20].
3. ANDĚL M., et al.: Chronický mírný zánět spojuje obezitu, metabolický syndrom, aterosklerózu a diabetes. *Vnitřní lékařství* [online]. Brno, 2009, 55(7-8), 659–665 s. [cit. 2017-06-20]. Dostupné z: <http://www.vnitrnilekarstvi.eu/vnitri-lekarstvi-clanek>
4. BEDNÁŘ B.: Úvod do patologie. Praha: Aviacenum 1982. 682 s.
5. BIDEN T., BOSLEME., CHU KY. SUE N.: Lipotoxic endoplasmic reticulum stress,  $\beta$  cell failure, and type 2 diabetes mellitus. *Trends in Endocrinology & Metabolism* [online]. 2014, 25(8), 389-398 s. [cit. 2017-06-21]. DOI: 10.1016/j.tem.2014.02.003. ISSN 10432760.
6. BMS; Bristol-Myers, SQUIBB. Dopisy vašemu srdci 1.vyd. Praha 1998.
7. BUCKLEY, M. L., RAMJI, B.M.: The influence of dysfunctional signaling and lipid homeostasis in mediating the inflammatory responses during atherosclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* [online]. 2015, 1852(7), 1498-1510 [cit. 2017-06-26]. DOI: 10.1016/j.bbadis.2015.04.011. ISSN 09254439.
8. COLETTA, D.K., BALAS, B., CHAVEZ A.O., et al.: Effect of acute physiological hyperinsulinemia on gene expression in human skeletal muscle in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* May 2008;294(5): 910-917 s.
9. CRUZ, G.N., SOUSA, L.P., SOUSA, M.O., et al.: The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* [online]. 2013, 99(2), 85-92 [cit. 2017-06-21]. DOI: 10.1016/j.diabres.2012.09.003. ISSN 01688227
10. ČEŠKA, Richard. Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií. Vyd. 4., V Tritonu 2. Praha: Triton, 2012. ISBN 978-80-7387-599-2.

11. DESVERGNE, Béatrice.: PPAR $\delta$ / $\beta$ : the lobbyist switching macrophage allegiance in favor of metabolism. *Cell metabolism*, 2008, 7.6: 467-469 s.
12. DOLEŽAL, T.: Adenosine: a selfish-immunity signal *Oncotarget*, 2015, 6.32: 32307 s.
13. DVOŘÁKOVÁ, V.: Molekulární mechanismy glukó-a lipotoxicity u diabetu: Role v patogenezi diabetických[online]. Brno, 2014 [cit 2017-06-17]. 16-24 s. [https://is.muni.cz/th/357548/prif\\_m/](https://is.muni.cz/th/357548/prif_m/) Vedoucí práce Prof. MUDr. Kateřina Kaňková, Ph.D
14. FLANAGAN, S. E., et al.: Mutations in ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel genes cause transient neonatal diabetes and permanent diabetes in childhood or adulthood. *Diabetes*, 2007, 56.7: 1930-1937 s.
15. FRIGOLET M., TORRES N., TOVAR AR.: The renin–angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity. *The Journal of Nutritional Biochemistry* [online]. 2013, 24(12), 2003-2015 s. [cit. 2017-06-21]. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2013.07.002. ISSN 09552863
16. FROSTEGÅRD, Johan. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. *BMC medicine*, 2013, 11.1: 117 s.
17. GOLIA, E., LIMONGELLI, G., NATALE, F., et al.: Inflammation and Cardiovascular Disease: From Pathogenesis to Therapeutic Target. *Current Atherosclerosis Reports* [online]. 2014, 16(9), - [cit. 2017-06-26]. DOI: 10.1007/s11883-014-0435-z. ISSN 1523-3804. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11883-014-0435-z>
18. HALUZÍK, M., TRACHTA, P.; HALUZÍKOVÁ, D.: Hormony tukové tkáně. *Postgraduální medicína*, 2008, 6.10: 625-630.
19. HEGELE, R. A.: Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nature Reviews Genetics*. 2009-1-13, 10(2), 109-121 s. DOI: 10.1038/nrg2481. ISSN 1471-0056
20. HU, W., et al.: Circulating Sfrp5 is a signature of obesity-related metabolic disorders and is regulated by glucose and liraglutide in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2013, 98.1: 290-298 s.
21. HUSAIN, K.: Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis. *World Journal of Biological Chemistry* [online].



