

**Univerzita Karlova**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Antropologie a genetika člověka



**Bc. Denisa Chocholová**

Metabolická specifika osob se zvýšeným rizikem rozvoje diabetes mellitus 2. typu

Metabolic specifics of persons with increased risk of developing type 2 diabetes mellitus

**Diplomová práce**

Školitel: RNDr. Daniela Vejražková, Ph.D.

Praha, 2024

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 30.4.2024

---

Bc. Denisa Chocholová

**Poděkování:**

Ráda bych zde poděkovala mojí školitelce RNDr. Daniele Vejražkové, Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky a odborné vedení. Velice si vážím veškerého času, trpělivosti a obdivuhodné ochoty, která mi byla věnována v průběhu zpracování diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala za pomoc dalším členům Oddělení molekulární endokrinologie Endokrinologického ústavu v Praze. Děkuji také mé rodině za velkou podporu a obětavost během mého studia.

## **Abstrakt:**

Diabetes mellitus 2. typu (DM2) je metabolická porucha charakterizovaná zvýšenou hladinou glukózy v krvi. Problematika onemocnění a jeho prevence je velmi aktuální, v důsledku zvyšující se prevalence obezity v posledních letech dochází k neustálému nárůstu nově diagnostikovaných jedinců, predikce pro rok 2030 počítá až s 11 % světové populace.

Cílem diplomové práce je zhodnotit dynamiku zpracování glukózy během 3h orálního glukózového tolerančního testu (OGTT) u osob se zvýšeným rizikem rozvoje DM2 a u kontrolního souboru zdravých osob, s přihlédnutím k intersexuálním rozdílům. Informace obsažená v průběhu glykemické trajektorie může být významná jak z hlediska predikce případného narušení glykoregulace, tak i dalších komplikací, jako je dyslipidémie a ostatní složky metabolického syndromu (MS). Mohla by tak přispět k prodloužení časového intervalu vhodného pro velmi časnou, a tedy účinnější prevenci. Dále práce hodnotí určité varianty genů, které mohou zvyšovat riziko rozvoje DM2. V tomto kontextu byly zkoumány geny *MTNR1B* a *NME7*.

Prodloužený 3h OGTT podstoupilo 1262 jedinců (1035 žen a 227 mužů) s různým stupněm glukózové tolerance. Účastníci byli sledováni z hlediska antropometrie, biochemie, tvaru glykemické křivky, načasování glykemického vrcholu a jeho výše.

Z výsledků vyplývá, že nejvíce křivek bylo monofazických, poté trifazických, bifazických a nejméně bylo křivek multifazických. U mužů byly častěji zastoupeny bifazické křivky, zatímco u žen křivky trifazické. Monofazická křivka byla častější u osob s poruchou regulace glukózy a s vyjádřenými složkami MS. Také zpoždění glykemického vrcholu bylo asociováno se zhoršením glukózové tolerance, přítomností MS a docházelo k němu nejčastěji u monofazických křivek. Analýza genu *MTNR1B* odhalila vyšší frekvenci rizikové varianty ve skupině osob s poruchou glukózového metabolismu. Z dynamické fáze zpracování glukózy vyplývá, že riziková alela snižuje či opoždí velmi ranou sekreci inzulínu, což následně během testu ústí ve vyšší hladinu glukózy v krvi. Analýza 5 polymorfismů genu *NME7* odhalila, že tyto varianty jsou asociované s tvarem glykemické křivky, a tedy se způsobem, jak organismus zpracovává glukózu.

Závěrem lze shrnout, že nejvýznamnější marker predikující horšení glukózové tolerance a předznamenávající rostoucí riziko rozvoje i dalších metabolických komplikací představuje monofazická křivka zkombinovaná s opožděným glykemickým vrcholem. Tvar křivky se

také ukazuje být závislý na pohlaví, což by mohlo být zajímavé z klinického pohledu, zejména pokud jde o diagnostická kritéria poruch glukózové regulace.

**Klíčová slova:** diabetes mellitus 2. typu, orální glukózový toleranční test, glykemická křivka, *MTNR1B*, *NME7*

## **Abstract:**

Diabetes mellitus type 2 (DM2) is a metabolic disorder characterized by elevated blood glucose levels. The issue of the disease and its prevention is very topical, with the increasing prevalence of obesity in recent years leading to a constant rise in newly diagnosed individuals, with predictions for 2030 estimating up to 11 % of the world's population.

The aim of the thesis is to evaluate the dynamics of glucose processing during a 3-hour oral glucose tolerance test (OGTT) in individuals at increased risk of developing DM2 and in a control group of healthy individuals with consideration of intersex differences. Information inherent in the glycemic trajectory could be significant both in terms of predicting potential glycemic dysregulation and other health complications such as dyslipidemia and other components of the metabolic syndrome (MS). It could thus contribute to extending the time interval suitable for very early and therefore more effective prevention. Furthermore, the thesis evaluates certain gene variants that may increase the risk of developing DM2. In this context, the genes *MTNR1B* and *NME7* were investigated.

A total of 1262 individuals (1035 women and 227 men) with various degrees of glucose tolerance underwent the extended 3-hour OGTT. Participants were examined in terms of anthropometry, biochemistry, shape of the glycemic curve, timing of the glycemic peak, and its maximum height reached.

The results indicate that the majority of glycemic curves were monophasic, followed by triphasic, biphasic, and the least common were multiphasic curves. Biphasic curves were more common in men, while triphasic in women. Monophasic curves were more frequent in individuals with impaired glucose regulation and with components of MS present. Delayed glycemic peak was also associated with worsened glucose tolerance, presence of MS, and occurred most frequently in subjects with monophasic curves. Analysis of the polymorphism in the *MTNR1B* gene revealed a higher frequency of the risk variant in the group of individuals with impaired glucose metabolism. The dynamic phase of glucose processing implies that the risk allele reduces or delays very early insulin secretion, which subsequently leads to higher blood glucose levels during the test. Analysis of 5 polymorphisms of the *NME7* gene revealed that these variants are associated with the shape of the glycemic curve and thus with the way the body processes glucose.

In conclusion, the most significant marker predicting the deterioration of glucose tolerance and indicating an increasing risk of developing further metabolic complications is represented by a monophasic curve combined with delayed glycemic peak. The shape of the

curve also appears to be sex-dependent, which could be of clinical interest, especially in terms of diagnostic criteria for glucose tolerance.

**Key words:** diabetes mellitus type 2, oral glucose tolerance test, glycemic curve, *MTNR1B*, *NME7*

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>12</b>
1.1	Charakteristika diabetes mellitus	12
1.2	Diabetes mellitus 2. typu	13
1.2.1	Epidemiologie	14
1.2.2	Rozvoj onemocnění	14
1.2.3	Role inzulínu	15
1.2.4	Proinzulín	17
1.2.5	Glukagon	18
1.2.6	Prediabetes a inzulínová rezistence	18
1.2.7	Rizikové faktory pro rozvoj DM2	21
1.3	Genetika diabetes mellitus 2. typu	23
1.3.1	MTNR1B	24
1.3.2	NME7	28
1.4	Diagnostika DM2	30
1.5	Pohlavní variabilita	31
1.5.1	Pohlavní variabilita a DM2	32
<b>2</b>	<b>Cíle a hypotézy</b>	<b>35</b>
<b>3</b>	<b>Studované soubory</b>	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>Metody</b>	<b>38</b>
4.1	Anamnestická část	38
4.1.1	Dotazníky osobní a rodinné anamnézy	38
4.1.2	Spánkový dotazník	39
4.2	Antropometrická část	39
4.2.1	Tělesná výška	39
4.2.2	Tělesná hmotnost	39
4.2.3	Obvodové tělesné rozměry	40
4.2.4	Měření tloušťky kožních řas	40
4.2.5	Tělesné složení	41
4.3	Biochemická část	42
4.3.1	Stanovení proinzulínu – ELISA	43
4.3.2	Stanovení glukagonu – RIA	44
4.3.3	Orální glukózový toleranční test (OGTT)	46
4.3.4	Indexy IS/IR	46
4.4	Genetická část	47
4.4.1	Izolace DNA	47
4.4.2	RealTime PCR	48
4.5	Statistická část	50
<b>5</b>	<b>Výsledky</b>	<b>52</b>
5.1	Průběh glykemické křivky	52
5.1.1	Tvar glykemické křivky	52
5.1.2	Umístění glykemického vrcholu	55



5.3	Intersexuální rozdíly v dynamice zpracování glukózy .....	67
5.4	Polymorfismy genů MTNR1B a NME7 .....	71
5.4.1	MTNR1B .....	71
5.4.2	NME7 .....	77
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>80</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>86</b>
<b>8</b>	<b>Seznam literatury .....</b>	<b>89</b>
<b>9</b>	<b>Přílohy .....</b>	<b>89</b>

## Seznam zkratek

ATP	Adenosine triphosphate
AUC	Area Under the Curve
BAI	Body Adiposity Index
BIA	Bioelektrická impedanční analýza
BMAL1	Brain and muscle aryl-hydrocarbon receptor nuclear translocator-like 1
BMI	Body Mass Index
cAMP	Cyklický adenosinmonofosfát
CLOCK	Circadian locomotor output cycles kaput
CNS	Centrální nervová soustava
CRISPR/Cas9	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
Cry	Cryptochrome
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus 1. typu
DM2	Diabetes mellitus 2. typu
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
E-box	Enhancer box
E-typ	Evening-type
FFA	Free Fatty Acids
FPG	Fasting Plasma Glucose
GDM	Gestační diabetes mellitus
GLUT4	Glucose Transporter type 4
GPCR	G protein-coupled receptor
GTP	Guanosine triphosphate
GWAS	Genome-Wide Association Studies
HbA1c	Glykovaný hemoglobin
HDL	High-density lipoprotein
IFG	Impaired Fasting Glucose
IGI	Insulinogenic index
IGR	Impaired Glucose Regulation
IGT	Impaired Glucose Tolerance
INS	The human insulin gene

IPGTT	Intraperitoneální glukózový toleranční test
IR	Inzulínový receptor
IRS-1	Substrát inzulínového receptoru
LCL	Lower confidence limit
LDL	Low-density lipoprotein
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MODY	Maturity-onset diabetes of the young
MS	Metabolic syndrome
MT <sub>1</sub>	Melatonin receptor 1A
MT <sub>2</sub>	Melatonin receptor 1B
MTNR1A	The melatonin receptor 1A gene
MTNR1B	The melatonin receptor 1B gene
M-typ	Morning-type
NDP	Nucleoside diphosphate
NDPK	Nucleoside-diphosphate kinase
NME 1-10	Nucleoside diphosphate kinase 1-10 gene, non-metastasic cells
NTP	Nucleoside triphosphate
N-typ	Neither-type
OGTT	Orální glukózový toleranční test
PCOS	Syndrom polycystických ovarií
PCR	Polymerase chain reaction
Per	Period
PGT	Porušená glukózová tolerance
PI3K	Fosfatidyl-inositol 3-kináza
PIP3	Fosfatidyl-inositol-3,4,5-trifosfát
qPCR	Quantitative polymerase chain reaction
RORs	Retinoic Acid-Related Orphan Receptors
SCN	The suprachiasmatic nucleus
SNPs	Single nucleotide polymorphisms
TK	Tlak krve
UCL	Upper confidence limit
WHR	Waist-to-hip ratio

# 1 Úvod

## 1.1 Charakteristika diabetes mellitus

Pod pojmem diabetes mellitus se skrývají heterogenní poruchy metabolismu, pro něž je specifický stav chronické hyperglykémie, která může být způsobena porušenou sekrecí inzulínu či jeho nedostatečným účinkem (Kerner a Brückel, 2014). V důsledku nezdravého životního stylu a následného zvýšení prevalence obezity dochází v posledních letech k obrovskému nárůstu počtu diagnostikovaných jedinců. V roce 2021 byl počet nemocných s diabetem stanoven na 537 milionů, přičemž do roku 2030 je predikován nárůst na 643 milionů jedinců a do roku 2040 na 783 milionů jedinců, což představuje přes 11 % světové dospělé populace. Počty diabetiků za rok 2021 ještě doplní 541 milionů jedinců s porušenou glukózovou tolerancí, kteří mají vysoké riziko rozvoje diabetes mellitus 2. typu. Do roku 2045 se očekává nárůst jedinců s porušenou glukózovou tolerancí na 730 milionů, což představuje 11,4 % všech dospělých (International Diabetes Federation, 2021). Zátěž systému zdravotní péče nesmírně naroste i z toho důvodu, že u jedinců s diagnostikovaným diabetem je vyšší pravděpodobnost rozvoje kardiovaskulárních chorob či nádorových onemocnění (Baena-Díez et al., 2016).

Diabetes mellitus se může projevit v různých formách, přičemž mezi nejvíce zastoupené se řadí diabetes mellitus 1. typu a diabetes mellitus 2. typu. Klasifikace je zásadní z hlediska volby léčebného postupu, avšak v některých případech může být v době diagnózy velmi obtížné stanovit, o jaký typ se jedná (ElSayed et al., 2023).

Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je chronické autoimunitní onemocnění projevující se absolutním deficitem inzulínu, který je způsobený destrukcí pankreatických beta buněk vlastním imunitním systémem. Porušená sekrece inzulínu následně vede ke zvyšující se hladině glukózy a tím ke vzniku hyperglykémie (Li et al., 2016). Jelikož u těchto lidí dochází k velmi malé či dokonce žádné produkci inzulínu, je nutné tento stav řešit každodenním podáváním inzulínových injekcí a také monitorováním hladiny glukózy v krvi (International Diabetes Federation, 2021). Pro DM1 je charakteristické, že se manifestuje u dětí a mladých dospělých (obvykle pod 35 let) s normálním a často i nižším BMI (z angl. body mass index) (Buzzetti et al., 2017; ElSayed et al., 2023). Recentní studie však předkládají epidemiologické údaje, které ukazují zvýšenou incidenci i u starších dospělých (Weng et al., 2018; Thomas et al., 2018). Diagnóza DM1 je ve skupině jedinců ve věku od 30 do 60 obtížnější než u jedinců ve věku do 30 let, a to zejména kvůli souběhu s četnějším výskytem

diabetes mellitus 2. typu, který se typicky objevuje u starší populace (Thomas et al., 2018). Na rozvoji DM1 se zásadně podílejí genetické faktory, ale významné jsou i interakce mezi genetickou predispozicí a určitými environmentálními faktory, které autoimunitní reakci spouští (Skyler et al., 2017). Jistým prediktorem DM1 je déletrvající přítomnost dvou nebo více protilátek v krvi. Následně podle typu, počtu a specifitě protilátek a věku jedince lze alespoň rámcově predikovat rychlost rozvoje onemocnění (ElSayed et al., 2023).

Diabetes mellitus 2. typu (DM2) je nejrozšířenější typ, řadí se sem více než 90 % jedinců diagnostikovaných s diabetem (Sakran et al., 2022). Bude mu věnována samostatná kapitola 1.2.

Diabetes manifestující se v těhotenství se označuje jako gestační diabetes mellitus (GDM). Je to stav glukózové intolerance, která se rozvíjí během druhého či třetího trimestru těhotenství (You et al., 2021). V průběhu let dochází k neustálému zvyšování prevalence GDM, stejně jako je tomu u výskytu obezity i DM2. Z výzkumu vychází, že GDM postihuje až 16,7 % všech těhotných žen (International Diabetes Federation, 2021). GDM sdílí mnoho rizikových faktorů s DM2. Nejvýznamnějším rizikovým faktorem je obezita/nadváha matky, dále pokročilý věk matky či rodinná anamnéza porušené glukózové tolerance nebo diabetu 2. typu (Pu et al., 2015). Gestační diabetes mellitus se následně stává významným rizikovým faktorem pro pozdější rozvoj porušené glukózové tolerance či DM2 (Hakkarainen et al., 2015). GDM představuje pro průběh těhotenství specifická rizika zahrnující např. makrosomii, preeklampsii, spontánní potrat či úmrtí plodu (American Diabetes Association, 2022).

Rozeznávají se i specifické typy diabetes mellitus, mezi které patří např. monogenní diabetes, kam se řadí novorozenecký diabetes nebo diabetes manifestující se u mladých lidí (MODY). U monogenního DM, jímž trpí 2-3 % dětí a mladých dospělých, vzniká hyperglykémie v důsledku zděděné či de novo ztráty funkce určitého genu zásadního pro glykoregulaci. Dalším typem je diabetes vyvolaný různými chemickými látkami či léky (ElSayed et al., 2023; Chung et al., 2020).

## **1.2 Diabetes mellitus 2. typu**

Diabetes mellitus 2. typu je chronické metabolické onemocnění projevující se inzulínovou rezistencí, kombinovanou případně s nedostatečnou sekrecí inzulínu, což má za následek relativní nedostatek inzulínu a následný vzestup lačné glykémie nad kritickou

hranici (Sakran et al., 2022). Ačkoli se u diabetiků 2. typu objevuje relativní nedostatek inzulínu, ve většině případů není nutná léčba injekčně podávaným inzulínem (ElSayed et al., 2023).

Příčin vzniku diabetes mellitus 2. typu je více, avšak je jisté, že u jedinců s DM2 nedochází k autoimunitní reakci vedoucí k destrukci beta buněk. Velmi častým znakem je přítomná nadváha či obezita, především větší procento tukové tkáně v abdominální oblasti, což samo o sobě zapříčiňuje rozvoj inzulínové rezistence (ElSayed et al., 2023).

Typickým příznakem DM2 je hyperglykémie, která se však rozvíjí postupně a v počátečních stádiích nemusí být závažná ani doprovázená charakteristickými symptomy (polydipsie, polyurie). Z tohoto důvodu je DM2 často mnoho let nediagnostikován, což pro jedince představuje poměrně vysoké riziko rozvoje makrovaskulárních i mikrovaskulárních komplikací (ElSayed et al., 2023).

### **1.2.1 Epidemiologie**

Projevy DM2 i obezita se mohou lišit v závislosti na etnické příslušnosti jedince. Rozdíly spočívají zejména v etnicky specifické akumulaci tukové tkáně, za což je zodpovědná interakce genů a vnějšího prostředí, k níž dochází již během raného vývoje jedince a následně je formována životními návyky v pozdějším věku (International Diabetes Federation, 2021). Stejně jako je mezi etnickými populacemi odlišný fenotyp DM2, je pravděpodobné, že rozdílné bude i působení léků a samotný průběh léčby (Chung et al., 2020).

Jak bylo zmíněno výše, počet jedinců s onemocněním DM2 neustále stoupá a dosahuje alarmujících čísel. S narůstající prevalencí také souvisí enormní zvýšení finančních nákladů na zdravotní systém (International Diabetes Federation, 2021). Zvyšuje se i počet dětí a dospívajících s DM2 a ukazuje se, že průběh DM2 dětí se liší nejen od DM1, ale i od DM2 dospělých, zejména rychlým a progresivním poklesem funkce beta buněk produkujících inzulín a rychlým rozvojem diabetu (American Diabetes Association, 2022).

### **1.2.2 Rozvoj onemocnění**

U neléčených jedinců s diabetes mellitus 2. typu je přítomna hyperglykémie, což je hladina glukózy v krvi přesahující kritickou hranici 7 mmol/l. U těchto jedinců se velmi často současně vyskytují další charakteristické metabolické abnormality, jako je obezita

doprovázená vyšší koncentrací volných mastných kyselin v plazmě (FFA) a také zvýšenou hladinou zánětlivých cytokinů. Kombinace hyperglykémie, zvýšených hladin FFA a zánětlivých cytokinů vede k prohlubování inzulínové rezistence (DeFronzo a Tripathy, 2009). FFA se ukládají zejména v tukových buňkách jako triacylglyceroly a jsou ovlivňovány hormonem inzulínem, který jako antilipolytický hormon omezuje uvolňování FFA z adipocytu, konkrétně dochází k inhibici enzymu lipázy. U jedinců s DM2 jsou však adipocyty silně rezistentní k vlivu inzulínu, čímž dochází ke zvyšování koncentrace FFA v plazmě (Bays et al., 2004; DeFronzo, 2004).

Na zvýšenou hladinu glykémie v krvi reagují beta buňky zvýšenou sekrecí inzulínu, což může představovat až 2,5 krát vyšší hodnotu, než je u zdravých jedinců. Dlouhodobá vysoká koncentrace hladin inzulínu má nepříznivý vliv na citlivost kosterního svalstva na inzulín. Beta buňky nejsou schopné dlouhodobě udržovat vysokou produkci inzulínu a ve fázi nemoci, kdy lačná glykémie dosahuje setrvale koncentrací nad 8 mmol/l, dochází k postupnému slábnutí inzulínové sekrece. Ve stavu takto snížené produkce inzulínu dochází ke zvýšení produkce glukózy v játrech a prohlubuje se hyperglykémie společně s glukózovou intolerancí (DeFronzo, 2004).

### **1.2.3 Role inzulínu**

Inzulín je peptidový hormon produkovaný beta buňkami Langerhansových ostrůvků slinivky břišní. Jeho funkce je zprostředkována přes specifické receptory, které jsou umístěné na plazmatických membránách cílových buněk (Haeusler et al., 2018).

Inzulín se na homeostáze glukózy podílí zejména přímým účinkem na kosterní svalstvo, játra a bílé adipocyty tukové tkáně. Každá tkáň přispívá ke kontrole hladiny glukózy jiným způsobem, a proto jsou potřebné tkáňově specifické dráhy přenosu signálu inzulínu. Působení inzulínu na kosterní svalstvo způsobí zvýšený transport glukózy do svalu a vyšší produkci glykogenu. V játrech prostřednictvím působení inzulínu dochází k aktivaci tvorby glykogenu, zvyšuje se exprese lipogenních genů, a naopak se snižuje exprese glukoneogenních genů. V bílé tukové tkáni dochází k potlačení lipolýzy, ke zvýšení transportu glukózy do adipocytů a k lipogenezi (Petersen a Shulman, 2018).

Kosterní svalstvo představuje aktivní složku pohybového systému a tvoří přibližně 40 % tělesné hmotnosti (Kim et al., 2016). Jelikož kosterní svalstvo zaujímá takový objem,

je zodpovědné za 80 % postprandiálního vychytávání glukózy z oběhu (Merz a Thurmond, 2020).

Ačkoli je působení inzulínu nezbytné pro správné fungování organismu, existují tkáně, které jsou při transportu glukózy na inzulínu nezávislé, jako např. mozek, celkově nervová tkáň a také erytrocyty (Yeagle, 2016; Ebeling et al., 1998). Za pozornost stojí fakt, že mozek je zodpovědný za spotřebu 50-60 % glukózy z krve nalačno a při rozvoji DM2 se rychlost vychytávání glukózy mozkiem nijak nemění (DeFronzo, 2004).

Jak bylo zmíněno výše, u inzulín-dependentních tkání zprostředkovává inzulín transport glukózy do buněk tkání působením přes inzulínový receptor (IR), čímž dochází k aktivaci kaskády fosforylačních a defosforylačních reakcí. Ve svalovém vlákne po vazbě inzulínu na inzulínový receptor dochází k fosforylaci tyrosinu na substrátu inzulínového receptoru (IRS-1), což následně spouští další signální dráhy. Klíčovou dráhou zodpovědnou za metabolickou aktivitu inzulínu je dráha fosfatidyl-inositol 3-kinázy (PI3K) a protein kinázy B. Fosforylací tyrosinu IRS-1, což je nejvíce zastoupený substrát inzulínového receptoru, dochází k aktivaci regulační podjednotky PI3K, což následně aktivuje katalytickou podjednotku, která způsobí vyšší tvorbu fosfatidyl-inositol-3,4,5-trifosfátu (PIP3). Důsledkem aktivace PIP3 je fosforylace protein kinázy B, též nazývané Akt. Fosforylací Akt dochází k translokaci glukózového transportéru (GLUT4) do cytoplazmatické membrány svalových vláken, čímž následně vstupuje glukóza dovnitř buněk (Taniguchi et al., 2006).

GLUT4 je hlavní glukózový transportér řídící transport glukózy do svalové a tukové tkáně, které fungují jako zásobárna pro inzulín-dependentní příjem glukózy. GLUT4 je exprimován především v kosterním a srdečním svalstvu a také v bílých i hnědých adipocytech (Bryant a Gould, 2020; Klip et al., 2019). GLUT4 tedy zajišťuje odvádění nadbytku glukózy z krevního oběhu a má klíčovou roli v udržení homeostázy glukózy (Huang a Czech, 2007).

V substrátu inzulínového receptoru IRS-1 bylo také nalezeno velké množství míst umožňujících fosforylaci serinu a tato modifikace zřejmě negativně reguluje signalizaci dané molekuly, čímž zprostředkovává negativní zpětnou vazbu pro dráhu inzulínové rezistence. Bylo zjištěno, že fosforylace serinu v IRS-1 je zvýšena ve stavu inzulínové rezistence a předpokládá se její role v rozvoji patogeneze této metabolické poruchy (Taniguchi et al., 2006).



#### 1.2.4 Proinzulín

Pro správnou regulaci inzulínové sekrece je zásadní bezchybná formace a uvolnění zralého inzulínu, což je složitý proces. Inzulín vzniká z prekursoru zvaného proinzulín, avšak ještě před vznikem samotného proinzulínu stojí preproinzulín, který je tvořen v beta buňkách pankreatu. Skládá se ze signálního peptidu následovaného celým proinzulínem, tedy segmenty odpovídajícími inzulínovému B-řetězci, inzulínovému A-řetězci a C-peptidu. Biosyntéza preproinzulínu je zahájena v cytosolu a následně je tato molekula vedena svým signálním peptidem do endoplazmatického retikula (Liu et al., 2018). V endoplazmatickém retikulu dochází k odštěpení signálního peptidu za vzniku proinzulínu (Weiss, 2009).

Proinzulín se skládá z 86 zbytků situovaných do třech řetězců: inzulínového B-řetězce, inzulínového A-řetězce a spojovacího peptidu (C-peptid) a mezi nimi nastává tvorba tří konzervovaných proinzulínových disulfidických vazeb. Lidský proinzulín je kódován genem INS a pro tvorbu inzulínu je nezbytné jeho správné složení (Weiss, 2009; Vaňková et al., 2023). Jako vhodné markery pro stanovení správné aktivity beta buněk se ukazují poměry proinzulínu k C-peptidu a proinzulínu k inzulínu, které slouží pro detekci stresu endoplazmatického retikula a možnosti vzniku aberantního zpracování proinzulínu. Pokud se v krvi vyskytuje vysoké množství proinzulínu, ukazuje to na zhoršující se funkci beta buněk, které sice produkují proinzulín, ale v důsledku určitého poškození ho nejsou schopny správně využít na tvorbu aktivního inzulínu (Vaňková et al., 2023; Freese et al., 2021).

Inzulín se z proinzulínu uvolňuje v sekrečních granulech, ve kterých dochází k proteolytickému štěpení konvertázami, při kterém je odštěpen C-peptid (Weiss, 2009). Zralý inzulín je tak tvořen A-řetězcem a B-řetězcem, které jsou propojeny disulfidickou vazbou. Inzulín je uložen v sekrečních granulech, ze kterých se po stimulaci živinami uvolňuje do portálního oběhu (Vaňková et al., 2023). Velká část čerstvě uvolněného inzulínu je spotřebována játry, jedná se o tzv. clearance inzulínu, která významně reguluje množství inzulínu, který se dále dostává do periferních tkání. Uvádí se, že během prvního průchodu játry je degradováno 50-80 % množství inzulínu, což znamená, že koncentrace cirkulujícího inzulínu je v periférii oproti portálnímu řečišti výrazně nižší (Tokarz et al., 2018; Meier et al., 2005). Z tohoto důvodu je pro stanovení sekrece inzulínu a hodnocení funkce beta buněk vhodný C-peptid, jehož produkce beta buňkami je ve vztahu k inzulínu ekvimolární a koncentračně zůstává i v periferní krvi játry nezměněn. C-peptid je vhodný zvláště u pacientů užívajících inzulín, u kterých by inzulínové testy detekovaly také exogenní inzulín (Jones a Hattersley, 2013).

### 1.2.5 Glukagon

Správná funkce inzulínu je v organismu zcela závislá na jeho harmonické souhře s kontraregulačními hormony. Jedním z nejdůležitějších je glukagon, který dokáže zdravý organismus ochránit před případnou hypoglykemií, která by se mohla rozvinout v důsledku působení inzulínu. Glukagon je lineární peptid tvořený z 29 aminokyselin a je produkován alfa buňkami slinivky břišní (Müller et al., 2017). Glukagon se uvolňuje po navázání na GPCR receptor (receptor spřažený s G-proteinem), který je hojně exprimován zejména v játrech, a způsobuje rozklad jaterního glykogenu, čímž se zvýší hladina glukózy v krvi (Jia et al., 2022). Tého schopnosti se využívá ve vážných stavech hypoglykemického kómatu, do něž se mohou dostat diabetici 1. typu po předávkování inzulínem. Injekce glukagonu se pak používá k léčbě silné hypoglykémie doprovázené kómatem, kdy diabetik není schopen požití žádné jídlo ani sladký nápoj.

U zdravých lidí je sekrece inzulínu i glukagonu recipročně regulována hladinou glukózy. Vysoká hladina glukózy v krvi stimuluje uvolňování inzulínu a sekrece glukagonu je potlačena, naopak nízká hladina glukózy potlačuje sekreci inzulínu z beta buněk a z alfa buněk se uvolňuje glukagon (Jia et al., 2022). Glukagon tak celkově přispívá k energetické homeostáze zvýšením endogenní produkce glukózy v případě nízkého exogenního příjmu glukózy nebo ve stavu vyšší spotřeby energie, jako např. při nadměrném cvičení (Müller et al., 2017).

### 1.2.6 Prediabetes a inzulínová rezistence

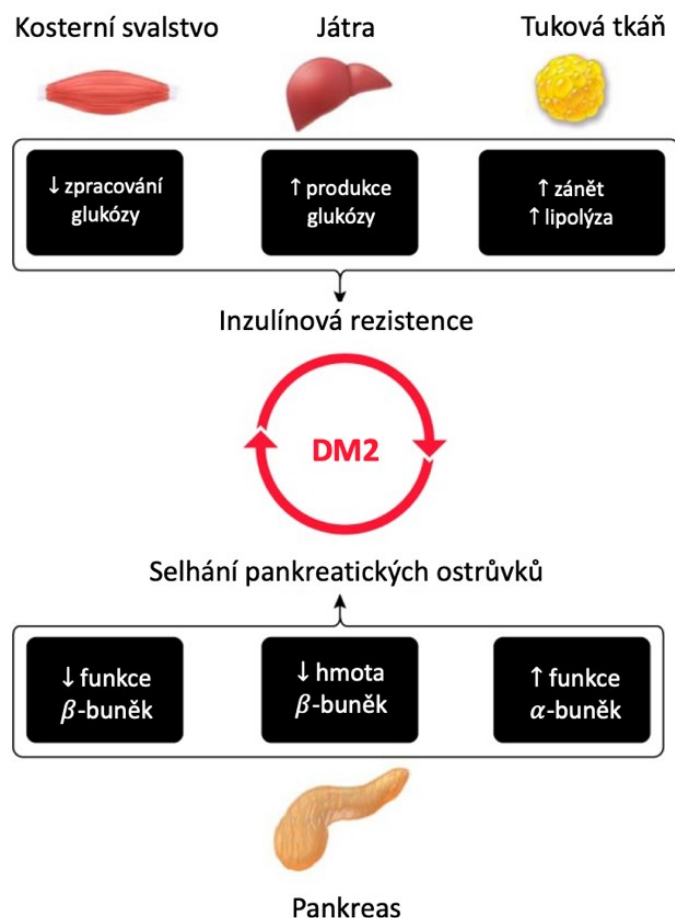
Prediabetes je stav zvýšené hladiny glukózy nad normou, ale pod diagnostickým kritériem diabetu. Prediabetes je charakterizován stavu porušené lačné glykémie (IFG, z angl. impaired fasting glucose), narušené glukózové tolerance (IGT, z angl. impaired glucose tolerance) a zvýšených hladin HbA1c (glykovaný hemoglobin), které zvyšují riziko rozvoje DM2 (International Diabetes Federation, 2021). Pro jedince s prediabetem je charakteristická obezita (zejména abdominálního typu), dyslipidémie a hypertenze (ElSayed et al., 2023).

Hodnoty pro určení prediabetu lze zjistit stanovením lačné glykémie, 2-hodinovým orálním glukózovým tolerančním testem nebo změřením hladin glykovaného hemoglobinu, který odráží hodnotu glykémie v posledních 2-3 měsících. K diagnostice prediabetu stačí

překročení jednoho z uvedených kritérií (Khetan a Rajagopalan, 2018; International Diabetes Federation, 2021).

Prediabetes je dlouhodobý rizikový stav, který předchází rozvoji DM2 (průměrná doba trvání prediabetu je 10 let) a ročně se u 5-10 % jedinců s prediabetem rozvine DM2 (Rett a Gottwald-Hostalek, 2019; Khetan a Rajagopalan, 2018). Pokud by se v této fázi či velmi časně fázi DM2 povedlo dosáhnout opětovné normoglykémie, ať úpravou životního stylu a cvičením či medikací, je ještě možné zabránit progresi do diabetu (Khetan a Rajagopalan, 2018). Jako nejúčinnější nástroj pro dosažení opětovné normoglykémie se ukazuje právě úprava životního stylu, zejména stravovacích a pohybových návyků, s cílem snížení nadměrné tělesné hmotnosti (doporučuje se dosáhnout a udržet 7% úbytek počáteční tělesné hmotnosti), díky čemuž dochází ke snížení rizika progresu do DM2 až o 54 % (Glechner et al., 2018; American Diabetes Association, 2019). Prediabetes však není rizikovým faktorem pouze pro rozvoj DM2, ale také pro makrovaskulární komplikace vznikající v důsledku aterosklerózy (Zand et al., 2018).

Inzulínová rezistence je proces, kdy buňky organismu nejsou schopné dostatečně reagovat na inzulín. Jelikož efektivita působení inzulínu tímto klesá, beta buňky slinivky břišní jsou vybuzeny k vyšší aktivitě ve snaze zvýšit produkci inzulínu (International Diabetes Federation, 2021). Ve stavu porušené glukózové tolerance je hladina inzulínu i jeho produkce zvýšena, avšak citlivost beta buněk na glukózu je v tomto stavu spíše oslabena (DeFronzo, 2004). Po určité době začne schopnost produkovat dostatečné množství inzulínu slábnout a dojde naopak ke snižování jeho produkce v důsledku postupného selhávání beta buněk pankreatu (International Diabetes Federation, 2021). Schéma patofyziologie DM2 zobrazuje obr. 1.



Obr. 1: Patofyziologie DM2 (Upraveno podle: Javeed a Matveyenko, 2018).

Jak bylo zmíněno výše, kosterní svalstvo hraje významnou roli v homeostáze glukózy a je považováno za primární tkáň, v níž se počíná projevovat a rozvíjet stav inzulínové rezistence. Dochází zde k nejvyšší produkci glykogenu. V časně fázi rozvoje onemocnění diabetes mellitus. 2. typu je syntéza glykogenu narušena, což je považováno za počáteční rys rozvoje inzulínové rezistence. V případě snížení citlivosti na inzulín, ať už vlivem nezdravého životního stylu či v důsledku určité genetické zátěže (děti diabetiků), se rozvíjí inzulínová rezistence, která představuje raný krok rozvoje DM2 (Merz a Thurmond, 2020; DeFronzo a Tripathy, 2009). V tomto stadiu je inzulínová rezistence reverzibilní a správnou úpravou životního stylu je možné stav zvrátit, dojde-li však k poškození a zániku beta buněk pankreatu, je proces již nevratný (Merz a Thurmond, 2020).

Klinicky významná je také korelace mezi viscerální adipozitou a rozvojem inzulínové rezistence. Viscerální tuková tkáň je spojována s hromaděním lipidů v játrech,

což přispívá k rozvoji inzulínové rezistence, konkrétně poškozením jaterních buněk podílejících se na inzulínové signalizaci (Hardy et al., 2012).

### 1.2.7 Rizikové faktory pro rozvoj DM2

Na rozvoj DM2 mají vliv genetické i environmentální faktory. Genetické dispozice mohou zapříčinit rozvoj onemocnění, někdy je však jejich aktivace podmíněna vystavením se určitým environmentálním vlivům, v opačném případě se genetická predispozice vůbec nemusí projevit. Tato interakce je u každého jedince individuální. Předpokládá se, že aby došlo k rozvoji DM2, musí se překročit určitá kritická mez, která vznikne součtem příspěvků obou faktorů (Shojima a Yamauchi, 2023). Z environmentálních faktorů je nejrizikovější obezitogenní prostředí charakterizované nízkou fyzickou aktivitou a neúměrně vysokým energetickým příjmem, což vede ke vzniku obezity (Chatterjee et al., 2017). Některé z rizikových faktorů jsou modifikovatelné a změnou životního stylu je tak možné rozvoj DM2 odvrátit (Tinajero a Malik, 2021).

Mezi rizikové faktory, které se modifikovat nedají, patří např. věk jedince, etnická příslušnost, anamnéza přímých příbuzných, především rodičů, např. gestační diabetes mellitus u matky (Chung et al., 2020). S postupujícím věkem je riziko rozvoje DM2 vyšší, a proto je vhodné osoby nad 35 let preventivně otestovat, pokud je u nich přítomen jeden či více rizikových faktorů. Jak již bylo zmíněno, obezitogenní prostředí je vysoce rizikové, jelikož vede ke vzniku nadváhy či obezity, což je u nadváhy definováno jako  $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ , u obezity jako  $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$  (pro asijsko-americkou populaci platí nižší hodnota) (Araneta et al., 2015; ElSayed et al., 2023). Studie zkoumající vliv obezity a hypertenze na rozvoj DM2 zjistila, že přítomnost abdominální obezity zvyšuje pravděpodobnost rozvoje DM2 o 76 % a celková obezita o 65 %. U jedinců s hypertenzí pak byla pravděpodobnost rozvoje DM2 vyšší o 84 %. Dále byla zkoumána pravděpodobnost rozvoje DM2 na základě různých kombinací hypertenze a celkové či abdominální obezity ve srovnání s referenční skupinou (bez hypertenze a obezity). Analýza odhalila, že u mužů i žen přítomnost samotné hypertenze i obezity zvyšuje rozvoj DM2, avšak nejvyšší riziko rozvoje DM2 představuje jejich koexistence (Pasdar et al., 2024).

U onemocnění DM2 je možné pomocí bariatrické operace dosáhnout remise DM2 a v posledních letech se ukazuje možnost dosažení remise DM2 i pomocí dietních intervencí. Zásadním a společným mechanismem bariatrické i dietní intervence je redukce hmotnosti,

zejména důležitá se ukazuje být redukce ektopicky uloženého tuku v játrech a pankreatu (Krejčí, 2024).

Riziko rozvoje DM2 zvyšují i některé epigenetické modifikace genomu. Epigenetika je vědní obor zabývající se změnami v genové expresi, při kterých však nedochází ke změně sekvence DNA. Epigenetické změny jsou ovlivňovány vnějším prostředím a jsou modifikovatelné, tedy reverzibilní, díky čemuž představují vhodný terapeutický cíl. Zároveň jsou epigenetické změny dědičné a přenášejí se z generace na generaci. Mezi typické epigenetické jevy patří methylace DNA, různé modifikace histonů či mikroRNA ovlivňující expresi genů. Všechny tyto procesy jsou tkáňově specifické a pro stanovení rizika je nutné zkoumat homogenní tkáň či shluky buněk z orgánu, které jsou specifické pro dané onemocnění. V případě DM2 se tedy jedná o tkáň pankreatu (Kwak a Park, 2016).

V neposlední řadě je významným rizikovým faktorem také narušený endogenní cirkadiánní rytmus, o kterém bude více pojednáno v kapitole 1.3.1. Pro metabolické zdraví je nezbytné, aby rytmy centrálních a periferních hodin, behaviorální rytmy týkající se příjmu jídla i spánku a rytmy hormonálního i autonomního nervového systému, byly synchronní. Jakmile dojde k desynchronizaci mezi jednotlivými složkami, např. tkáňovými a behaviorálními rytmy, vede to k vyššímu riziku rozvoje DM2. Vyšší riziko je tak spojené např. se vznikem sociálního časového posunu (tzv. sociální jet lag), který je definován jako nesoulad mezi sociálním (behaviorálním) a endogenním časem (Stenvers et al., 2019).

Vyšší riziko rozvoje DM2 se vyskytuje i u žen s anamnézou gestačního diabetes mellitus nebo syndromu polycystických ovarií (ElSayed et al., 2023). Faktory zvyšující riziko rozvoje DM2 po GDM představuje zejména vysoký věk matky během těhotenství, dále léčba inzulinem během těhotenství, která signalizuje závažnější poruchu glykoregulace a také např. porod dítěte s nadváhou, odrážející rovněž zhoršenou kompenzací hyperglykemií matky. U žen s historií GDM je vysoká šance recidivy v dalších těhotenstvích a tato pravděpodobnost i pravděpodobnost rozvoje DM2 je vyšší s každým dalším porodem (Ikoh Rph. a Tang Tinong, 2023).

Bylo zjištěno, že u žen, které během těhotenství prodělaly GDM, se vyvinula porucha glukózového metabolismu častěji, než tomu bylo u žen s negativní anamnézou GDM. Konkrétně v multicentrické studii sledující 4697 žen a 4832 jejich dětí (Lowe et al., 2018) vykazovalo poruchu 52,2 % žen s pozitivní anamnézou GDM oproti 20,1 % žen bez této anamnézy. Konkrétně se u 10,7 % žen s historií GDM rozvinul DM2 a u 41,5 % prediabetes, oproti 1,6 % a 18,4 % u žen bez GDM. Zároveň potomci žen, u kterých se objevil GDM,

měli v období školního věku větší hmotnost (téměř u 40 % se objevila nadváha, u 19,1 % obezita), vyšší BMI, obvod pasu, procento tělesného tuku i součet kožních řas než potomci matek bez GDM.

V posledních letech dochází k nárůstu počtu žen s GDM zejména vlivem vyšší prevalence obezity a rovněž roste i počet žen rodičích v pozdějším věku. Ze studií vyplývá, že ženy s historií GDM mají 10krát vyšší pravděpodobnost rozvoje DM2 než ženy, které byly během těhotenství normoglykemické. Nárůst prevalence GDM tak představuje celosvětově problém, jelikož to vede k růstu nákladů na globální zdravotní péči nejen o gestační diabetičky, ale též o komplikace s GDM asociované, jako je obezita a DM2 (Vounzoulaki et al., 2020).