- 2015, 6(3), 209 s. [cit. 2017-06-26]. DOI: 10.4331/wjbc.v6.i3.209. ISSN 1949-8454.
22. IBRAHIM, A.S., El-Shishtawy MM, Pena A, Jr., Liou GI. Genistein attenuates retinal inflammation associated with diabetes by targeting of microglial activation. *Mol Vis* [online]. 2010, 16, 2033–2042 s. [cit. 2017-06-20]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
23. IGNARRO L. J.: [Z ANGLICKÉHO ORIGINÁLU. PŘELOŽILA ZUZANA JUNGWIRTHOVÁ]. *Program Ano NO-oxid dusnatý-skutečný zachránce života: konec srdečním chorobám*. Praha: Práh, 2005. ISBN 8072521136.
24. JACKSON, Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* [online]. 2016, 40(Supplement 1), S11-S24 [cit. 2017-06-22]. DOI: 10.2337/dc17-S005. ISSN 0149-5992
25. JAIPERSAD, A. S., et al.: The role of monocytes in angiogenesis and atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 2014, 63.1: 1-11 s.
26. JIALAL, I., KAUR, H.: The Role of Toll-Like Receptors in Diabetes-Induced Inflammation: Implications for Vascular Complications. *Current Diabetes Reports* [online]. 2012, 12(2), 172-179 s. [cit. 2017-06-21]. DOI: 10.1007/s11892-012-0258-7. ISSN 1534-4827
27. KALUPAHANA NS., MOOUSTAID-MOUSSA N., CLAYCOMBE KJ. Immunity as a link between obesity and insuline resistance. *Molecular Aspects of Medicine*. 2012, 33(1), 26-34 s. [cit. 2017-06-20]. DOI: 10.1016/j.mam.2011.10.011
28. KHAN, R., SPAGNOLI, V., TARDIF J-C., L'ALLIER, P.L.: Novel anti-inflammatory therapies for the treatment of atherosclerosis. *Atherosclerosis* [online]. 2015, 240(2), 497-509 [cit. 2017-06-26]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.04.783. ISSN 00219150.
29. KINTSCHER U., HARTGE M., HESS K., et al.: T-lymphocyte Infiltration in Visceral Adipose Tissue: A Primary Event in Adipose Tissue Inflammation and the Development of Obesity-Mediated Insulin Resistance. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [online]. 2008, 28(7), 1304-1310 [cit.20170621]. DOI:10.1161/ATVBAHA.108.165100 ISSN 1079-5642

30. KMONÍČKOVÁ, E., et al., Modulator of intracellular Ca(2+), thapsigargin, interferes with in vitro secretion of cytokines and nitric oxide. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2005. 149(2): 321-4 s.
31. KOLB, H. a T. MANDRUP-POULSEN. The global diabetes epidemic as a consequence of life style induced low grade inflammation. *Diabetologia* [online]. 2010, 53(1), 10-20 [cit. 2017-06-21]. DOI: 10.1007/s00125-009-1573-7.
32. Kraakman MJ, Murphy AJ, Jandeleit-Dahm K, Kammoun HL. Macrophage Polarization in Obesity and Type 2 Diabetes: Weighing Down Our Understanding of Macrophage Function? *Frontiers in Immunology* [online] 2014, 5, 470. [cit. 2017-06-20] DOI:10.3389/fimmu.2014.00470.
33. LIBBY, P.: Inflammation in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2012, 32.9: 2045-2051 s.
34. LIND, L.: Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2003, 169.2: 203-214 s.
35. LIVINGSTON, M., et al.: Real world evidence shows that investing in accuracy of blood glucose monitoring (BGM) strips improves HbA1c control in patients with Type 1 diabetes and patients with Type 2 diabetes. In: *DIABETIC MEDICINE*. 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA: WILEY, 2017. 156-157 s.
36. LUNA-LUNA, M., et al.: Adipose tissue in metabolic syndrome: onset and progression of atherosclerosis. *Archives of medical research*, 2015, 46.5: 392-407 s.
37. MATLOCH, Z.; KOTULÁK, T.; HALUZÍK, M.: The role of epicardial adipose tissue in heart disease. *Physiological research*, 2016, 65.1: 23 s.
38. MCLAREN, J. E., et al. Cytokines, macrophage lipid metabolism and foam cells: implications for cardiovascular disease therapy. *Progress in lipid research*, 2011, 50.4: 331-347 s.
39. MCLAREN, J.E., RAMJI J.P.: Interferon gamma: A master regulator of atherosclerosis. *Cytokine & Growth Factor Reviews* [online]. 2009, 20(2), 125-135 s. [cit. 2017-06-26]. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2008.11.003. ISSN 13596101.