### **1.3 Genetika diabetes mellitus 2. typu**

DM2 je polygenní onemocnění, které je výsledkem působení velkého množství polymorfismů s malým účinkem v určitém prostředí (Pearson, 2019). Důležitou roli při objevování a identifikaci genetických variant, které přispívají k rozvoji DM2, hrály celogenomové asociační studie známé pod zkratkou GWAS (z angl. genome-wide association studies). Při tomto testování dochází ke genotypizaci velkého množství polymorfních lokusů. GWAS testují asociace mezi daným onemocněním a frekvencí alel genotypů jednonukleotidových polymorfismů (SNP), které patří mezi běžné genetické variace (Shojima a Yamauchi, 2023). V posledních letech dochází k novým objevům dalších lokusů a to především díky zlepšení technologie genotypování, které umožňuje testování většího množství SNP napříč mnoha populacemi (Morris, 2018).

Pomocí statistické analýzy bylo zjištěno, že frekvence jednotlivých alel SNP se liší mezi jedinci s daným onemocněním a zdravými kontrolami. Zároveň rozvoj a následný průběh DM2 vykazuje rozdílné genetické pozadí v závislosti na dané etnické populaci. Z tohoto důvodu je nutné k identifikaci rizikových genetických variant využívat GWAS z dané populace. Mnoho genetických variant se ovšem bude mezi evropskou populací, ze které máme nejvíce dat, a dalšími izolovanými populacemi shodovat (Shojima a Yamauchi, 2023; Cole a Florez, 2020).

V současné době GWAS identifikovaly více než 600 lokusů asociovaných s DM2 (Shojima a Yamauchi, 2023). V těchto studiích dochází k objevu běžných genetických variant s mírným účinkem, které vysvětlují 75 % dědičnosti DM2. Vzácné genetické

varianty, jejichž frekvence alel je menší než 0,5 %, se testují sekvenováním přesně zaměřením na dané místo genomu. K riziku DM2 přispívají vzácné a nízkofrekvenční variace (frekvence alel menší než 0,1 %) pouhými 2,9 % (Morris, 2018).

Mezi potvrzené geny spřažené s onemocněním DM2 patří geny *MTNR1B* a *NME7*, kterým bude věnována samostatná kapitola.

### 1.3.1 *MTNR1B*

Gen *MTNR1B* je gen kódující melatoninový receptor 1B (Zhu et al., 2023). Tento gen se nachází na 11. chromozomu v oblasti dlouhého raménka (Cipolla-Neto a Amaral, 2018).

Produktem genu *MTNR1B* je melatoninový receptor 1B (MT<sub>2</sub>), který se vyskytuje společně s melatoninovým receptorem 1A (MT<sub>1</sub>) kódovaným genem *MTNR1A* v mozku, sítnici a dalších tkáních, např. také ve všech typech buněk pankreatu – alfa, beta i delta (Zibolka et al., 2018). Receptor 1B je vysoce afinitní receptor spřažený s inhibičním G proteinem, který je tvořen 362 aminokyselinami (Cipolla-Neto a Amaral, 2018). Po aktivaci receptoru dochází ke snížení hladin cAMP a tím k utlumení sekrece inzulinu (Mulder, 2017).

Ligandem melatoninového receptoru je hormon melatonin, který je u obratlovců produkován specializovanou žlázou epifýzou. Syntéza melatoninu je řízena prostřednictvím hlavních cirkadiálních hodin, které jsou umístěné v hypothalamu v neuronech suprachiasmatického jádra (SCN) (Cipolla-Neto a Amaral, 2018). SCN je symetrický útvar tvořený přibližně 10 000 neurony a nachází se na bázi hypothalamu na dně předního mozku (diencephalon) (Korf a Von Gall, 2013).

Cirkadiální systém savců je složen z již zmíněných centrálních hodin umístěných v hypothalamu a z periferních hodin umístěných v dalších částech mozku a ve všech tkáních těla, včetně svalů, jater a tukové tkáně (Stenvers et al., 2019). Molekulární základ cirkadiálních hodin se skládá z mnoha transkripčních faktorů, které tvoří autoregulační transkripčně-translační zpětnovazebné smyčky přítomné v téměř všech buňkách organismu. Na regulaci se podílí 2 základní transkripční faktory, BMAL1 a CLOCK, které v cytoplazmě vytvářejí heterodimer, který se translokuje do jádra, kde se váže do sekvence E-boxu (enhancer box). Komplex BMAL1-CLOCK podporuje expresi hodinových genů *Per* a *Cry* a jejich produkty PER (1-3) a CRY (1-2) se hromadí v cytoplazmě, kde následně vytvářejí komplex, který se dostává do jádra a po jejich translaci PER a CRY produkty negativně

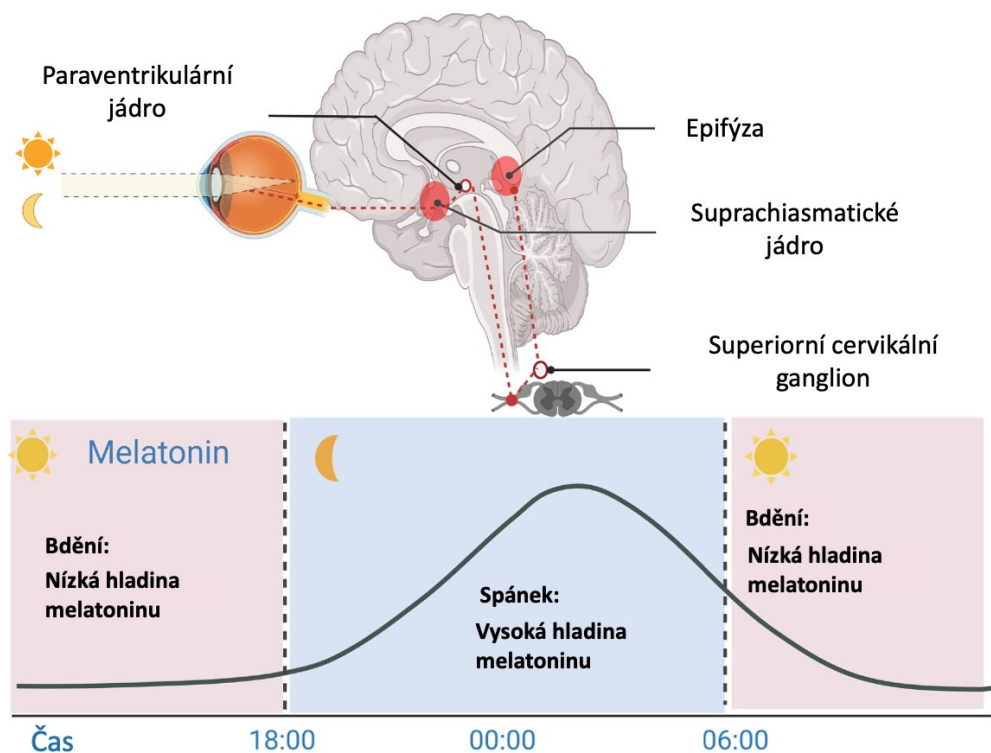


ovlivňují heterodimer transkripčních faktorů BMAL1-CLOCK, dochází k inhibici jeho aktivity a zastavuje se exprese genů *Per* a *Cry*, čímž se uzavírá již zmíněná zpětnovazebná smyčka. Po degradaci proteinů PER a CRY dochází k potlačení jejich inhibičního vlivu na komplex BMAL1-CLOCK a startuje tak nový oscilační cyklus. Dalšími důležitými komponentami regulace cirkadiálního rytmu jsou nukleární receptory REV-ERB $\alpha$ , REV-ERB $\beta$  a také receptor kyseliny retinové ROR (ROR $\alpha$ , ROR $\beta$ , ROR $\gamma$ ), které vzájemným působením vytvářejí jinou zpětnovazebnou smyčku. Působením všech zmíněných molekul dochází k produkci rytmického signálu o přibližně 24hodinové periodě zvané jako cirkadiální perioda. Vedle transkripčních faktorů hrají důležitou roli v řízení cirkadiálních hodin i jiné složky, mezi které patří i depolarizace membrán, tok vápníku i signalizace cAMP (Fagiani et al., 2022; Stenvers et al., 2019).

Cirkadiální systém je řízen světelnými signály z vnějšího prostředí (cyklus světlo/tma) a 24hodinový rytmus SCN se tak synchronizuje s 24hodinovým rytmem vnějšího prostředí. To je důležité, jelikož endogenní hodiny nemají přesně 24hodinovou periodu, a proto dochází každý den k resetování nastavení dle světelných signálů. Světelné signály jsou zachycovány prostřednictvím fotosenzitivních buněk sítnice a informace jsou odtud přenášeny do jádra hypothalamu. Toto načasování je prostřednictvím nervových drah, hormonů, změnou tělesné teploty a behaviorálními signály, jako je příjem potravy a fyzická aktivita, předáváno do periferních tkáňových hodin (Cipolla-Neto a Amaral, 2018; Stenvers et al., 2019). I v případě absence světelných signálů (za stálé tmy) zůstávají hlavní SCN hodiny v přibližně 24hodinovém rytmu díky vzájemné komunikaci mezi jednotlivými neurony SCN. Synchronizaci cirkadiálního rytmu zajišťují environmentální podněty nazývané „zeitgebers“, mezi které patří zejména světlo, ale dále i samotný melatonin, příjem potravy či fyzická aktivita (Korf a Von Gall, 2013).

Obr. 2 zobrazuje hladinu melatoninu v průběhu 24hodinového cyklu. Produkce melatoninu začíná ve večerních hodinách, během noci koncentrace dosahuje maximálních hodnot a následně dochází k postupnému snižování až do ranních hodin, kdy je hladina nejnižší. Melatonin vyloučený epifýzou je uvolněn do krevního řečiště a následně se dostává do mnoha oblastí centrálního nervového systému (CNS) a periferních orgánů, kde působí různými mechanismy. Melatonin svým působením během noci a svou absencí během dne ovlivňuje rytmickou expresi hodinových genů, jejichž produkty jsou zodpovědné za cirkadiální funkci tkání a orgánů. Důležitou funkcí melatoninu je jeho funkce přepínání organismu z biologického dne do biologické noci. Zároveň v důsledku periodického

uvolňování melatoninu pod vlivem SCN a rozdílné koncentrace během dne i noci účinkuje jako chronobiologický hormon a má tím pádem důležitou roli ve sjednocení a synchronizaci cirkadiálních rytmů na mnoha úrovních (buňka, tkáň, orgán a celý organismus). V případě nedostatku či absence melatoninu nebo jeho receptoru dochází k dysregulaci hodinových genů a cirkadiálního rytmu, což zvyšuje riziko rozvoje DM2, jak bylo již zmíněno v kapitole 1.2.7 (Cipolla-Neto a Amaral, 2018).



Obr. 2: Hladiny melatoninu v průběhu 24hodinového cyklu kolísají. Melatonin se uvolňuje během tmy a jeho sekrece je inhibovaná světlem. Světlo je zachycováno fotosenzitivními buňkami v sítnici a informace jsou přenášeny do SCN v hypotalamu. Sympatický nerv z superiorního cervikálního ganglia stimuluje epifýzu k uvolnění melatoninu (Upraveno podle: Zhu et al., 2023)

Na základě preference jednotlivce (pro načasování spánku, jídla a aktivity v 24hodinové periodě) rozlišujeme jednotlivé chronotypy. Rozeznáváme chronotyp ranní (M-typ), večerní (E-typ) a nevyhraněný (N-typ) (Montaruli et al., 2021). Platí, že večerní chronotyp zvyšuje pravděpodobnost rozvoje DM2 i kardiovaskulárního onemocnění (Merikanto et al., 2013). Jedinci s večerním chronotypem vykazovali vyšší BMI, depresivní stavy a byli mladší v porovnání s jedinci s ranním chronotypem. Zároveň se u nich objevily

vyšší hladiny HbA1c, také měli mnohem pozdější dobu nástupu spánku i probuzení a větší sociální jet lag. Ačkoli mezi jedinci s rozdílným chronotypem nebyl rozdíl v množství přijatých kalorií, u jedinců s večerním chronotypem byla většina kalorií konzumována ve večerních hodinách, což je spojeno s horší kontrolou glykémie (Reutrakul et al., 2013). U E-typu byla nalezena významná asociace s DM2, riziko rozvoje nemoci bylo 2,5 vyšší ve srovnání s M-typy (Merikanto et al., 2013).

U genu *MTNR1B* byla objevena alela spojená s lačnou hyperglykémií a sníženou sekrecí inzulínu (Lyssenko et al., 2009). Jedná se o rizikovou alelu G polymorfismu rs10840963 a platí, že čím více rizikových alel se u daného jedince nachází, tím je vyšší exprese mRNA *MTNR1B*, konkrétně u nositelů jedné či dvou rizikových alel byla exprese 2-4násobně zvýšena oproti homozygotním nositelům nerizikové alely C. Zvýšená exprese melatoninového receptoru v beta buňkách pankreatu následně vede k větší inhibici produkce inzulínu, což je způsobeno melatoninem, jak bude vysvětleno níže (Mulder, 2017; Tuomi et al., 2016).

U nediatetických jedinců je riziková alela G tohoto genu spojena s vyšší hladinou glukózy v plazmě (CC:  $5,41 \pm 0,54$  mmol/l, CG:  $5,49 \pm 0,54$  mmol/l, GG:  $5,55 \pm 0,54$  mmol/l) a zároveň s nižší sekrecí inzulínu. Dále je riziková alela G spojována se zhoršenou inzulínovou odpovědí při intravenózním glukózovém tolerančním testu a byla zjištěna i snížená časná inzulínová odpověď na glukózu. Tento gen tedy zvyšuje riziko rozvoje DM2 (Lyssenko et al. 2009).

Polymorfismus rs10830963 genu *MTNR1B* způsobuje prodlouženou syntézu hormonu melatoninu a tím i jeho opožděný pokles v ranních hodinách (Lane et al., 2016). Zároveň bylo zjištěno, že melatonin má inhibiční vliv na sekreci inzulínu vyvolanou glukózou, přičemž tento účinek se zvyšuje s věkem. Aktivace receptoru 1B melatoninem vyvolá řadu reakcí, jejichž výsledkem je inhibice tvorby cAMP, což je stimulator sekrece inzulínu (Lyssenko et al., 2009; Tuomi et al., 2016). Kombinace těchto dvou jevů představuje riziko především pro osoby, které brzy ráno vstávají a vlivem opožděného poklesu melatoninu může tento hormon potlačovat sekreci inzulínu během příjmu potravy, např. brzké snídani (Lane et al., 2016).

Probuzení během biologické noci, kdy je hladina melatoninu stále vysoká, způsobí zhoršenou inzulínovou senzitivitu a tím i vyšší sekreci inzulínu, která je nutná ke kompenzaci pro udržení normální hladiny glukózy. Čím déle trvají vysoké hladiny melatoninu po probuzení, tím více se zhoršuje citlivost na inzulín. Tyto poznatky jsou

významné pro interpretaci výsledků OGTT (orální glukózový toleranční test), jelikož se často provádí v brzkých ranních hodinách, kdy hladiny melatoninu mohou být ještě zvýšené (Eckel et al., 2015).

### 1.3.2 *NME7*

Rodina genů NME kóduje enzymy metabolismu nukleotidů nukleosid difosfátkinázy (NDPK) také nazývané NM23. Zkoumaný gen NME7 se nachází na chromozomu 1 (1q24.2). Jedná se o všudypřítomné enzymy, které katalyzují přenos fosfátu z nukleosidtrifosfátů (NTP) na nukleosiddifosfáty (NDP) ping-pongovým mechanismem, který zahrnuje tvorbu fosfohistidinového meziprojektu. Hlavním donorem fosfátu je v této reakci ATP poskytovaný zejména mitochondriální oxidativní fosforylací (Boissan et al., 2018).

NME proteiny se skládají z 10 izoforem označovaných jako NME1-10, které se mezi sebou liší svou enzymatickou aktivitou a lokalizací. Ačkoli nejsou všechny proteiny katalyticky aktivní, každá izoforma obsahuje konzervovanou doménu s funkcí nukleosid difosfátkinázy (Puts et al., 2018).

*NME* geny jsou rozdělené do dvou skupin. Geny ve skupině I. kódují 4 proteiny – NME1, NME2, NME3 a NME4, které mezi sebou sdílí 58-88% vzájemnou identitu. Jedná se o všudypřítomné proteiny s katalytickou aktivitou NDPK, které se vyskytují především v cytosolu a na plazmatické membráně. Ve skupině II. geny kódují více odlišné proteiny, které sdílí 22-44% identitu jak mezi proteiny ze skupiny I., tak i mezi sebou navzájem, a do této skupiny patří právě NME7. Nachází se zejména v řasinkových strukturách, kromě NME6, který je všudypřítomný. Nejvíce exprimovaným proteinem je NME1 (Boissan et al., 2018).

Jak bylo zmíněno výše, hlavní funkcí rodiny proteinů NME/NDPK je katalyzovat přenos fosforylové skupiny mezi NTP a NDP. Zároveň některé členy NME/NDPK působí jako proteinová histidinkináza. Fosforylací specifického histidinového zbytku dochází k regulaci funkce daného proteinu a protein NME2 je jediný, který dokáže tuto fosforylací katalyzovat. Dále bylo zjištěno, že některé NME proteiny mají roli v membránové remodelaci. Představují hlavní zdroj GTP a prostřednictvím přímé interakce protein-protein dochází k doplňování GTP-dependentních složek dynamické superrodiny (Boissan et al., 2018). Nejdůležitějším prozkoumaným proteinem z této skupiny je NME1, který se nachází

v jádře, kde se podílí na opravě DNA. Jedná se o supresorový protein, který je schopný potlačit metastázy rakovinných buněk, ale zároveň nebrání růstu primárního nádoru, a také se o něm uvažuje jako o ideálním prognostickém markeru u určitých typů rakovin (Puts et al., 2018).

Protein NME7 obsahuje dvě kinázové domény, které vykazují vysoký stupeň homologie s doménami přítomnými na jiných NME proteinech. NME7 je členem ciliomu, který se zapojuje do funkce řasinek, a nachází se ve většině tkání (Liu et al., 2014). Cilie svou funkcí ovlivňují energetickou homeostázu a jsou zapojeny do signalizace i regulace energetického metabolismu v tukové tkáni i pankreatu. Mutované ciliární proteiny pak mohou vést k poruchám jako je obezita či DM2 (Engle et al., 2021). NME7 je nejvíce detekován v centrozomu, přičemž jeho přítomnost závisí na fázi buněčného cyklu. V časně G1 fázi je hladina NME7 nejnižší a nejvyšší je v mitóze. Během mitózy byl NME7 detekován mimo centrozom i na mitotických vřeténkách (Liu et al., 2014). V posledních letech se ukazuje asociace variant genu *Nme7* (nukleosiddifosfátkináza 7, nemetastatické buňky 7) s diabetem a dyslipidemií (Šedová et al., 2021). Studie jsou zatím provedeny pouze na animálních modelech. Byly porovnávány dvě skupiny potkanů, skupina heterozygotních potkanů *Nme7*<sup>+/-</sup> s jednou sadou genu knockoutovanou pomocí CRISPR/Cas9 nukleázy a kontrolní „wild-type“ skupina *Nme7*<sup>+/+</sup>, tedy bez genetické modifikace. Bylo zjištěno, že samci ve skupině *Nme7*<sup>+/-</sup> měli vyšší tělesnou hmotnost než kontrolní skupina. Dále vykazovali zhoršenou glukózovou toleranci, která byla potvrzena glukózovým testem. Během intraperitoneálního glukózového tolerančního testu (IPGTT) byla zvýšená glykémie již od počáteční 30. minuty, což způsobilo vyšší plochy pod glykemickými křivkami. Zároveň měli samci *Nme7*<sup>+/-</sup> vyšší lačné hladiny inzulínu. Z hlediska metabolického a biochemického profilu nebyly pozorovány rozdíly v koncentracích triacylglycerolů, celkového a HDL cholesterolu, alkalické fosfatázy, bilirubinu, fosfátu, draslíku ani kreatininu. Histologické vyšetření nezjistilo žádné změny v jaterní tkáni mezi oběma skupinami, ale v bílé tukové tkáni v epididymálních tukových polštářcích měli samci *Nme7*<sup>+/-</sup> větší adipocyty a zároveň byly v pankreatické tkáni objeveny fibrotické ostrůvky, které byly narušeny pásy kolagenní tkáně. Podle těchto výsledků lze usuzovat, že deficit jedné alely způsobil sníženou expresi *Nme7* v testovaných tkáních, což koreluje s metabolickými poruchami (Šedová et al., 2021).

V současné době se dokončuje studie zkoumající vztah mezi variantami určitých genů a metabolismem glukózy u lidí, konkrétně je studie zaměřena na tvar glykemické křivky během 3h OGTT, o kterém budou informace v dalších kapitolách.

## 1.4 Diagnostika DM2

Jak bylo zmíněno v úvodní kapitole, diabetes mellitus je velmi časté onemocnění a pro jeho screening i diagnostiku existuje řada testů, ale i tak je stále poddiagnostikován, zejména kvůli tomu, že se hyperglykémie vyvíjí postupně a pomalým tempem. Diagnostické testy pro DM2 se zaměřují na odhalení hyperglykémie, která se dá zjistit mnoha způsoby (Ikoh Rph. a Tang Tinong, 2023).

Testy na prediabetes i DM2 by měly být zvažovány u dospělých osob, jejichž hmotnost je nad hranicí normy, kdy norma je definována jako BMI 18,5-25 kg/m<sup>2</sup>, a u kterých je přítomen jeden či více rizikových faktorů. Screening by bylo vhodné zahájit u všech osob nad 45 let a v případě normálního výsledku testu je vhodné testy opakovat po 3 letech. U dětí a dospívajících je vhodné testovat na prediabetes a DM2 v případě přítomnosti nadváhy (BMI  $\geq$  85. percentil) nebo obezity (BMI  $\geq$  95. percentil) (American Diabetes Association, 2019).

Prediabetes i DM2 se stanovuje z hladin plazmatické glukózy, a to buď nalačno (FPG) či z hodnot plazmatické glukózy za 2 hodiny (2h PG) během orálního glukózového tolerančního testu, nebo z hodnot HbA1c. Diabetes mellitus můžeme diagnostikovat na základě kritérií uvedených v tab. 1.

Tab. 1: Diagnostická kritéria pro prediabetes a diabetes (Upraveno podle: American Diabetes Association, 2022)

	<b>Prediabetes</b>	<b>Diabetes</b>
FPG	5.6-6.9 mmol/L	$\geq 7$ mmol/L
2h PG	7.8-11.0 mmol/L	$\geq 11.1$ mmol/L
HbA1c	39-47 mmol/mol	$\geq 48$ mmol/mol

U jedinců, u kterých se projevují typické příznaky cukrovky, postačí ke stanovení diagnózy měření plazmatické glukózy (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2022).

Na základě zvýšené hladiny HbA1c lze diagnostikovat DM2 u dětí, dospívajících i dospělých. Výhodou měření glykovaného hemoglobinu je vyšší preanalytická stabilita a nižší rozptyl během dne. Nevýhodou jsou vyšší náklady, nižší citlivost a nízká korelace mezi hodnotami HbA1c a hodnotami aktuální glykémie (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2022). Využití naměřených hodnot HbA1c ke stanovení DM2 je však omezené, jelikož při stavech jako hemolytická anémie, chronické onemocnění jater nebo dlouhodobá léčba vitamínem C či E dochází ke změně množství glykovaného hemoglobinu. HbA1c se také zvyšuje s věkem (při stejné glykémii) a rozdíly jsou i mezi určitými etnickými populacemi (Harreiter a Roden, 2023).

## 1.5 Pohlavní variabilita

Mezipohlavní rozdíly, tedy rozdíly mezi muži a ženami, jsou dány rozdílem v pohlavních chromozomech, pohlavně-specifickou expresí genů a koncentrací pohlavních hormonů, které ovlivňují jak chování, tak i fyzické změny během celého života. V posledních letech se ukazuje, že tento rozdíl je významný v epidemiologii, patofyziologii a léčbě mnoha nemocí (Kautzky-Willer et al., 2016). Sexuální dimorfismus tak umožňuje lékařům určit prognózu dané nemoci odlišně podle pohlaví, což je jeden z prvních důležitých kroků v personalizované medicíně (Li et al., 2022). Největší pohlavní variabilita se ukazuje např. na průběhu a důsledcích ischemické choroby srdeční (Mauvais-Jarvis et al., 2020).

Pohlavní variabilita je tedy dána mnoha faktory – genetickými, environmentálními a sociálními a mohou se zde uplatňovat epigenetické mechanismy (Kautzky-Willer et al., 2016).

Pohlavní dimorfismus se projevuje v celé řadě oblastí. Tuková tkáň není pouze zásobárnou triacylglycerolů, ale jedná se o tkáň aktivně přispívající k metabolické homeostáze prostřednictvím vylučování signálních molekul a hormonů. S ohledem na kardiometabolické riziko je velmi důležité se zaměřit na pohlavně-specifickou akumulaci a distribuci tuku, neboť centrální lokalizace přispívá ke zvyšujícímu se kardiometabolickému riziku více než samotný nadbytek tukové hmoty. Ve studii porovnáující ženy a muže bylo zjištěno, že ačkoli mezi nimi nebyl rozdíl v průměrné celkové hmotnosti tukové hmoty, ženy vykazovaly vyšší průměrné % tělesného tuku (Schorr et al., 2018). Přesto je prevalence obezity vyšší u mužů (Muscogiuri et al., 2023). Rozdíly v distribuci tuku mezi muži a ženami jsou znatelné a ukazuje se, že pohlaví hraje důležitou roli v manifestaci viscerální a periferní

obezity. U mužů dochází k výraznějšímu hromadění viscerální tukové tkáně, tedy v oblasti břicha, což vede k typickému androidnímu tvaru těla, nazývaném tvar jablka, zatímco u žen v reprodukčním věku se více hromadí podkožní tuk, zejména v oblastech na bocích, stehnech a hýždích, čímž vzniká hruškovitý neboli gynoidní typ postavy. Tato distribuce tuku působí před důsledky spojenými s obezitou či metabolickým syndromem spíše protektivně. Avšak po nástupu menopauzy dochází u žen ke změně a zvyšuje se ukládání viscerálního tuku, což je spojeno s vyšším metabolickým rizikem, podobně jako je tomu u mužů. Navzdory stejnému průměrnému věku a BMI byl mužský fenotyp po zhodnocení ektopických tukových kompartmentů spojen se škodlivějším rizikovým kardiometabolickým profilem. Zároveň byla u mužů zjištěna vyšší hladina inzulínu nalačno a HOMA-IR, což ukazuje na narušenou homeostázu glukózy (Schorr et al., 2018; Palmer a Clegg, 2015).

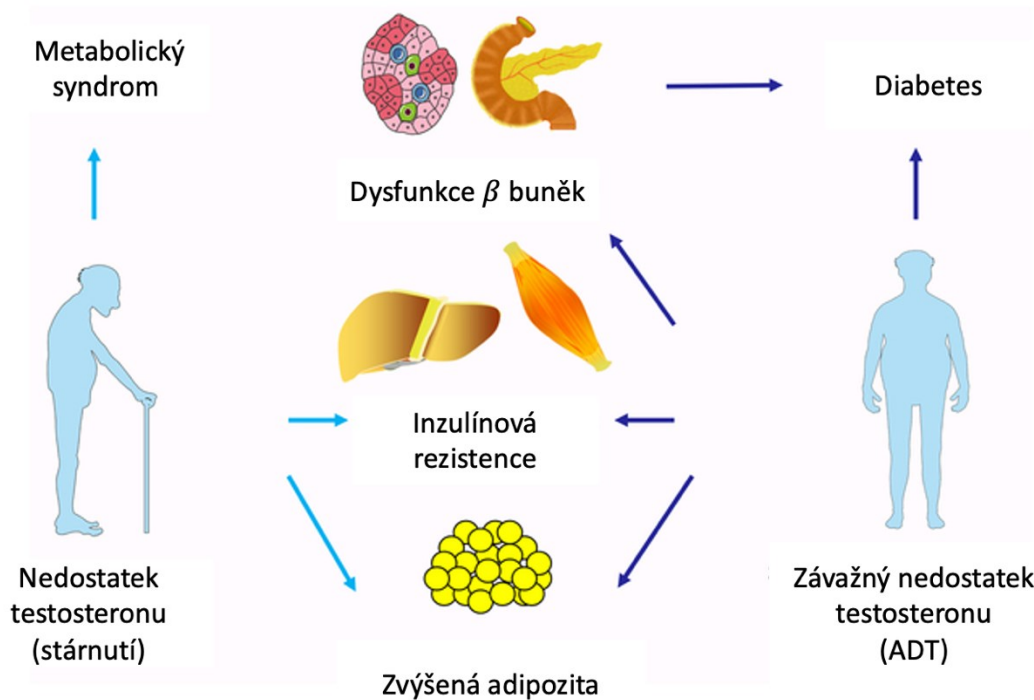
### **1.5.1 Pohlavní variabilita a DM2**

Důležitou roli v pohlavním dimorfismu hrají pohlavní hormony. Estrogeny významně přispívají k pohlavnímu dimorfismu v energetické rovnováze a metabolické homeostáze, což je hlavní faktor určující pohlavní rozdíly v náchylnosti k diabetu 2. typu (Tramunt et al., 2020). U premenopauzálních žen má estrogen ochrannou funkci před DM2 zvýšením citlivosti na inzulín a snížením apoptózy beta buněk. Nedostatek estrogenu způsobený příchodem menopauzy má tak škodlivý vliv na glukózovou homeostázu i složení těla (menopauza spouští progresivní hromadění viscerálního tuku), což vede k vyššímu riziku vzniku metabolických poruch (Kautzky-Willer et al., 2023). Během menopauzy se hlavním zdrojem estrogenů stává tuková tkáň. Bylo zjištěno, že významné snížení hladiny estrogenů (více než 90 %) je spojeno s typickými příznaky, jako návaly horka či již zmíněná zvýšená prevalence potíží spojených s metabolickým syndromem (Palmer a Clegg, 2015).

Významná je také obousměrná modulace homeostázy glukózy hormonem testosteronem u mužů i žen. Nedostatek testosteronu u mužů může vést k metabolickému syndromu i DM2, totéž můžeme pozorovat při vyšší hladině testosteronu u žen. Ukazuje se, že nedostatek testosteronu může u mužů vést k dysfunkci a selhání beta buněk, což predisponuje ke vzniku DM2, přičemž zvýšení testosteronu sekreci inzulínu zlepšuje. Ze studií vyplývá, že mírný nedostatek testosteronu zvyšuje adipozitu a inzulínovou rezistenci, ale pravděpodobnost rozvoje DM2 je nízká, zatímco u těžkého deficitu testosteronu beta



buňky vykazují větší dysfunkci a tím se zvětšuje šance progresu do DM2 (viz obr. 3). U žen je situace opačná a nadbytek testosteronu podporuje dysfunkci a selhání beta buněk a souvisí s hyperglykémií. Hlavní příčinou vyšší hladiny testosteronu u žen je syndrom polycystických ovarií (PCOS), což je rizikový faktor rozvoje DM2, jak bylo zmíněno v kapitole 1.2.7 (Xu et al., 2019).



Obr. 3: Mechanismus diabetu u mužů s nedostatkem testosteronu. Nedostatek testosteronu během stárnutí predisponuje muže ke zvýšené adipozitě a inzulinové rezistenci vedoucí k rozvoji metabolického syndromu. Těžký nedostatek testosteronu způsobený např. androgen deprivační terapií (ADT) vede i k dysfunkci beta buněk (Upraveno podle: Xu et al., 2019).

Pokud jde o rozložení DM2 mezi pohlaví, výzkumy z roku 2021 prokázaly, že u žen je prevalence diabetu lehce nižší než u mužů, konkrétně 10,2 % u žen oproti 10,8 % u mužů. Ve světové populaci se tak vyskytuje o 17,7 milionu více mužů s diabetem než žen. U mužů je vyšší prevalence DM2 zejména v populaci mladého a středního věku s nižším BMI (International Diabetes Federation, 2021). Vedle vyšší prevalence DM2 je u mužů také častěji diagnostikována IFG, tedy porušená lačná glykémie, která odráží lačnou inzulinovou rezistenci. IGT, porušená glukózová tolerance odrážející postprandiální inzulinovou rezistenci, je naopak stále častější u žen (Kautzky-Willer et al., 2023; Mauvais-Jarvis, 2018).

Z tohoto důvodu je v mnoha případech vhodné screening či diagnostiku provádět stanovením glykovaného hemoglobinu A1c, jelikož stanovení lačné glykémie či orální glukózový test mohou být vždy u jednoho z obou pohlaví méně citlivé (Mauvais-Jarvis et al., 2020). Většina rizikových faktorů pro rozvoj DM2 je u obou pohlaví stejná, pohlavně-specifickým rizikovým faktorem je u žen pouze gestační diabetes (Mauvais-Jarvis, 2018).

## 2 Cíle a hypotézy

Tato diplomová práce si klade za cíl zhodnocení dynamiky křivek glukózy, inzulínu a C-peptidu během 3 hodinového glukózového tolerančního testu u osob se zvýšeným rizikem rozvoje diabetu 2. typu a u kontrolního souboru zdravých osob. Soubor se zvýšeným rizikem zahrnuje osoby s porušenou glukózovou regulací z řad přímých potomků diabetiků a žen s anamnézou gestačního diabetu. Sledování je zaměřeno především na hodnocení tvarů glykemických křivek a na jejich asociaci se širokým spektrem jak biochemických parametrů mapujících metabolické zdraví, jako je lipidové spektrum, tak antropometrických dat postihujících složky metabolického syndromu (obvod pasu, WHR, % tuku a další). Sledována je ovšem i dynamika sekrece inzulínu a C-peptidu v průběhu OGTT. Konečným cílem je vyhodnocení rozdílů mezi jedinci se zvýšeným rizikem rozvoje diabetu a zdravými kontrolami bez poruch glukózové tolerance. Pro klinickou praxi by mělo být přínosné zejména odhalení rizikových markerů předcházejících vlastní chorobu, ať již v charakteru tvaru glykemické křivky, či v dalších souvisejících biochemických parametrech. Tyto markery by mohly být využity k prodloužení časového intervalu vhodného pro velmi časnou, a tedy účinnější prevenci a tím by pomohly k oddálení či dokonce úplnému odvrácení onemocnění. V tomto smyslu je zvláštní pozornost věnována rozdílům ve zpracování glukózy mezi muži a ženami. Dosavadní pilotní data totiž naznačují rozdíly v průběhu glykemické křivky u mužů a žen.

Budou testovány následující hypotézy:

- 1) Glykemická křivka má u různých lidí odlišný průběh, podle počtu inflexních bodů rozlišujeme křivku monofazickou, bifazickou, trifazickou a multifazickou. Testována bude nulová hypotéza, že:
  - a. tvar glykemické křivky není významně asociován s poruchami glukózového metabolismu, tedy že distribuce křivek mono-, bi-, tri- i multifazických bude táž u osob s prokázanou poruchou glukózové tolerance jako u osob zdravých.
  - b. tvar glykemické křivky odráží výlučně dynamiku zpracování glukózy a je nezávislý na širším biochemickém spektru a na antropometrických

parametrech, především na složkách metabolického syndromu (lipidové spektrum, krevní tlak, obvod pasu atd.).

V případě prokázání asociace určitého tvaru křivky s rizikovým metabolickým a antropometrickým profilem vyvstává otázka, zda by se tvaru glykemické křivky nedalo využít vedle diagnostiky PGT (angl. IGT) též pro predikci rizika širšího spektra metabolických komplikací označovaných jako metabolický syndrom (Reaven, 2004).

- 2) Kritérium závazné pro diagnostiku porušené glukózové tolerance a diabetu 2. typu je u obou pohlaví stejné, konkrétně vychází z lačných hodnot glykémie a z jejích hodnot ve 120. minutě OGTT. Testována bude nulová hypotéza, že dynamika zpracování glukózy je u žen i mužů srovnatelná, bez statisticky významných rozdílů. V případě prokázání rozdílné dynamiky křivek glukózy vyvstává otázka, zda by diagnostická kritéria neměla tyto intersexuální rozdíly zohledňovat.
- 3) Důležitou roli v patogenezi DM2 hrají i určité varianty genů, které zvyšují pravděpodobnost rozvoje onemocnění. V tomto kontextu jsou zkoumány geny *MTNR1B* a *NME7*. Testována bude nulová hypotéza, že sledované polymorfismy ve jmenovaných genech nemají přímou souvislost s glukózovým metabolismem. U genu *MTNR1B* bude sledován polymorfismus rs10830963 a jeho minoritní alela G. V genu *NME7* budou testované polymorfismy rs10732287, rs4264046, rs10800438, rs4656659 a rs2157597. V případě prokázání asociace uvedených genetických variant s dynamikou zpracování glukózy, popř. s dalšími souvisejícími složkami metabolického syndromu, by se polymorfismy v genu *MTNR1B* a *NME7* mohly zařadit mezi klinicky zajímavé markery upozorňující na potenciální riziko pro jejich nositele.

### 3 Studované soubory

Dospělí jedinci české národnosti s různým stupněm glukózové tolerance byli vyšetřováni v letech 2001-2023 v Endokrinologickém ústavu v Praze. Výzkum probíhá na souborech jedinců s poruchou glukózového metabolismu i jedinců s nově diagnostikovaným DM2 (na základě našeho vyšetření). Referenčním souborem jsou jedinci bez poruchy glukózové tolerance. Výzkumný i referenční soubor tvoří dospělé osoby do 70 let, bez závažných zdravotních komorbidit. Ženy nejsou vyšetřovány v době těhotenství. Celkem se výzkumu zúčastnilo 1262 jedinců, z toho 1035 žen (věk  $34,7 \pm 10,25$  let, průměr  $\pm$  směrodatná odchylka) a 227 mužů (věk  $36,5 \pm 13,13$  let, průměr  $\pm$  směrodatná odchylka).

Všichni účastníci podepsali informovaný souhlas a byli řádně informováni o průběhu vyšetření a seznámeni se všemi právy i povinnostmi spojenými s účastí ve studii.

Tab. 2 obsahuje podrobnější zhodnocení zdravotního stavu vyšetřených osob, pokud jde o přítomnost DM2 a poruch metabolismu glukózy (IFG, IGR, IGT). Dále tabulka obsahuje informace ohledně metabolického syndromu (diagnostikovaného podle kritérií NCEP\_ATPIII (Expert Panel On Detection, Evaluation, And Treatment Of High Blood Cholesterol In Adults, 2001)), pozitivní anamnézy GDM a syndromu polycystických ovarií (diagnostikovaného podle kritérií ESHRE (Anon., 2004)).

Tab. 2: Metabolická charakteristika osob

Typ poruchy	Počet jedinců
<b>DM2</b>	<b>17</b>
<b>Historie GDM</b>	<b>454</b>
<b>IFG</b>	<b>100</b>
<b>IGT</b>	<b>83</b>
<b>IGR</b>	<b>167</b>
<b>PCOS</b>	<b>189</b>
<b>MS</b>	<b>139</b>

Z 1262 účastníků mělo normální glukózovou toleranci 1095 účastníků (87 %), z toho bylo 904 žen (87 %) a 191 mužů (84 %). Porušená glukózová regulace (IFG/IGT/ DM2) byla zjištěna u 167 účastníků (13 %), z toho 131 žen (13 %) a 36 mužů (16 %).

## **4 Metody**

### **4.1 Anamnestická část**

Všichni účastníci vyplnili dotazník osobní a rodinné anamnézy a spánkový dotazník, které sloužily ke zjištění informací potřebných pro kompletaci anamnestických dat s vazbou k riziku diabetu. Před vyplněním dotazníku byli účastníci řádně proškoleni.

#### **4.1.1 Dotazníky osobní a rodinné anamnézy**

Účastníci vyplnili detailní dotazník obsahující rodinnou, osobní, příp. gynekologickou anamnézu, který slouží k získání všech informací týkajících se zdraví vyšetřované osoby a rodinných příslušníků, uveden v příloze 1.

Rodinná anamnéza obsahovala otázky týkající se zdraví rodičů, prarodičů, sourozenců a popř. vlastních dětí v případě, že je jim víc jak 18 let. V této sekci byl největší důraz kladen na anamnézu diabetes mellitus 2. typu či na anamnézu gestačního diabetu, věk diagnózy a typ léčby. Dále se otázky týkaly přítomnosti komplikací cukrovky, vysokého krevního tlaku (hypertenze), nadváhy či obezity, poruch metabolismu tuků (např. zvýšená hladina cholesterolu), onemocnění štítné žlázy (např. zvětšená štítná žláza, snížená či zvýšená funkce štítné žlázy), nádorového onemocnění, infarktu či jiných zdravotních komplikací (cévní příhody, ischemická choroba srdeční...).

Osobní anamnéza obsahuje otázky týkající se veškeré zdravotní historie vyšetřované osoby. V této části od vyšetřované osoby zjišťujeme, zda se s něčím léčí či léčil, jaké užívá léky, zda měl někdy problém s udržení hmotnosti, jestli nemá diabetes mellitus 2. typu a případně jeho komplikace.

Gynekologickou anamnézu vyplňují pouze ženy. Zde účastnice uvádějí informace týkající se menstruace (zda užívají antikoncepci, mají pravidelnou/nepravidelnou menstruaci) či zda prodělaly klimakterium. V případě, že účastnice byla v minulosti těhotná, tak v této části vyplní informace týkající se porodu a zda byl v průběhu těhotenství diagnostikován gestační diabetes mellitus.

Osobní dotazník zjišťuje rodinný stav, tedy zda vyšetřovaná osoba žije sama či s rodinou, bydliště a vzdělání, zda kouří, pije nějaké alkoholické nápoje a v jaké míře.

### **4.1.2 Spánkový dotazník**

Účastníci vyplnili spánkový dotazník, který slouží pro určení spánkových zvyklostí a chronotypu, uveden v příloze 2. Hodnocení probíhalo pomocí otázek z Munich ChronoType Questionnaire (Roenneberg et al., 2003), které byly přeloženy do českého jazyka.

V rámci tohoto dotazníku byli účastníci dotazováni, v kolik hodin obvykle usínají a vstávají v pracovní a volné dny, jak dlouho jim trvá usnout a ráno vstát z postele. Dále se dotazník zajímal, ve které části dne se cítí nejvíce aktivní. Součástí byly i otázky týkající se konzumace alkoholických nápojů a nápojů s obsahem kofeinu, neboť jde o látky ovlivňující bdělost.

## **4.2 Antropometrická část**

Studované soubory podstoupily antropometrické vyšetření, které zahrnovalo tělesnou výšku, tělesnou hmotnost, obvodové rozměry a tělesné složení. Vyšetření probíhalo standardizovanými technikami měření a byly použity kvalitní antropometrické nástroje, které slouží pro objektivní zhodnocení variability lidského těla. Antropometrická měření se prováděla pouze v nejnútnejším oblečení.