40. MCNELIS, J.C., OLEFSKY, J.M.: Macrophages, immunity, and metabolic disease. *Immunity*, 2014, 41.1: 36-48 s.
41. MONCADA, S.; HIGGS, E. A.: The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British journal of pharmacology*, 2006, 147.S1: 193-S201 s.
42. MOORE, K. J., TABAS J.: Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Cell* [online]. 2011, 145(3), 341-355 [cit. 2017-06-26]. DOI: 10.1016/j.cell.2011.04.005. ISSN 00928674
43. MOSSER, D.M., EDWARDS, J.P.: Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature reviews immunology*, 2008, 8.12: 958-969 s.
44. OLEFSKY, J.M., GLASS CH.K.: Macrophages, Inflammation, and Insulin Resistance. *Annual Review of Physiology* [online]. 2010, 72(1), 219-246 s. [cit. 2017-06-21]. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021909-135846.
45. OLOFSSON, S.-O. BORÉN, J.: Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. *J. Int. Med.*, 258, 395-410 s. (2005) DOI: 10.1111/j.1365-2796.2005.01556.x
46. OSBORN, O., OLEFSKY, J.M.: The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nature medicine*, 2012, 18.3: 363-374 s.
47. PELIKÁNOVÁ, T., BARTOŠ V.: *Praktická diabetologie*. 5., aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, c2011. Jessenius. ISBN 978-80-7345-244-5
48. POSPÍŠIL L., ZEMAN, K.: Ateroskleróza dnes, *Universitas revue Masarykovy university*, Brno, 2003, číslo 1, s 37-43
49. POSPÍŠILOVÁ, N.: Adhezivní molekuly a jejich úloha v modelových patologických stavech *Disertační práce* [online]. Praha, 2009 [cit 2007-06-26] 21-23 s. Vedoucí práce Doc. RNDr. Vladimír Semecký CSc.
50. POULTER, N., SEVER P., THOM, T. et al.: *Cardiovascular disease : Risk factors and intervention*. 1. vydání. Oxford : Radcliffe Medical Press, 1993. 351 s. ISBN 9781870905541.
51. PRADHAN, A.D., et al.: C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama*, 2001, 286.3: 327-334 s.

52. RAMJI, D.P., DAVIES, T.S.: Cytokines in atherosclerosis: Key players in all stages of disease and promising therapeutic targets. *Cytokine & growth factor reviews*, 2015, 26.6: 673-685 s.
53. REAVEN GM. Banting lecture 1988. Role of insuline resistance in human disease. *Diabetes* 1988, 37, 1595-1607 s.
54. REYNA, S.M., GHOSH, S., TANTIWONG, P., et al.: Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects. *Diabetes*. Oct 2008;57(10):2595-2602. 119
55. ROGLIC, G.: *Global report on diabetes*. ISBN 9789241565257.
56. ROKYTA, R.: *Fyziologie a patologická fyziologie: pro klinickou praxi*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4867-2.
57. SENEVIRATNE, A.N., SIVAGURUNATHAN, B.; MONACO, C.: Toll-like receptors and macrophage activation in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, 2012, 413.1: 3-14 s.
58. SILVEIRA, A., et al.: Plasma IL-5 concentration and subclinical carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2015, 239.1: 125-130 s.
59. SCHAFFER, S. W., JONG, CH.J., MOZAFFARI, M.: Role of oxidative stress in diabetes-mediated vascular dysfunction: unifying hypothesis of diabetes revisited. *Vascular pharmacology*, 2012, 57.5: 139-149 s.
60. SPINAS, E., et al. Role of mast cells in atherosclerosis: a classical inflammatory disease. 2014
61. SZABO, C.: Role of nitrosative stress in the pathogenesis of diabetic vascular dysfunction. *British journal of pharmacology*, 2009, 156.5: 713 - 727s.
62. SZABÓ, C.: Roles of poly (ADP-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. *Pharmacological research*, 2005, 52.1: 60-71 s.
63. SVAČINA, Š.: Systém renin-aldosteron v tuku a v dalších orgánech a tkáních. *Vnitřní lékařství*, 2008, 54.5: 508-510 s.
64. ŠKRHA, J.: Diabetes mellitus—a global pandemic Keynote lecture presented at the Wonca conference in Prague in June 2013. *The European journal of general practice*, 2014, 20.1: 65-68 s.

65. ŠKRHA, J.: Diabetes mellitus 2. typu jako subklinický zánět. *Čas Lék Čes*, 2010, 149.6: 277-81 s.
66. TALEB, S., TEDGUI, A., MALLAT, Z.: IL-17 and Th17 Cells in Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2015, 35.2: 258-264 s.
67. VAN THIEL, B.S., et al.: The renin–angiotensin system and its involvement in vascular disease. *European journal of pharmacology*, 2015, 763: 3-14 s.
68. VINCENZ, L., et al.: Cytokine-induced  $\beta$ -cell stress and death in type 1 diabetes mellitus. In: *Type 1 Diabetes-Complications, Pathogenesis, and Alternative Treatments*. InTech, 2011.
69. WINER, D. A., et al. B Lymphocytes in obesity related adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 2014, 71.6: 1033 s.
70. WEISBERG, S.P., et al.: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of clinical investigation*, 2003, 112.12: 1796-1808 s.
71. WHITE, M. F.: IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002 283:E413-22 s.
72. XU, J., ZHANG, S.: Mitogen-activated protein kinase cascades in signaling plant growth and development. *Trends in Plant Science*, 2015, 20.1: 56-64 s.
73. ZIGMOND, E., et al.: Macrophage-restricted interleukin-10 receptor deficiency, but not IL-10 deficiency, causes severe spontaneous colitis. *Immunity*, 2014, 40.5: 720-733 s.
74. ZIMA, T.: *Laboratorní diagnostika. 3., dopl. a přeprac. vyd.* Praha: Galén, c2013. ISBN 978-80-7492-062-2