### **4.2.1 Tělesná výška**

Tělesná výška je vertikální vzdálenost mezi vertexem, což je nejvýše postavený bod na temeni hlavy, a zemí. Měření probíhá vestoje pomocí antropometru. Měřený proband stojí vzpřímeně zády ke svislé stěně, bez bot, s patami a špičkami nohou u sebe a hýždě a lopatky jsou v kontaktu se svislou stěnou. Hlava je ve vzpřímené poloze jako při pohledu do dálky.

### **4.2.2 Tělesná hmotnost**

Tělesná hmotnost byla měřena na bioimpedanční váze Tanita. Proband je měřen ve spodním prádle, s vyprázdněným močovým měchýřem, při vážení stojí klidně a rovnoměrně na obou chodidlech.

### 4.2.3 Obvodové tělesné rozměry

Obvodové měření bylo prováděno krejčovským metrem. Před samotným měřením je důležité zajistit správné držení těla. V rámci vyšetření byly měřeny následující ukazatele:

- **Obvod pasu** se měří v horizontální rovině v nejužším místě nad kyčlemi, mezi spodním okrajem posledního žebra a hřebenem kosti kyčelní. Normální hodnoty u žen jsou do 80 cm, u mužů do 94 cm. Při obvodu nad 80 cm u žen a nad 94 cm u mužů jde o nadváhu, resp. i mírně zvýšené zdravotní riziko. Za obezitu, resp. za vysoké zdravotní riziko, je považován obvod pasu vyšší než 88 cm u žen a 102 cm u mužů (Ross et al., 2020).
- **Obvod břicha** se měří v horizontální rovině ve výši pupku – omphalion.
- **Obvod gluteální** se měří v horizontálně rovině v místě nejvíce vyvinutého gluteálního svalstva.
- **Obvod paže** se měří v poloviční vzdálenosti mezi bodem akromiale a hrotem lokte (olecranon ulnae) na dominantní paži volně visící podél těla.

### 4.2.4 Měření tloušťky kožních řas

Kožní řasy byly měřeny pomocí kaliperu typu Best. Během měření byli probandi ve stoji a ve vzpřímeném postavení. Všechny kožní řasy byly měřeny na pravé straně těla probanda.

Při měření kožní řasu držíme palcem a ukazovákem levé ruky a dbáme na to, abychom do měření nezahrnuli svalovinu. Bylo měřeno pět kožních řas – suprailiakální, subscapulární, kožní řasa na břicho, kožní řasa nad tricepsem a kožní řasa nad bicipsem.

- **Kožní řasa na břicho** probíhá vodorovně a je měřena v  $\frac{1}{4}$  vzdálenosti mezi omphalion (střed pupku v mediální rovině) a iliospinale anterior.
- **Kožní řasa suprailiakální** je měřena zepředu, přibližně 3 cm nad hřebenem pravé kosti kyčelní v průsečíku hřebene (*crista iliaca*) a kolmice spuštěné z přední axiální čáry.
- **Kožní řasa subscapulární** je měřena pod dolním úhlem pravé lopatky. Probíhá mírně šikmo podle průběhu žebra. Během měření má proband uvolněné ramena a paže visí volně podél těla.



- **Kožní řasa nad tricepsem** se měří na zadní straně dominantní paže, v poloviční vzdálenosti mezi nadpažkem (*acromion*) a hrotem lokte. Po dobu měření je paže volně spuštěna vedle trupu.
- **Kožní řasa nad bicipsem** se měří na přední straně dominantní paže, v poloviční vzdálenosti mezi nadpažkem (*acromion*) a hrotem lokte. Po dobu měření je paže volně spuštěna vedle trupu.

#### 4.2.5 Tělesné složení

U všech probandů byly stanoveny následující indexy pro specifikaci tělesného složení.

- Index tělesné hmotnosti, obvykle označovaný zkratkou **BMI** (z angl. body mass index), je číslo vyjadřující vztah mezi tělesnou hmotností a tělesnou výškou. BMI vypočítáme vydělením hmotnosti (kg) daného člověka druhou mocninou jeho výšky (m). Normální hodnota BMI se pohybuje v rozmezí 18,5-25. Hodnota pod 18,5 signalizuje podváhu, hodnota nad 25 nadváhu a nad 30 obezitu. Při výpočtu je důležité zohlednit i věk probanda.
- Poměr obvodu pasu a boků, označovaný zkratkou **WHR** (z angl. waist hip ratio), se používá jako ukazatel distribuce tuku v těle. WHR vypočítáme jako poměr obvodu pasu (cm) k obvodu boků (cm).
- Index tělesné adipozity, označovaný zkratkou **BAI** (z angl. body adiposity index), slouží k odhadu množství tělesného tuku. K jeho výpočtu je potřeba znát obvod boků a tělesnou výšku (m).

Množství tělesného tuku bylo u probandů stanoveno osobní bioimpedanční váhou Tanita, která používá metodu BIA (bioelektrická impedanční analýza). Ke stanovení kompozice těla dochází na základě odlišné vodivosti svalové a tukové tkáně. Metoda využívá slabého elektrického proudu, který prochází tělem, přičemž ve svalové tkáni díky vysoké hydrataci a obsahu elektrolytů volně prochází, ale v tukové tkáni dochází k odporu vůči průchodu proudu.

### 4.3 Biochemická část

Biochemické parametry byly stanoveny z krevního séra a plazmy. Všem probandům byly odebrány krevní vzorky v 8 hodin ráno po celonočním půstu. V tab. 3 je přehled sledovaných biochemických parametrů. Kromě proinzulínu a glukagonu, jimž jsou věnované samostatné metodické kapitoly 4.3.1 a 4.3.2, byly parametry stanoveny v biochemické laboratoři Endokrinologického ústavu automatizovaným analyzátozem Cobas Integra, Roche.

Tab. 3: Sledované biochemické parametry

Biochemický parametr	Metoda stanovení
<b>Glukózový metabolismus</b>	
Glykémie (mmol/l)	Absorpční spektrofotometrie, Cobas Integra, Roche Diagnostics
C-peptid (nmol/l)	ECLIA, Cobas Integra, Roche Diagnostics
Inzulín (mIU/l)	ECLIA, Cobas Integra, Roche Diagnostics
Proinzulín (pmol/l)	ELISA, DRG Diagnostics
Glukagon (pmol/l)	RIA, DIAsource ImmunoAssays
<b>Lipidové spektrum</b>	
Celkový cholesterol (mmol/l)	Absorpční spektrofotometrie, Cobas Integra, Roche Diagnostics
HDL cholesterol (mmol/l)	Enzymatický kolorimetrický test, Cobas Integra, Roche Diagnostics
LDL cholesterol (mmol/l)	Výpočet: celkový cholesterol – (triacylglyceroly/2,2) – HDL cholesterol
Triacylglyceroly (mmol/l)	Enzymatický kolorimetrický test s LPL, Cobas Integra, Roche Diagnostics
<b>Marker hyperurikémie</b>	
Kyselina močová (μmol/l)	Enzymatický kolorimetrický test, Cobas Integra, Roche Diagnostics

### 4.3.1 Stanovení proinzulínu – ELISA

Proinzulín byl měřen pomocí komerčního kitu DRG Proinsulin ELISA kit (DRG International, Inc., USA). Jedná se o enzymatickou imunoanalýzu pro kvantitativní in vitro diagnostické měření proinzulínu v séru a plazmě.

Většina vzniklého proinzulínu v pankreatu se přeměňuje na inzulín a C-peptid, které jsou vylučovány do krve. Přibližně 15 % proinzulínu se nepřeměňuje a uvolní se jako proinzulín. Hladina proinzulínu v séru může být ukazatelem funkce beta buněk. Zvýšené hladiny proinzulínu nacházíme u starších pacientů, těhotných žen, obézních diabetiků, pacientů s inzulinomy, funkční hypoglykemií a hyperinzulinémií.

DGR Proinzulín ELISA kit je enzymatický imunisorbentní test na pevné fázi (ELISA) založený na sendvičovém principu. Mikrotitrační jamky jsou potaženy monoklonální protilátkou (primární) namířenou proti jedinečnému antigennímu místu na molekule proinzulínu. Alikvotní část vzorku pacienta obsahující endogenní proinzulín se inkubuje v potažené jamce společně s přidáním enzymového konjugátem, což je protilátka (sekundární) proti druhému antigennímu místu proinzulínu konjugovaná s křenovou peroxidázou. Po inkubaci se nenavázaný konjugát odmyje. Použití kombinace dvou protilátek zvyšuje specifitu záchytu molekuly proinzulínu. Množství navázané peroxidázy je úměrné koncentraci proinzulínu ve vzorku. Po přidání roztoku substrátu je intenzita zbarvení úměrná koncentraci proinzulínu ve vzorku pacienta a je odečítána vůči kalibrační křivce.

Stanovení jsem prováděla v následujících krocích dle návodu výrobce:

1. Pipetovala 100 µl každého standartu, kontroly a vzorků novými jednorázovými špičkami do příslušných jamek.
2. Přidala 100 µl testovacího pufru (assay buffer) do každé jamky.
3. Vortexovala (800 ot./min) po dobu 10 sekund.
4. Destičku zakryla těsnícím uzávěrem a inkubovala přes noc (16-24 hodin) při 4 °C.
5. Rychlým pohybem vytřepala obsah jamek do odpadu. Propláchla jamky 3x 350 µl promývacím roztokem (wash solution). Po každém promytí ostrým úderem obrácené destičky na savý papír odstranila zbývající kapičky.
6. Pipetovala 100 µl naředěného enzymového konjugátu (enzyme conjugate) do každé jamky.
7. Vortexovala (800 ot./min) po dobu 10 sekund.
8. Inkubovala 60 minut při pokojové teplotě (bez zakrytí destičky).

9. Rychle vytřepala obsah jamek do odpadu. Propláchla jamky 5x 350  $\mu$ l promývacím roztokem (wash solution) způsobem popsaným v bodu 5.
10. Přidala 100  $\mu$ l substrátového roztoku (substrate solution) do každé jamky.
11. Inkubovala 30 minut při pokojové teplotě.
12. Zastavila enzymatickou reakci přidáním 50  $\mu$ l zastavovacího roztoku (stop solution = 0,5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) do každé jamky.
13. Destička byla změřena na destičkovém ELISA readeru SPARK 10M (Tecan, Switzerland) OD při 450  $\pm$  10 nm do 10 minut po přidání zastavovacího roztoku (stop solution).

#### 4.3.2 Stanovení glukagonu – RIA

Glukagon byl měřen pomocí komerčního kitu kat. č.: RB350 DIASource Glucagon RIA (DIASource ImmunoAssays S.A., Belgie). Glukagon v plazmě je stanoven kompetitivním radioimunotestem za použití králičího antiséra vyvolaného proti konjugátu glukagon-albumin. Glukagon v kalibrátorech a vzorcích soutěží s glukagonem značeným <sup>125</sup>I ve vazbě na protilátky ve dvou krocích inkubace.

<sup>125</sup>I glukagon kompetuje vazbou v obráceném poměru ke koncentraci glukagonu v kalibrátorech a vzorcích. Protilátkou vázaný <sup>125</sup>I-glukagon se oddělí od nenavázané frakce za použití pevné fáze dvojité protilátky. Radioaktivita vázané frakce se měří v gama počítadle.

Žilní krev vyšetřovaných osob se odebírala do speciálních odběrových zkumavek obsahujících EDTA a aprotinin (BD). Vzorek se po odběru okamžitě ochladil v ledové tříšti a bez prodlevy centrifugoval v chlazené centrifuze. Odpipetovaná plasma se ihned zamrazila a skladovala bez rozmrazení při -18 °C do vlastního stanovení.

Stanovení jsem prováděla v následujících krocích dle návodu výrobce:

1. Příprava činidel:
  - a. Anti-glukagon: Lyofilizát jsem rekonstituovala přidáním 52 ml destilované vody (lze uchovávat při teplotě 2-8 °C).
  - b. <sup>125</sup>I-Glukagon: Rekonstituovala přidáním 52 ml destilované vody (lze chovávat při teplotě -18 °C nebo nižší).
2. Dvojitá protilátka v pevné fázi (DASP): Připravena k použití.
3. Ředící roztok: Připraven k použití.

4. Připravila pracovní kalibrátory glukagonu naředěním kalibrátoru 300 pmol/l kalibračním ředidlem podle následujícího postupu:
  - a. Lyofilizovaný kalibrátor rekonstituovala přidáním 5 ml destilované vody (300 pmol/l)
  - b. 1 ml kalibrátoru 300 pmol/l + 1 ml ředící roztok = 150 pmol/l
  - c. 1 ml kalibrátoru 150 pmol/l + 1 ml ředící roztok = 75 pmol/l
  - d. 1 ml kalibrátoru 75 pmol/l + 1 ml ředící roztok = 37,5 pmol/l
  - e. 1 ml kalibrátoru 37,5 pmol/l + 1 ml ředící roztok = 18,8 pmol/l
  - f. 1 ml kalibrátoru 18,8 pmol/l + 1 ml ředící roztok = 9,4 pmol/l
  - g. 1 ml kalibrátoru 9,4 pmol/l + 1 ml ředící roztok = 4,7 pmol/l
  - h. ředící roztok = 0 pmol/l
5. Připravila kontrolní vzorky glukagonu rekonstituováním 2 ml destilované vody.
6. Napipetovala 200  $\mu$ l kalibrátoru, 200  $\mu$ l kontrol (kalibrátory a kontroly se měří v duplikátech) a 200  $\mu$ l vzorků plazmy do příslušných polystyrenových zkumavek.
7. Napipetovala 200  $\mu$ l testovacího ředidla do zkumavek NBS pro kalibrátor (NBS zkumavka slouží pro stanovení nespecifické vazby).
8. Napipetovala 500  $\mu$ l anti-glukagonu do všech zkumavek kromě zkumavek NBS a TOT.
9. Napipetovala 500  $\mu$ l testovacího ředidla do zkumavek NBS.
10. Promíchala na vortexu a inkubovala po dobu 20-24 hodin při teplotě 2-8 °C.
11. Napipetovala 500  $\mu$ l 125I-glukagonu do všech zkumavek. TOT zkumavky jsem uzavřela parafilmem a držela stranou. TOT zkumavka slouží ke stanovení celkové aktivity.
12. Promíchala na vortexu a inkubovala reagenční zkumavky po dobu 20-24 hodin při teplotě 2-8 °C.
13. Přidala 100  $\mu$ l DASP do všech zkumavek kromě zkumavek TOT. Během pipetování jsem činidlo kontinuálně míchala na magnetické míchačce.
14. Promíchala všechny zkumavky na vortexu a inkubovala 30-60 minut při 2-8 °C.
15. Zkumavky centrifugovala po dobu 15 minut při + 4 °C (1700 x g).
16. Supernatant nad peletou ihned po odstředění odsála skleněnou kapilárou na vakuové odsávačce.
17. Změřila radioaktivitu pelet v jednotkách counts per minute (cpm) gama detektorem po dobu 2 minut ( $\gamma$ -counter LB2111, Berthold, USA).

18. Kalibrační křivka se vytvořila po odečtení cpm NSB vynesením vázaného cpm vůči kalibrační křivce, resp. % B/TOT.

#### **4.3.3 Orální glukózový toleranční test (OGTT)**

Orální glukózový toleranční test se běžně využívá k diagnostice porušené glukózové tolerance. Jeho cílem je posoudit schopnost organismu vyrovnat se s náhlým zvýšením hladiny glukózy v krvi.

Test se provádí nejlépe v ranních hodinách a po minimálně 8hodinovém lačnění. Před testem by se neměla provádět nadměrná fyzická aktivita a ani žádným způsobem vybočovat z obvyklých stravovacích návyků, již 24 hodin před testem by se také nemělo konzumovat větší množství alkoholu. Pro potřeby diplomové práce vycházíme z výsledků prodlouženého tříhodinového testu, ačkoliv v klinické praxi je obvyklý spíše test dvouhodinový. Proband by měl být po celou dobu testu přítomen v ordinaci, být v absolutním klidu a pod dohledem lékaře.

Před začátkem samotného testu je probandovi odebrán vzorek krve z důvodu stanovení bazálních hodnot biochemických parametrů. Následně dochází během 10 minut k vypití sladkého roztoku (75 g glukózy v 250 ml vody) a během následujících 3 hodin OGTT je každých 30 minut testu (30, 60, 90, 120, 150 a 180) odebrána krev pomocí kanyly a jsou analyzovány hladiny glukózy. Pro výzkumné účely jsou analyzovány též koncentrace inzulínu a C-peptidu. Během OGTT byly v 60min. intervalech měřeny i hladiny glukagonu (0, 60, 120, 180).

#### **4.3.4 Indexy IS/IR**

Ke zhodnocení funkce beta buněk a inzulínové senzitivity byly využity hodnoty glykémie a inzulinémie nalačno i v průběhu OGTT. O celkovém růstu glykémie během tří hodin testu vypovídá celková plocha pod glykemickou křivkou AUC gluc (z angl. area under the curve) (Floch et al., 1990). O odezvě pankreatu na přijatou glukózu svědčí zase celkové plochy pod křivkami inzulínu AUC ins a C-peptidu AUC cp. Pro podrobnější kvantifikaci inzulínové odezvy byly vypočítány následující indexy inzulínové senzitivity a funkce beta buněk pankreatu (viz tab. 4).

Tab. 4: Použité indexy inzulinové senzitivity/rezistence a odkaz na metodiku výpočtu

<b>HOMA-R</b>	Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. <i>Diabetologia</i> . 1985 Jul;28(7):412-9. doi: 10.1007/BF00280883. PMID: 3899825.
<b>QUICKY</b>	Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, Quon MJ. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. <i>J Clin Endocrinol Metab</i> . 2000 Jul;85(7):2402-10. doi: 10.1210/jcem.85.7.6661. PMID: 10902785.
<b>OGIS 120</b>	Mari A, Pacini G, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. <i>Diabetes Care</i> . 2001 Mar;24(3):539-48. doi: 10.2337/diacare.24.3.539. Erratum in: <i>Diabetes Care</i> . 2014 Jul;37(7):2063. PMID: 11289482.
<b>HOMA-beta</b>	Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. <i>Diabetologia</i> . 1985 Jul;28(7):412-9. doi: 10.1007/BF00280883. PMID: 3899825.
<b>IGI</b>	Goedecke JH, Dave JA, Faulenbach MV, Utzschneider KM, Lambert EV, West S, Collins M, Olsson T, Walker BR, Seckl JR, Kahn SE, Levitt NS. Insulin response in relation to insulin sensitivity: an appropriate beta-cell response in black South African women. <i>Diabetes Care</i> . 2009 May;32(5):860-5. doi: 10.2337/dc08-2048. Epub 2009 Feb 5. PMID: 19196884; PMCID: PMC2671086.

## 4.4 Genetická část

### 4.4.1 Izolace DNA

V molekulárně-genetických analýzách byla použita deoxyribonukleová kyselina (DNA) získaná z leukocytů periferní krve.

Izolace DNA byla prováděna pomocí poloautomatického přístroje QuickGene 610L (Fujifilm Life Science, Japan) kitem QuickGene DNA whole blood kit L (KURABO Industries, Japan).

Metoda je založena na vazbě DNA na tenké membráně z SiO<sub>2</sub> umístěné na dně průtočné kolonky. Postupovala jsem v následujících krocích dle návodu výrobce:

1. DNA uvolnila z buněk lyzačním pufrem v přítomnosti chaotropních solí a Proteinázy K za teploty 65 °C. Vzniklý lyzát přenesla do kolonek s membránou.
2. DNA se v přítomnosti ethanolu absorbovala na povrch membrány.
3. Zachycenou DNA na membráně pročistila cyklickým promýváním promývacím pufrem s obsahem ethanolu. Dochází tak k doplavení většiny kontaminujících složek.
4. Zachycenou DNA z membrány uvolnila elučním pufrem a přenesla do čisté zkumavky.
5. Koncentraci a čistotu získané DNA stanovila UV-spektrofotometricky (260 nm)
6. Pro další zpracování DNA ředila na pracovní koncentraci 10 ng/μl v TE pufru.
7. Dále se uchovává anonymně, pod kódy DNA v -20 °C.

#### 4.4.2 RealTime PCR

Kvantitativní polymerázová řetězová reakce (qPCR) označovaná také jako RealTime PCR vychází z klasické PCR a slouží pro kvantifikaci DNA. Tato metoda využívá speciálního cycleru, který v průběhu PCR, v každém cyklu, kontinuálně zaznamenává množství DNA. Detekce DNA je umožněna přítomností fluorescenčního substrátu, který je navázán na přítomnou DNA. Množství DNA je určenou hladinou fluorescence navázaného substrátu, která je detekována detektorem v každém amplifikačním kroku. RealTime PCR se obvykle provádí v 96jamkových destičkách a hladina fluorescence se zaznamenává v každé jamce.

Pro detekci polymorfismů genů *MTNR1B* a *NME7* byla použita tzv. Endpoint genotypizace s využitím TaqMan SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, USA) za pomoci specifických sod a primerů. Provedeno na přístroji LightCycler 480 (Roche, USA).

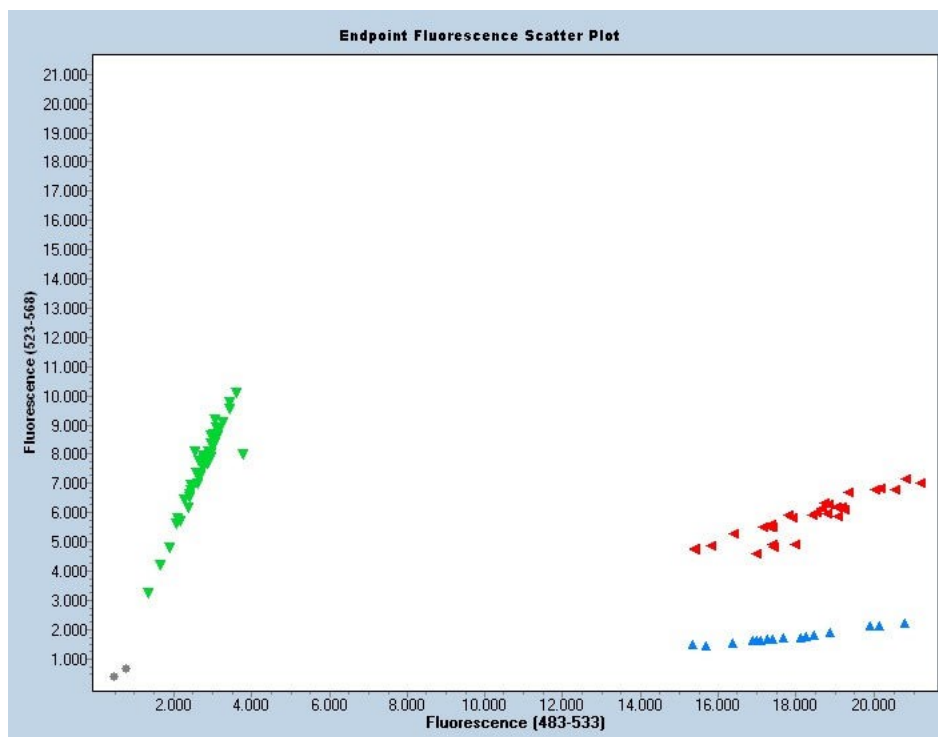
Postupovala jsem dle návodu výrobce v následujících krocích:



1. Připravila destičky: 1  $\mu$ l vzorku DNA (naředěný na pracovní koncentraci 10 ng/ $\mu$ l) přidala do 94 jamek destičky. Pipetovala na ledu, vysušila, zamrazila. Do dvou jamek napipetovala pouze vodu, která sloužila jako NTC (negative template control).
2. Protokol přípravy master mixu: 25  $\mu$ l TagMan sondy, 175  $\mu$ l sterilní H<sub>2</sub>O a 200  $\mu$ l 2X TagMan Genotyping Master Mixu (Applied Biosystems, USA).
3. Destičku s připravenou DNA odstředila na centrifuze. Do každé jamky napipetovala 5  $\mu$ l master mixu, destičku přelepila fólií a odstředila po dobu 1 minuty.
4. Následně destičku vložila do RealTime PCR LC480 (Roche) a byla spuštěna analýza. Amplifikace probíhala za následujících podmínek:

Reakční krok	Teplota	Čas
Denaturace	95 °C	10 min
Hybridizace	92 °C	15 s
Elongace	60 °C	1 min

5. Druhý a třetí krok se několikrát opakoval (35x).
6. Pro jednotlivé varianty stanovovaného polymorfismu se použila komplementární sonda značená odlišnou fluorescenční barvičkou FAM či VIC. Po proběhnutí dostatečného počtu amplifikačních cyklů vyhodnocovací program LC 480 odečetl zjištěné maximální fluorescence a na základě poměrů (end-point) intenzity fluorescence FAM/VIC byla jednotlivým vzorkům přiřazena konkrétní varianta polymorfismu.



Obr. 4: Výstup analýzy RT-PCR. Zelenou jsou označeni homozygoti CC, červenou heterozygoti CG a modrou barvou homozygoti GG.

## 4.5 Statistická část

Pro analýzu dat byly využity vhodné experimentální výpočty a metody, které jsou součástí statistického softwaru NCSS2020/PASS a Statgraphics Centurion XVI 16.0.07, Statpoint Technologies, Inc. Warrenton, VA, USA. Rozdíly v biochemických a antropometrických datech byly z důvodu významných odchylek od normálního rozdělení testovány neparametrickými metodami (Mann-Whitney test při porovnávání dvou skupin, Kruskal-Wallis test při srovnávání tří a více skupin) nebo byla data normalizována prostřednictvím logaritmické či mocninné transformace a pak mohla být použita parametrická metoda srovnávání (one-way ANOVA). Pro vícenásobné testování hladin glukózy, inzulínu a C-peptidu v jednotlivých časech OGTT a současném srovnávání tvaru křivek mezi skupinami (mezi oběma pohlavími či mezi jedinci s odlišnými časy kulminace glykémie během OGTT) byl použit GLM (z angl. general linear model) ANOVA model vícerozměrné regresní analýzy s jednotlivými časy OGTT a srovnávanými skupinami jako nezávislými kategoriemi.

Pro ověření Hardyho-Weinbergovy rovnováhy u studovaných genetických polymorfismů byl použit  $\chi^2$  kvadrát test. Pomocí  $\chi^2$  testu byly také porovnávány frekvence genotypů mezi jednotlivými skupinami. Ve všech prováděných analýzách byla hladina významnosti  $\alpha$  definována jako  $\alpha = 0,05$ , proto jsou za statisticky významné považovány hodnoty  $p < 0,05$ . Síla testu, neboli jeho rozlišovací schopnost, byla považována za dostatečnou při překročení hodnoty 0,8.

## 5 Výsledky

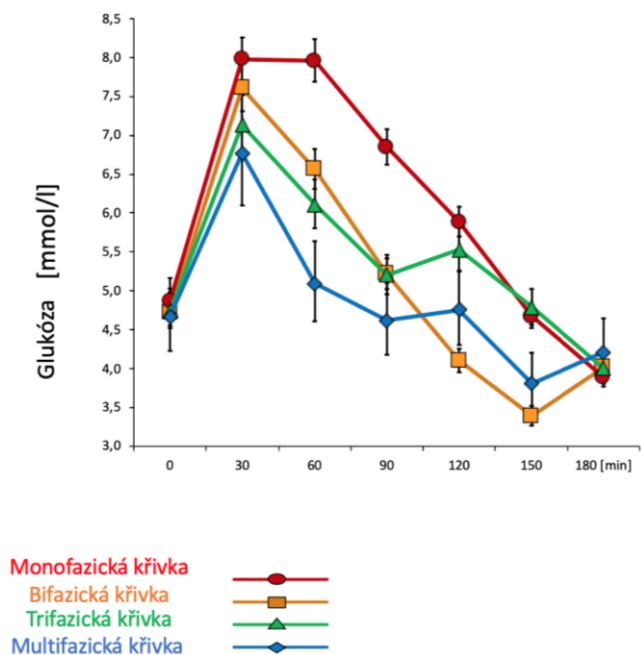
Výsledková část práce je rozdělena do tří kapitol sledujících vytčené cíle. První kapitola pojednává o tvaru glykemických křivek a jejich asociaci s poruchou glukózového metabolismu a dalších složek metabolického syndromu. Druhá kapitola se věnuje rozdílům v dynamice glykemických křivek mezi muži a ženami. Poslední kapitola hodnotí výsledky genetického testování v souvislosti se zpracováním glukózy.

### 5.1 Průběh glykemické křivky

#### 5.1.1 Tvar glykemické křivky

V rámci vyšetření všichni jedinci podstoupili OGTT, tj. vyšetření tvaru glykemické křivky. Na základě rozdílného průběhu, konkrétně podle počtu inflexních bodů, rozlišujeme čtyři tvary glykemické křivky (viz obr. 5):

- Monofazická křivka – glykémie se zvýšila a poté postupně klesala, křivka má tedy jeden vrchol a jeden inflexní bod.
- Bifazická křivka – glykémie vykazovala další nárůst po předchozím poklesu a tvar křivky je dvoufázový, se dvěma inflexními body.
- Trifazická křivka – tvar křivky se vyznačuje dvěma úplnými vrcholy, tedy třemi inflexními body.
- Multifazická křivka – složitější a heterogenní skupina tvarů křivek, mezi které patří křivky čtyřfázové i pětifázové, se třemi, resp. čtyřmi úplnými vrcholy.



Obr. 5: Morfologie různých typů glykemických trajektorií

Z 1262 zhodnocených křivek bylo 50 % (633) monofazických, 17,5 % (221) bifazických, 28 % (351) trifazických a 4,5 % (57) multifazických. V tab. 5. jsou shrnuta metabolická specifika osob dle typu glykemické křivky.

Tab. 5: Metabolická specifika osob dle typu glykemické křivky

	<b>Celkový počet</b>	<b>Monofazická křivka</b>	<b>Bifazická křivka</b>	<b>Trifazická křivka</b>	<b>Multifazická křivka</b>
<b>Celkový počet</b>	1262	633	221	351	57
<b>Ženy/Muži</b>	1035/227	533/100	147/74	308/43	47/10
<b>DM2</b>	17	15	1	1	0
<b>Historie GDM</b>	45	242	62	134	16
<b>PCOS</b>	189	87	24	64	14
<b>IGF</b>	100	70	8	21	1
<b>IGT</b>	83	65	2	15	1

V souboru byla nejvíce zastoupena monofazická křivka. Vyskytovala se u 88,2 % nově diagnostikovaných diabetiků, u 70 % jedinců s IFG a u 78,3 % jedinců s IGT. Z výsledků vyplývá, že u 75,4 % osob s monofazickou křivkou se vyskytuje porucha regulace glukózy. Rovněž 74,8 % osob s metabolickým syndromem diagnostikovaným podle NCEP\_ATPIII kritérií (Expert Panel On Detection, Evaluation, And Treatment Of High Blood Cholesterol In Adults, 2001) má monofazický průběh křivky. U lidí s normální glukózovou tolerancí se monofazická křivka vyskytovala v 46,3 %. Konkrétně u žen do této skupiny patří 53,3 % žen s historií GDM a 46 % žen s diagnostikovaným syndromem polycystických ovarií diagnostikovaných podle kritérií ESHRE (Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group., 2004).

Ženy i muži ve skupině s monofazickou křivkou měli průměrně vyšší obvod pasu, WHR a vyšší systolický krevní tlak. Dále je tento typ křivky spojen s nepříznivým lipidovým spektrem, u žen se jedná o vyšší triacylglyceroly, u mužů byl vyšší celkový i LDL cholesterol. Jak ukazuje tab. 6, ve skupině s monofazickým průběhem byly zaznamenány nejvyšší hladiny glukózy, inzulínu a C-peptidu nalačno, dále plochy pod glykemickou (AUC gluc), inzulínovou (AUC ins) a C-peptidovou (AUC cp) křivkou byly mnohem vyšší, v porovnání s ostatními skupinami. Byla pozorována také vyšší bazální inzulínová rezistence (HOMA-IR) a nižší inzulínová senzitivita (Quicky a OGIS 120). Z výsledků výše vyplývá, že monofazická křivka se ukazuje být méně zdravá pro obě pohlaví, než je tomu u ostatních typů křivek.

Tab. 6: AUC glykémie, inzulínu a C-peptidu na základě tvaru glykemické křivky

Počet jedinců n = 1262	Monofazická křivka n = 633	Bifazická křivka n = 221	Trifazická křivka n = 351	Multifazická křivka n = 57	p-level
AUC <sub>gluc</sub> (mmol*min/l)	1134 [1113; 1158]	947 [923; 972]	1004 [978; 1017]	897 [851; 927]	<0,01
AUC <sub>ins</sub> (mmol*min/l)	37557 [35415; 40338]	31266 [28872; 33633]	32040 [30996; 34020]	27198 [22743; 33777]	<0,05
AUC <sub>C-pep</sub> (mmol*min/l)	394350 [383550; 407100]	331200 [313650; 346950]	341550 [327900; 355800]	289500 [264450; 334200]	<0,05

údaje jsou uvedeny jako mediány [95 % LCL (lower confidence limit, dolní mez spolehlivosti); 95 % UCL (upper confidence limit, horní mez spolehlivosti)], p-level podle ANOVA testu

Při hodnocení žen s jiným než monofazickým průběhem křivky se ukázalo, že AUC gluc byla nejvyšší ve skupině trifazických křivek, oproti bi- a multifazickým křivkám, zatímco funkce beta buněk byla vyšší u bi- a multifazických žen než u trifazických. Z výsledků vyplývá, že u žen méně časté bifazické (14,2 %) a multifazické (4,5 %) křivky jsou spojeny s lepší glukózovou homeostázou, než je tomu u běžnějších trifazických křivek (29,8 %).

U mužů s jiným než monofazickým průběhem křivky byly též nalezeny rozdíly mezi bifazickou a trifazickou skupinou. Ve skupině s trifazickým průběhem křivky byl zjištěn větší obvod pasu a WHR, dále vyšší celkový cholesterol a hůře regulovaná glukózová homeostáza. Ukazuje se, že u mužů bohatě zastoupená bifazická křivka (32,6 %) přináší zdravotní výhody, oproti méně zastoupené trifazické křivce (18,9 %). Ve skupině s multifazickou křivkou zatím výsledky ukazují významně vyšší úroveň funkce beta buněk ve srovnání s ostatními skupinami, avšak vzorek mužů v této skupině zatím není dostatečný na vyvození dostatečně podloženého závěru.

Nejméně zastoupené byly u obou pohlaví multifazické křivky, které se pohybovaly okolo 4 %. Tyto křivky měli zejména nejmladší účastníci, u kterých byla nejlepší funkce beta buněk. Glykémie se v tomto případě navrátila k bazálním hodnotám nejrychleji ze všech srovnávaných kategorií, jak je znázorněno na obr. 5.

### **5.1.2 Umístění glykemického vrcholu**

Glykemický vrchol je nejvyšší bod na glykemické křivce během 3h OGTT. U 70 % účastníků vystoupala hladina glukózy do maximálních hodnot ve 30. minutě OGTT, z čehož vyplývá, že u 30 % osob došlo ke zpoždění glykemického vrcholu, které se tak posunulo až do 60. minuty, popř. do pozdějších fází testu. Stejně tak došlo k posunu nejvyšší hladiny inzulínu do pozdní fáze OGTT (tj. po 30. minutě) u 57,7 % účastníků a 84 % u C-peptidu. Posunutí glykemického vrcholu se pojí s nepříznivými zdravotními okolnostmi.

Na obr. 6 a 7 jsou grafy jednotlivých typů křivek znázorňující posun píku ze 30. minuty do pozdějšího času testu. Tvar jednotlivých křivek se mírně liší mezi muži a ženami.

### **Monofazická křivka**

U monofazické křivky docházelo k posunu glykemického vrcholu z 30. minuty do pozdější fáze testu poměrně často, a to u 42 % účastníků s monofazickým průběhem, což bylo spojeno s horší glukózovou tolerancí a dalších složek metabolického syndromu. Tento fakt potvrzují hodnoty lačné i stimulované glykémie, inzulinémie, C-peptidu a dalších ukazatelů funkce beta buněk.

Ženy s posunutým glykemickým vrcholem měly vyšší obvod pasu a břicha, vyšší WHR, BMI i % tělesného tuku. Robustnější postava se projevila ve zvýšení koncentrace triacylglycerolů i vyšší kyselině močové. Posun vrcholu také korespondoval s rozdíly v metabolismu glukózy. U žen s opožděným vrcholem byly zaznamenány vyšší lačné hladiny glukózy, inzulinu a C-peptidu, dále vyšší AUC gluc, AUC ins a AUC cp. Vyšší hladiny inzulinu jsou důsledkem snížené citlivosti tkání na inzulin a to nutí beta buňky k vyšší produkci inzulinu, což je zřetelné na ukazatelích funkce beta buněk.

U mužů posun glykemického vrcholu ze 30. minuty do pozdějších fází OGTT nevykazoval výrazné rozdíly v antropometrii. Opožděný vrchol je u mužů spojen s vyššími hladinami stimulované glukózy, inzulinu a C-peptidu a stejně jako u žen se sníženou citlivostí na inzulin.

Antropometrická a metabolická charakteristika mužů a žen podle umístění glykemického vrcholu na monofazické křivce je zobrazena v tab. 7.

### **Bifazická křivka**

U bifazické křivky bylo opoždění glykemického vrcholu méně časté (17 %), než tomu bylo u monofazického průběhu. Posun glykemického maxima nebyl z hlediska zhoršení metabolických parametrů natolik systematický jako u monofazické křivky. U žen i mužů s opožděným maximem byly zaznamenány vyšší hodnoty stimulované glukózy (od 60. minuty), C-peptidu i inzulinu a významně vyšší byla také AUC gluc. Data jsou uvedena v tab. 8.

### **Trifazická křivka**

Zpožděný glykemický vrchol se u trifazické křivky vyskytoval podobně často (20 %) jako u bifazické křivky.

U žen byl posun glykemického vrcholu spojen s vyšším obvodem pasu, obvodem břicha a WHR. U žen s opožděným maximem byla také vyšší stimulovaná glykémie (od 60. minuty), což se promítlo do AUC gluc, a nižší inzulinová senzitivita.



U mužů nebyl posun glykemického maxima spojen se statisticky významně horší antropometrií či metabolickými parametry, což ale může být způsobeno nízkým počtem mužů v této skupině.

Antropometrická a metabolická charakteristika mužů a žen podle umístění glykemického vrcholu na trifazické křivce je zobrazena v tab. 9.

### **Multifazická křivka**

Ve skupině s multifazickým průběhem křivky došlo k opoždění glykemického maxima v 5 %, ale vzhledem k jejich raritnímu výskytu se statisticky nehodnotily.

Tab. 7: Antropometrická a metabolická charakteristika mužů a žen podle umístění glykemického vrcholu na monofazické křivce

<b>Maximální glykemický vrchol u monofazické křivky během OGTT</b>						
	Ženy (n = 533)		p-level	Muži (n = 100)		p-level
	Ve 30. minutě testu n = 316	Po 30. minutě testu n = 217		Ve 30. minutě testu n = 53	Po 30. minutě testu n = 47	
<b>Antropometrie</b>						
Věk [roky]	33,5 [26,8; 40,9]	34,6 [29,4; 41,1]	0,103	35,6 [27; 44,5]	40,3 [25,8; 52,2]	0,373
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	23,7 [21; 27,5]	25,6 [21,1; 30,2]	0,007	24,8 [23; 28,1]	26,5 [23,5; 31,6]	0,149
BAI [%]	28,1 [25,4; 32,1]	29,9 [26,1; 34,1]	0,006	23,7 [22,1; 25,5]	24,4 [21,8; 27,2]	0,556
Systolický TK [mmHg]	114 [105; 124]	115 [108; 126]	0,179	128 [115; 139]	129 [117; 140]	0,963
Diastolický TK [mmHg]	72 [65,5; 79,5]	73 [67; 81]	0,078	77 [70; 87]	77 [70; 85,5]	0,775
Obvod břicha [cm]	86 [78,3; 95,2]	90,3 [79,9; 99,1]	0,007	89,3 [85,4; 100]	96 [84,7; 108]	0,201
Obvod pasu [cm]	76 [69,7; 86]	80,8 [71,9; 92,1]	0,002	86,9 [80,2; 95,1]	93,5 [82,1; 106]	0,153
WHR	0,766 [0,728; 0,812]	0,792 [0,743; 0,836]	0,002	0,865 [0,821; 0,919]	0,901 [0,852; 0,979]	0,072
<b>Lipidové spektrum</b>						
Celkový cholesterol [mmol/L]	4,57 [4,08; 5,2]	4,74 [4,09; 5,28]	0,343	4,95 [4,34; 5,41]	4,75 [4,17; 5,43]	0,574
HDL cholesterol [mmol/L]	1,57 [1,36; 1,79]	1,5 [1,24; 1,8]	0,091	1,3 [1,11; 1,47]	1,21 [1,02; 1,51]	0,503
LDL cholesterol [mmol/L]	2,6 [2,12; 3,11]	2,63 [2,06; 3,14]	0,873	3 [2,43; 3,4]	2,8 [2,18; 3,36]	0,25
Triacylglyceroly [mmol/L]	0,83 [0,64; 1,16]	1,03 [0,66; 1,48]	0,001	1 [0,74; 1,65]	1,16 [0,825; 2,15]	0,103
<b>Rozdíly v průběhu OGTT</b>						
Glukóza 0 min [mmol/L]	4,8 [4,5; 5,1]	4,8 [4,5; 5,4]	0,023	5 [4,7; 5,5]	5 [4,7; 5,4]	0,976
Glukóza 30 min	7,9 [7,1; 8,8]	8,2 [7,1; 9,1]	0,352	8,5 [7,5; 9,1]	8,5 [7,5; 9,85]	0,444

Glukóza 60 min	7,2 [6,38; 8,2]	9,2 [8,1; 10,6]	<0,001	7,6 [6,4; 9,1]	9,7 [8,25; 11]	<0,001
Glukóza 120 min	5,45 [4,7; 6,02]	6,7 [5,7; 7,7]	<0,001	5,4 [4,8; 6,1]	6,5 [5,3; 7,5]	<0,001
C-peptid 0 min [nmol/L]	0,58 [0,48; 0,74]	0,67 [0,52; 0,91]	0,001	0,61 [0,48; 0,86]	0,71 [0,485; 1,06]	0,188
C-peptid 30 min	2,13 [1,71; 2,66]	1,91 [1,46; 2,55]	<0,001	2,17 [1,85; 2,75]	2,1 [1,68; 2,73]	0,137
C-peptid 60 min	2,83 [2,29; 3,49]	2,9 [2,31; 3,71]	0,444	3,01 [2,51; 3,94]	3,29 [2,44; 3,71]	0,97
C-peptid 120 min	2,25 [1,82; 2,9]	2,88 [2,28; 3,74]	<0,001	2,19 [1,51; 2,88]	2,83 [2,08; 3,5]	0,006
Inzulín 0 min [mIU/L]	6,15 [4,5; 9,22]	7 [4,5; 12,9]	0,004	6,7 [5,3; 10,5]	7,1 [4,65; 11]	0,945
Inzulín 30 min	48,7 [34,6; 72,3]	43,7 [28,3; 66,6]	0,006	52,9 [37; 69,6]	42,4 [28,4; 61]	0,197
Inzulín 60 min	53 [35,9; 79,6]	60,9 [40,7; 98,7]	0,002	55,2 [40,5; 81,9]	60,2 [41,1; 98,4]	0,417
Inzulín 120 min	26,3 [17,4; 41,6]	43 [27,5; 81,6]	<0,001	21,3 [11,4; 38,1]	35,4 [18,8; 69,3]	0,003
AUC gluc	1050 [958; 1170]	1260 [1140; 1420]	<0,001	1110 [1000; 1210]	1230 [1130; 1430]	<0,001
AUC ins	34,600 [25,100; 50,400]	44,000 [29,600; 72,400]	<0,001	32,000 [24,000; 51,700]	42,400 [26,500; 64,300]	<0,001
AUC cp	374 x 10 <sup>3</sup> [317; 453] x 10 <sup>3</sup>	425 x 10 <sup>3</sup> [338; 546] x 10 <sup>3</sup>	<0,001	379 x 10 <sup>3</sup> [291; 483] x 10 <sup>3</sup>	440 x 10 <sup>3</sup> [331; 535] x 10 <sup>3</sup>	0,067
<b>Indexy inz. senzitivity/rezistence</b>						
HOMA-R	1,3 [0,905; 1,98]	1,52 [0,919; 2,9]	0,002	1,51 [1,11; 2,7]	1,53 [0,977; 2,61]	0,893
QUICKI	0,367 [0,344; 0,39]	0,358 [0,326; 0,389]	0,002	0,359 [0,329; 0,377]	0,358 [0,331; 0,385]	0,948
OGIS 120	459 [418; 498]	429 [368; 470]	<0,001	441 [393; 483]	425 [377; 468]	0,14
<b>Indexy funkce beta buněk</b>						
HOMA-beta	103 [71,3; 158]	105 [72,3; 171]	0,416	105 [72,5; 143]	106 [66,4; 133]	0,868
IGI	82,6 [54,5; 132]	69,2 [44,4; 117]	0,033	80,4 [62,7; 108]	59,9 [43,8; 112]	0,14

údaje jsou uvedeny jako mediány [95 % LCL (lower confidence limit, dolní mez spolehlivosti); 95 % UCL (upper confidence limit, horní mez spolehlivosti)], ns = nesignifikantní, p-level podle ANOVA testu

Tab. 8: Antropometrická a metabolická charakteristika mužů a žen podle umístění glykemického vrcholu na bifazické křivce

	<b>Maximální glykemický vrchol u bifazické křivky během OGTT</b>					
	Ženy (n = 147)		p-level	Muži (n = 74)		p-level
	Ve 30. minutě testu n = 124	Po 30. minutě testu n = 23		Ve 30. minutě testu n = 60	Po 30. minutě testu n = 14	
<b>Antropometrie</b>						
Věk [roky]	31,8 [25,2; 36,9]	39,2 [30,3; 41]	0,11	26,8 [23,7; 36,8]	31,4 [24; 40,4]	0,388
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	22,7 [20,3; 27]	24,3 [20; 28,1]	0,819	23,5 [21,7; 26,3]	24,6 [23,8; 27,8]	0,149
BAI [%]	26,7 [24,7; 31]	27,9 [25,3; 30]	0,806	22,3 [20,3; 23,4]	22,7 [21,6; 25,2]	0,07
Systolický TK [mmHg]	111 [102; 120]	120 [107; 127]	0,031	120 [114; 129]	115 [110; 120]	0,067
Diastolický TK [mmHg]	70 [64; 77]	74 [65,5; 82]	0,034	73 [69,5; 78,5]	69 [67; 75]	0,483
Obvod břicha [cm]	83 [77,1; 95,6]	88,1 [76,3; 95,5]	0,007	85,4 [79,2; 92]	88,6 [85,5; 95,3]	0,138
Obvod pasu [cm]	73 [69,3; 84,5]	75,5 [70,3; 85,5]	0,744	81 [76,4; 88,4]	84,2 [80; 91,6]	0,186
WHR	0,756 [0,718; 0,794]	0,756 [0,719; 0,859]	0,143	0,836 [0,802; 0,883]	0,848 [0,814; 0,909]	0,309
<b>Lipidové spektrum</b>						
Celkový cholesterol [mmol/L]	4,48 [4,07; 5,03]	4,58 [3,91; 5,25]	0,828	4,54 [3,82; 5,03]	4,3 [3,51; 4,56]	0,459
HDL cholesterol [mmol/L]	1,59 [1,38; 1,88]	1,5 [1,22; 1,81]	0,217	1,26 [1,07; 1,49]	1,26 [0,943; 1,39]	0,294
LDL cholesterol [mmol/L]	2,41 [2,07; 2,94]	2,56 [2,16; 2,88]	0,432	2,62 [2,04; 3,17]	2,46 [2,2; 2,83]	0,421
Triacylglyceroly [mmol/L]	0,75 [0,595; 1,11]	0,76 [0,6656 1,2]	0,579	1 [0,672; 1,44]	1,05 [0,845; 1,31]	0,365
<b>Rozdíly v průběhu OGTT</b>						
Glukóza 0 min [mmol/L]	4,75 [4,5; 5]	4,7 [4,35; 5]	0,462	4,7 [4,4; 4,93]	4,85 [4,6; 5,28]	0,11
Glukóza 30 min	7,6 [6,9; 8,53]	8,2 [6,75; 8,5]	0,566	7,75 [6,8; 8,7]	7,95 [7,48; 8,68]	0,476

Glukóza 60 min	6,35 [5,38; 7,4]	8,7 [7,85; 9,5]	<0,001	6 [5,2; 7,4]	8,45 [8,03; 9,45]	<0,001
Glukóza 120 min	4,2 [3,6; 4,93]	5,3 [4,3; 6,3]	<0,001	3,7 [3,3; 4,12]	4,5 [3,93; 4,85]	0,001
C-peptid 0 min [nmol/L]	0,58 [0,48; 0,74]	0,57 [0,455; 0,775]	0,841	0,515 [0,4; 0,632]	0,555 [0,465; 0,777]	0,115
C-peptid 30 min	2,15 [1,82; 2,79]	1,83 [1,43; 2,29]	0,005	2,43 [1,98; 2,8]	2,28 [1,7; 3,29]	0,946
C-peptid 60 min	2,8 [2,38; 3,33]	3,14 [2,62; 3,7]	0,103	2,71 [2,23; 3,52]	3,44 [2,75; 3,99]	0,054
C-peptid 120 min	1,71 [1,4; 2,22]	2,04 [1,73; 2,82]	<0,001	1,47 [0,978; 1,76]	2,12 [1,58; 2,75]	0,001
Inzulín 0 min [mIU/L]	6,05 [4,4; 8,88]	5,6 [3,75; 8,6]	0,774	5,55 [3,9; 7,43]	6,25 [4,43; 12,1]	0,078
Inzulín 30 min	51,9 [39,5; 71,3]	40,7 [23,2; 57,7]	0,002	47,1 [37,6; 63,3]	40 [32,1; 61,2]	0,846
Inzulín 60 min	53,9 [39,7; 72,8]	58 [41,4; 76,8]	0,389	38,3 [27,8; 63,7]	53,9 [46,3; 65,1]	0,119
Inzulín 120 min	18,6 [10,4; 26,9]	20,8 [13,3; 40,3]	0,018	11,4 [6,17; 14,2]	18,5 [12,5; 29,6]	0,002
AUC gluc	939 [847; 1030]	1090 [968; 1240]	<0,001	896 [820; 974]	1050 [1000; 1130]	<0,001
AUC ins	34,200 [25,900; 42,100]	31,200 [25,700; 47,900]	0,489	25,300 [18,500; 32,400]	27,800 [25,200; 46,600]	0,07
AUC cp	343 x 10 <sup>3</sup> [291; 393] x 10 <sup>3</sup>	344 x 10 <sup>3</sup> [310; 471] x 10 <sup>3</sup>	0,043	308 x 10 <sup>3</sup> [254; 379] x 10 <sup>3</sup>	441 x 10 <sup>3</sup> [308; 457] x 10 <sup>3</sup>	0,008
<b>Indexy inz. senzitivity/rezistence</b>						
HOMA-R	1,28 [0,917; 1,88]	1,1 [0,749; 1,84]	0,698	1,15 [0,761; 1,54]	1,38 [0,91; 2,38]	0,048
QUICKI	0,368 [0,374; 0,389]	0,377 [0,349; 0,403]	0,663	0,375 [0,358; 0,402]	0,365 [0,336; 0,39]	0,053
OGIS 120	482 [455; 519]	467 [441; 511]	0,3	500 [465; 527]	482 [429; 494]	0,016
<b>Indexy funkce beta buněk</b>						
HOMA-beta	100 [73,2; 154]	102 [69,7; 216]	0,659	104 [63,1; 141]	84 [58,7; 178]	0,542
IGI	104 [67; 169]	55,9 [37,7; 93]	<0,001	84,5 [63,8; 122]	73,6 [44,4; 186]	0,676

údaje jsou uvedeny jako mediány [95 % LCL (lower confidence limit, dolní mez spolehlivosti); 95 % UCL (upper confidence limit, horní mez spolehlivosti)], ns = nesignifikantní, p-level podle ANOVA testu

Tab. 9: Antropometrická a metabolická charakteristika mužů a žen podle umístění glykemického vrcholu na trifazické křivce

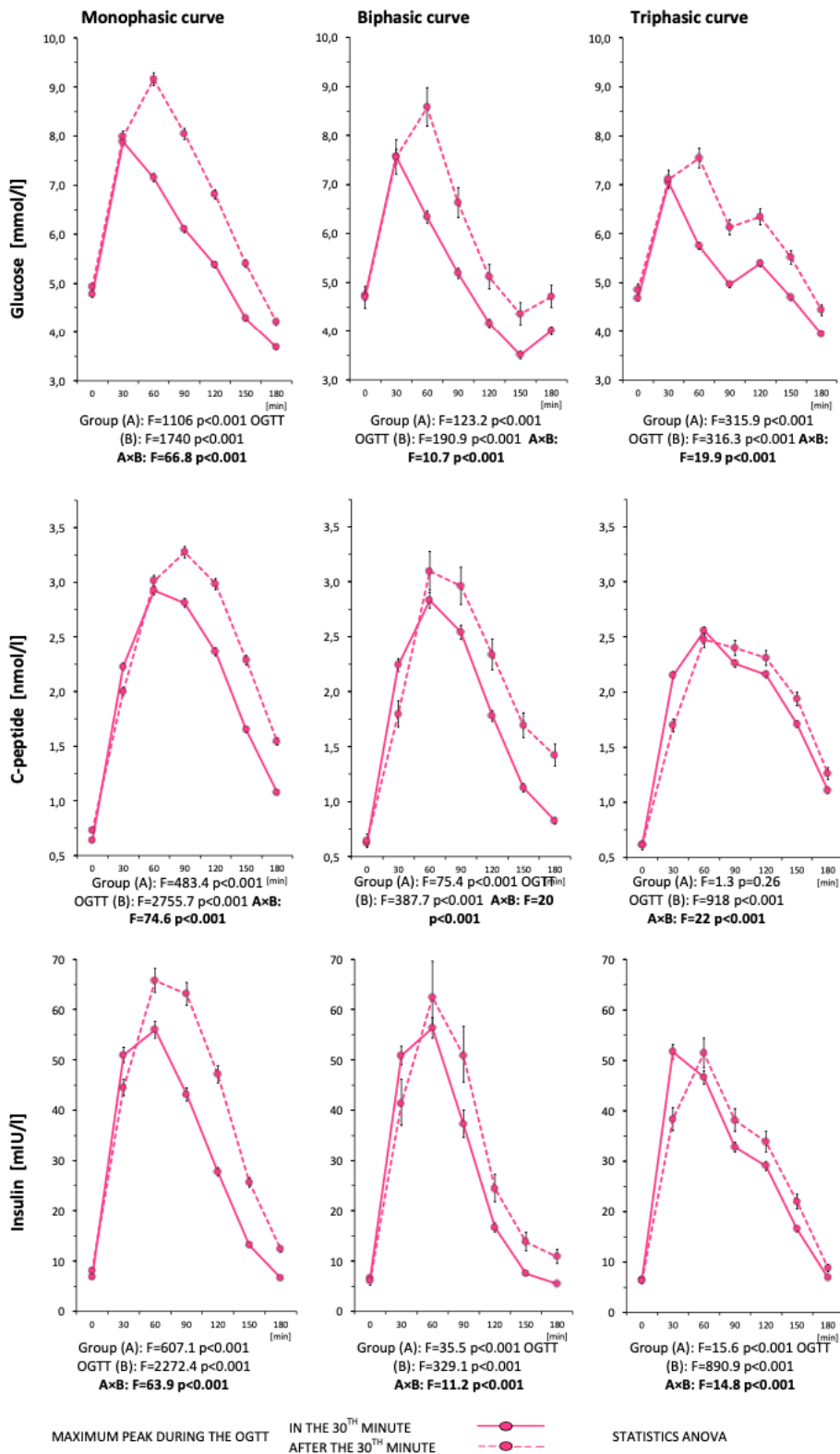
	<b>Maximální glykemický vrchol u trifazické křivky během OGTT</b>					
	Ženy (n = 308)		p-level	Muži (n = 43)		p-level
	Ve 30. minutě testu n = 249	Po 30. minutě testu n = 59		Ve 30. minutě testu n = 31	Po 30. minutě testu n = 12	
<b>Antropometrie</b>						
Věk [roky]	32,6 [27,1; 38,1]	34,6 [30,7; 39,7]	0,0021	38,4 [30,8; 45,9]	34,6 [31,5; 49,5]	0,995
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	22,8 [20,7; 25,8]	23,5 [21; 27,3]	0,271	25,3 [23,7; 27,6]	24,6 [22; 26,1]	0,188
BAI [%]	27,4 [25,3; 30,6]	28,1 [25,7; 31,9]	0,605	23,4 [21,3; 25,2]	23 [20,2; 23,9]	0,21
Systolický TK [mmHg]	111 [103; 119]	112 [105; 122]	0,661	121 [112; 133]	122 [116; 126]	0,925
Diastolický TK [mmHg]	70 [64,8; 79]	73 [67; 77]	0,289	75 [67; 81]	66,5 [63,3; 78,3]	0,348
Obvod břicha [cm]	83,6 [77,6; 90,9]	85,5 [80,9; 93,5]	0,016	92,1 [86,7; 97,1]	89,2 [82,5; 95,1]	0,22
Obvod pasu [cm]	74 [68,8; 80]	75,1 [71; 85,3]	0,049	88,2 [83,1; 93,6]	87,1 [80,3; 93,4]	0,443
WHR	0,75 [0,721; 0,791]	0,767 [0,727; 0,816]	0,022	0,876 [0,839; 0,926]	0,888 [0,844; 0,92]	0,47
<b>Lipidové spektrum</b>						
Celkový cholesterol [mmol/L]	4,52 [3,97; 5,03]	4,66 [4,05; 5,26]	0,167	4,84 [4,47; 5,32]	4,98 [3,87; 5,65]	0,777
HDL cholesterol [mmol/L]	1,61 [1,37; 1,87]	1,55 [1,29; 1,82]	0,292	1,24 [1,11; 1,54]	1,15 [1,01; 1,51]	0,491
LDL cholesterol [mmol/L]	2,4 [2,05; 2,94]	2,64 [2,09; 3,3]	0,102	2,99 [2,4; 3,34]	2,79 [2,28; 3,5]	0,888
Triacylglyceroly [mmol/L]	0,785 [0,57; 1,06]	0,705 [0,543; 1,06]	0,696	0,94 [0,765; 1,63]	1,18 [0,89; 1,47]	0,415
<b>Rozdíly v průběhu OGTT</b>						
Glukóza 0 min [mmol/L]	4,7 [4,4; 4,9]	4,9 [4,6; 5,1]	0,012	5 [4,8; 5,3]	4,7 [4,5; 5,08]	0,565
Glukóza 30 min	7,2 [6,3; 8]	7,3 [6,25; 8,1]	0,708	7,8 [7,05; 8,45]	7,65 [6,65; 8,5]	0,987

Glukóza 60 min	5,8 [5; 6,7]	7,6 [6,45; 8,85]	<0,001	6,5 [5,85; 7,45]	7,85 [6,42; 9,42]	0,03
Glukóza 120 min	5,4 [4,8; 6,2]	6,3 [5,8; 7,3]	<0,001	5,5 [4,85; 6,4]	5,75 [4,28; 6,1]	0,734
C-peptid 0 min [nmol/L]	0,58 [0,49; 0,73]	0,56 [0,45; 0,685]	0,388	0,57 [0,445; 0,75]	0,565 [0,492; 0,638]	0,752
C-peptid 30 min	2,14 [1,74; 2,56]	1,67 [1,35; 2,01]	<0,001	2,05 [1,42; 2,62]	1,7 [1,52; 1,91]	0,391
C-peptid 60 min	2,46 [2,09; 3,02]	2,35 [1,94; 2,9]	0,034	2,13 [1,55; 3,1]	2,62 [2,16; 2,76]	0,425
C-peptid 120 min	2,11 [1,72; 2,59]	2,25 [1,85; 2,96]	0,112	1,68 [1,26; 2,56]	1,86 [1,41; 2,46]	0,604
Inzulín 0 min [mIU/L]	5,9 [4,4; 8,4]	5,7 [4,05; 8,2]	0,571	6,2 [4,6; 9,35]	4,7 [3,2; 6,47]	0,178
Inzulín 30 min	52,1 [36,5; 69,5]	37,9 [25,6; 49,6]	<0,001	40,7 [27,1; 72,9]	30,5 [24,6; 61,3]	0,412
Inzulín 60 min	44,4 [31,4; 63,3]	48,2 [36,4; 61,9]	0,096	35,7 [19,7; 60,6]	45 [33,8; 62,4]	0,393
Inzulín 120 min	28,8 [20,9; 40,9]	33 [22,9; 46,9]	0,05	17,9 [10,5; 36,6]	23,8 [10,4; 40,2]	0,948
AUC gluc	972 [881; 1080]	1110 [1010; 1220]	<0,001	1030 [943; 1090]	1020 [957; 1200]	0,642
AUC ins	32,700 [25,200; 43,800]	33,100 [24,700; 47,900]	0,633	29,300 [17,700; 43,200]	29,900 [19,400; 35,000]	0,905
AUC cp	364 x 10 <sup>3</sup> [295; 410] x 10 <sup>3</sup>	333 x 10 <sup>3</sup> [286; 416] x 10 <sup>3</sup>	0,593	294 x 10 <sup>3</sup> [234; 406] x 10 <sup>3</sup>	312 x 10 <sup>3</sup> [246; 380] x 10 <sup>3</sup>	0,789
<b>Indexy inz. senzitivity/rezistence</b>						
HOMA-R	1,24 [0,841; 1,8]	1,22 [0,808; 1,74]	0,966	1,42 [1,01; 2]	1,09 [0,683; 1,4]	0,113
QUICKI	0,37 [0,349; 0,395]	0,371 [0,351; 0,398]	0,758	0,362 [0,344; 0,383]	0,379 [0,364; 0,41]	0,129
OGIS 120	466 [433; 505]	438 [404; 478]	<0,001	440 [406; 468]	448 [437; 489]	0,101
<b>Indexy funkce beta buněk</b>						
HOMA-beta	108 [78,2; 148]	90,9 [64,4; 124]	0,004	88,2 [58,1; 133]	79 [55,5; 116]	0,843
IGI	117 [81,2; 166]	80,4 [59,3; 139]	<0,001	83,3 [53,5; 157]	61 [47,4; 103]	0,033

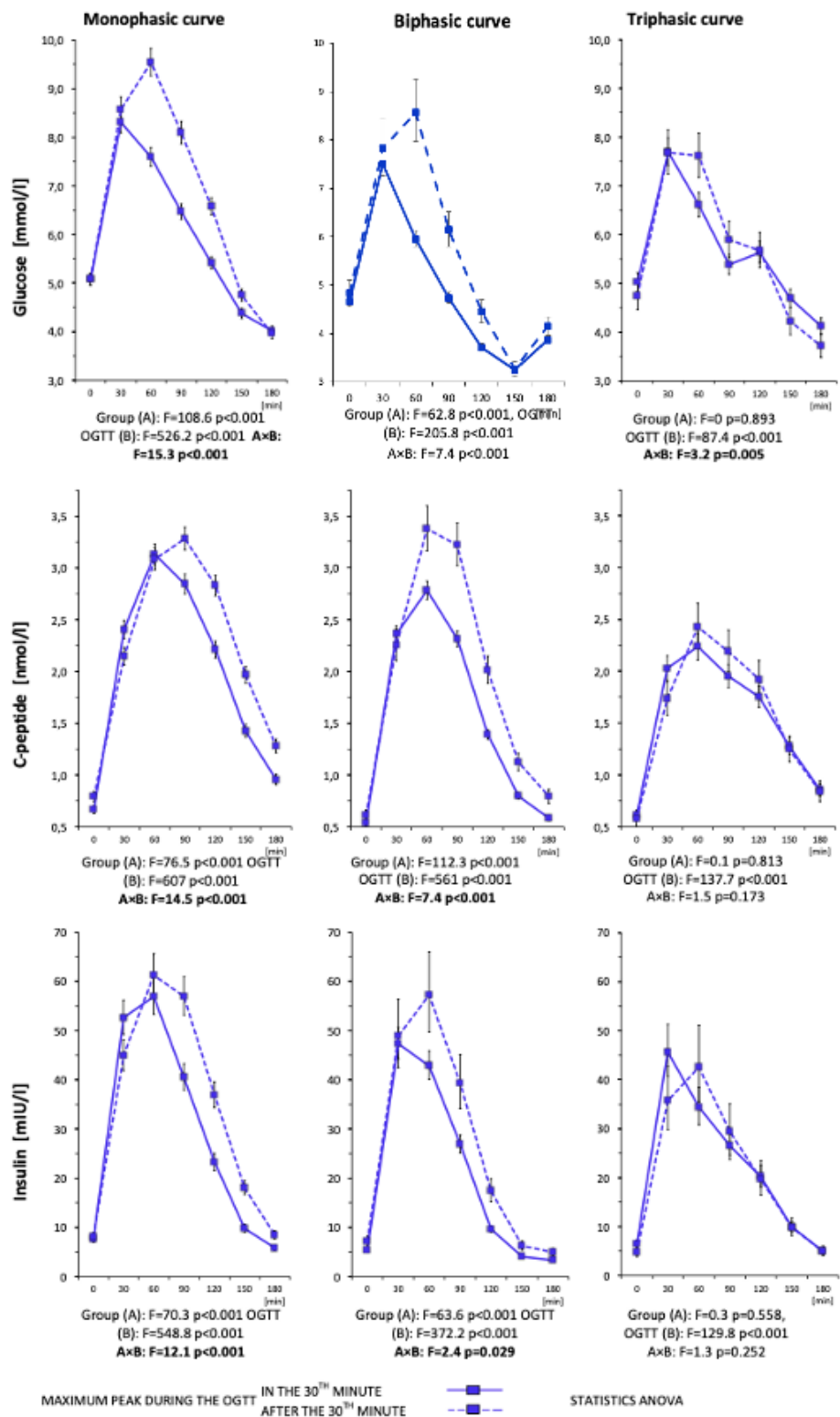
údaje jsou uvedeny jako mediány [95 % LCL (lower confidence limit, dolní mez spolehlivosti); 95 % UCL (upper confidence limit, horní mez spolehlivosti)], ns = nesignifikantní, p-level podle ANOVA testu

Z výše popsaných výsledků vyplývá, že opoždění glykemického maxima je spojeno s výraznějšími zdravotními riziky. Nejvýraznější riziko představuje z biochemického hlediska posun vrcholu u nositelů monofazické křivky ve srovnání s nositeli ostatních typů křivek. Toto vyšší metabolické riziko dobře koresponduje se zhoršeným metabolickým profilem. Trifazická křivka s opožděným maximem se ukazuje být méně riziková, porovnáme-li ji s opožděnou křivkou monofazickou. Jako nejméně riziková se jeví opožděná křivka s bifazickým průběhem a dále opožděné křivky multifazické, které byly ovšem velmi vzácné.





Obr. 6: Křivky znázorňující průběh glykémie, inzulinémie a C-peptidu během 3h OGTT. Na křivkách je demonstrován posun píku od 30. minuty do pozdějších fází testu u žen.



Obr. 7: Křivky znázorňující průběh glykémie, inzulinémie a C-peptidu během 3h OGTT. Na křivkách je demonstrován posun píku od 30. minuty do pozdějších fází testu u mužů.

### 5.3 Intersexuální rozdíly v dynamice zpracování glukózy

Výsledky studie dokládají, že mezi ženami a muži existují četné antropometrické a metabolické rozdíly, které jsou znázorněny v tab. 10.

Z hlediska antropometrie mají muži vyšší obvod pasu i břicha a vyšší BMI i WHR index. U žen je vyšší index tělesné adipozity (BAI), což je metoda odhadu množství tělesného tuku.

Muži se od žen odlišují zejména nepříznivým lipidovým spektrem (nižší HDL, vyšší LDL a triacylglyceroly). Z hlediska zaměření diplomové práce jsou nejdůležitější rozdíly v dynamice zpracování glukózy. U mužů byla zaznamenána nižší glukózou stimulovaná produkce inzulínu a C-peptidu (nižší inzulinémie od 60. minuty, C-peptid od 120. minuty), dále nižší indexy funkce beta buněk pankreatu (HOMA-beta, IGI, poměr AUC ins/AUC gluc a AUC cp/AUC gluc).

Možným vysvětlením intersexuálních rozdílů v biochemii je právě výše uvedené odlišné tělesné složení žen a mužů, především vyšší zastoupení centrálně uloženého tuku.

Tab. 10: Antropometrická a biochemická charakterizace mužů a žen ve studovaném souboru

	<b>Ženy (n = 1035)</b>	<b>Muži (n = 227)</b>	<b>p-level</b>
<b>Antropometrické rozdíly</b>			
Věk [roky]	33,3 [27,4; 39,4]	34 [25,8; 45,5]	0,298
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	23,5 [20,8; 27,7]	24,8 [22,7; 27,5]	<0,001
BAI [%]	28 [25,4; 31,7]	23,2 [21,1; 25,2]	<0,001
Systolický krevní tlak [mmHg]	113 [104; 123]	123 [114; 133]	<0,001
Diastolický krevní tlak [mmHg]	71 [65; 79]	75 [68; 83]	<0,001
Obvod břicha [cm]	85 [78,5; 95,2]	89,3 [82,6; 98,9]	<0,001
Obvod pasu [cm]	75,5 [69,9; 85,1]	86,3 [79,3; 95,1]	<0,001
WHR	0,764 [0,724; 0,808]	0,864 [0,821; 0,919]	<0,001
<b>Lipidové spektrum</b>			
Celkový cholesterol [mmol/L]	4,58 [4,03; 5,18]	4,7 [4; 5,23]	0,613
HDL cholesterol [mmol/L]	1,57 [1,33; 1,83]	1,26 [1,04; 1,51]	<0,001
LDL cholesterol [mmol/L]	2,53 [2,07; 3,05]	2,79 [2,2; 3,3]	0,001
Triacylglyceroly [mmol/L]	0,83 [0,6; 1,18]	1,01 [0,74; 1,59]	<0,001
<b>Rozdíly v průběhu OGTT</b>			

Glukóza 0 min [mmol/L]	4,7 [4,5; 5,1]	4,8 [4,6; 5,3]	0,001
Glukóza 30 min	7,6 [6,7; 8,6]	8 [7,15; 8,9]	<0,001
Glukóza 60 min	7 [5,8; 8,4]	7,4 [5,9; 9]	0,042
Glukóza 120 min	5,5 [4,7; 6,5]	5 [4; 6]	<0,001
C-peptid 0 min [nmol/L]	0,59 [0,48; 0,76]	0,58 [0,45; 0,79]	0,249
C-peptid 30 min	2,05 [1,67; 2,58]	2,18 [1,74; 2,74]	0,015
C-peptid 60 min	2,69 [2,21; 3,36]	2,74 [2,23; 3,51]	0,327
C-peptid 120 min	2,23 [1,76; 2,9]	1,89 [1,38; 2,71]	<0,001
Inzulín 0 min [mIU/L]	6,1 [4,4; 9,25]	6,2 [4,3; 9,55]	0,443
Inzulín 30 min	47,6 [33; 69,8]	45,9 [32,8; 65,1]	0,359
Inzulín 60 min	51,5 [35,6; 75]	48,4 [30,2; 74,1]	0,018
Inzulín 120 min	28,9 [18,4; 44,9]	17,5 [10,2; 32,3]	<0,001
AUC gluc	1050 [926; 1200]	1040 [914; 1190]	0,733
AUC ins	34,800 [25,900; 50,400]	29,500 [20,000; 47,000]	<0,001
AUC cp	362 x 10 <sup>3</sup> [307; 447] x 10 <sup>3</sup>	338 x 10 <sup>3</sup> [281; 445] x 10 <sup>3</sup>	0,011
<b>Indexy inzulínové senzitivity</b>			
HOMA-R	1,3 [0,89; 2,04]	1,33 [0,9; 2,1]	0,915
QUICKI	0,368 [0,343; 0,391]	0,366 [0,341; 0,39]	0,944
OGIS 120	458 [418; 497]	457 [410; 500]	0,578
<b>Indexy funkce beta buněk</b>			
HOMA-beta	104 [73,3; 157]	101 [65,6; 140]	<0,001
IGI	91,6 [58,9; 151]	80,5 [53; 128]	0,005

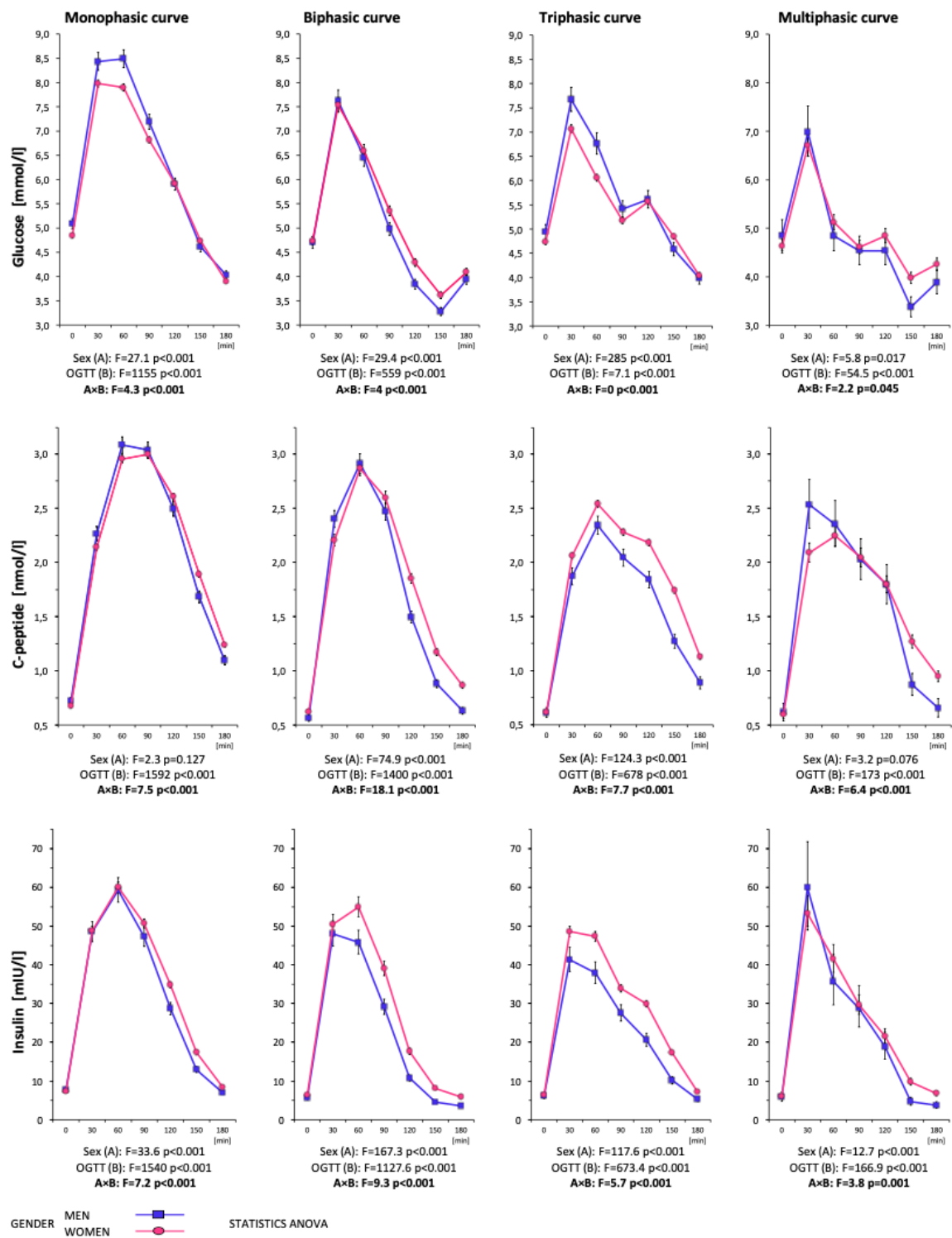
údaje jsou uvedeny jako mediány [95 % LCL (lower confidence limit, dolní mez spolehlivosti); 95 % UCL (upper confidence limit, horní mez spolehlivosti)], ns = nesignifikantní, p-level podle ANOVA testu

Zpracování glukózy probíhá u mužů a žen také odlišně, patrné je to zejména na odlišném zastoupení jednotlivých typů glykemických křivek, jak znázorňuje tab. 11. Největší rozdíl je v zastoupení bifazických a trifazických křivek, přičemž bifazické křivky jsou ve vyšším procentu u mužů (33 % vs. 14 % u žen), zatímco trifazické křivky jsou ve vyšším procentu zastoupeny u žen (30 % vs. 19 % u mužů).

Tab. 11: Tabulka znázorňující zastoupení jednotlivých typů glykemických křivek u mužů a žen

Typy křivek	Ženy (n = 1035)	Muži (n = 227)	p-level
<b>Monofazické</b>	533 (51 %)	100 (44 %)	Chi <sup>2</sup> = 45,9 p<0,0001 Síla testu = 1,0
<b>Bifazické</b>	<b>147 (14 %)</b>	<b>74 (33 %)</b>	
<b>Trifazické</b>	<b>308 (30 %)</b>	<b>43 (19 %)</b>	
<b>Multifazické</b>	47 (5 %)	10 (4 %)	

Vedle rozdílného zastoupení typů glykemických křivek nalezneme rozdíly i v průběhu glykemických, inzulinemických i C-peptidových křivek, jak znázorňují grafy na obr. 8. Významná je jasně vyšší a opožděná sekrece inzulínu u žen ve srovnání s muži (zejména je tento rozdíl vidět u bifazických a trifazických křivek), u kterých je sekrece inzulínu mnohem nižší.



Obr. 8: Křivky znázorňující průběh glykémie, inzulinémie a C-peptidu během 3h OGTT u mužů a žen.

## 5.4 Polymorfismy genů *MTNR1B* a *NME7*

### 5.4.1 *MTNR1B*

U genu *MTNR1B* byl sledován polymorfismus rs10830963, konkrétně jeho minoritní alela G a jeho případná souvislost s citlivostí na inzulín, funkcí beta buněk, tvarem křivek glukózy, inzulínu a C-peptidu.

Asociace daného polymorfismu byla testována na souboru 1206 jedinců, z toho bylo 985 žen a 221 mužů. Účastníci byli na základě výsledků OGTT rozděleni do třech skupin:

- DM2 skupina: u 13 osob byl nově diagnostikován DM2 na základě splnění jednoho či obou kritérií zároveň (glykémie nalačno  $\geq 7$  mmol/l, glykémie po 120 minutách OGTT  $\geq 11,1$  mmol/l)
- IFG/IGT skupina: 119 osob mělo IFG (glykémie nalačno  $\geq 5,6$  mmol/l) nebo IGT (glykémie ve 120. minutě OGTT  $\geq 7,8$  mmol/l) nebo obě kritéria najednou
- Kontrolní skupina: 1074 jedinců mělo normální výsledky testu (glykémie nalačno  $< 5,6$  mmol/l a hladina plazmatické glukózy po 120 minutách testu byla nižší než 7,8 mmol/l)

### **Asociace polymorfismu rs10830963 genu *MTNR1B* s citlivostí na inzulín a funkcí beta buněk**

Genetické testování odhalilo, že frekvence minoritní rizikové alely G byla v celém souboru 33,2 %. Ve skupině IFG/IGT byla vyšší frekvence minoritní alely G ve srovnání s kontrolní skupinou (40,7 % vs. 32,4 %,  $p = 0,01$ ). Rizikový genotyp GG byl přítomen u 23 % diabetiků, 17 % jedinců s IFG/IGT a 11 % kontrol ( $p=0.02$ ).

V tab. 12 jsou zobrazeny jednotlivé parametry glukózového metabolismu v závislosti na genotypu *MTNR1B* rs10830963.

Tab. 12: Parametry glukózového metabolismu v závislosti na genotypu *MTNR1B* rs10830963

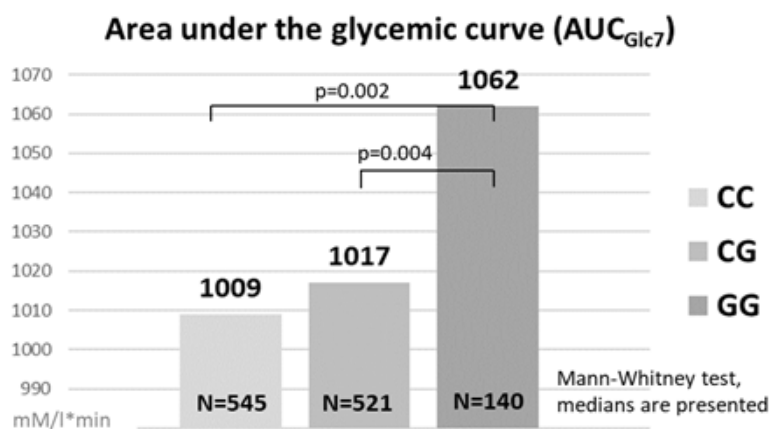
<b>Parametry glukózového metabolismu</b>	<b>CC (n = 545)</b>	<b>CG (n = 521)</b>	<b>GG (n = 140)</b>	<b>p-level</b>
<b>Bazální glykémie (nM/l)</b>	4,7 [4,6; 4,7]	4,7 [4,7; 4,8]	4,8 [4,7; 4,9]	CCxGG p = 0,01
<b>Bazální inzulinémie (mIU/l)</b>	6,3 [5,9; 6,5]	5,9 [5,5; 6,2]	5,65 [4,9; 6,4]	ns
<b>Bazální C-peptid (nM/l)</b>	0,61 [0,59; 0,63]	0,57 [0,55; 0,60]	0,57 [0,54; 0,62]	ns
<b>AUC<sub>gluc</sub> (nM x min/l)</b>	1009,5 [993; 1038]	1017 [1002; 1040]	1062 [1021,5; 1105,5]	CGxGG p=0,004 CCxGG p=0,002
<b>AUC<sub>ins</sub> (pM x min/l)</b>	33201 [31464; 34893]	31248 [30267; 33489]	35752,5 [31977; 39870]	CGxGG p = 0,04
<b>AUC<sub>C-pep</sub> (pM x min/l)</b>	3,7x10 <sup>5</sup> [3,5x10 <sup>5</sup> ; 3,8x10 <sup>5</sup> ]	3,5x10 <sup>5</sup> [3,4x10 <sup>5</sup> ; 3,7x10 <sup>5</sup> ]	3,9x10 <sup>5</sup> [3,5x10 <sup>5</sup> ; 4,2x10 <sup>5</sup> ]	CGxGG p=0,01
<b>HOMA-B (mIU/mM)</b>	112,5 [106,7; 118, 2]	98,8 [94,7; 106,2]	93,8 [80,0; 106,7]	CCxCG p=0,002 CCxGG p=0,003
<b>HOMA-R (mIU x mM/l<sup>2</sup>)</b>	1,30 [1,23; 1,36]	1,25 [1,18; 1,32]	1,24 [1,04; 1,36]	ns

údaje jsou uvedeny jako mediány [95 % LCL (lower confidence limit, dolní mez spolehlivosti); 95 % UCL (upper confidence limit, horní mez spolehlivosti)], ns = nesignifikantní, p-level podle Mann-Whitney testu

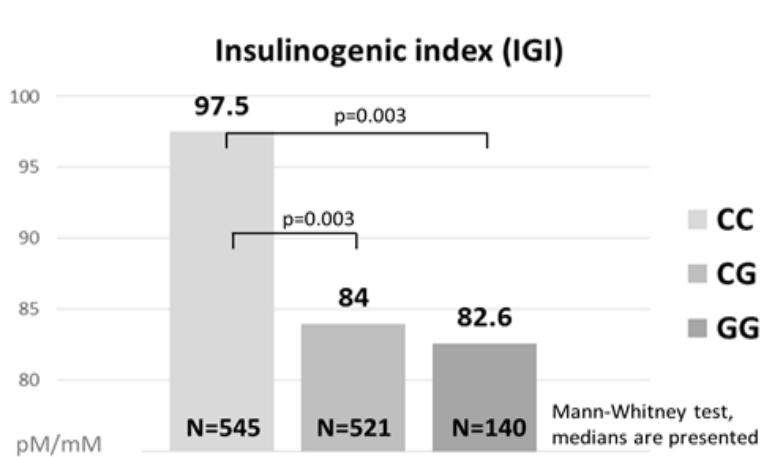


U jedinců s genotypem GG byla nalezena vyšší bazální a stimulovaná glykémie během OGTT ve srovnání s genotypem CC. Při porovnávání časových bodů byly nejvýznamnější rozdíly ve 30. minutě (CC vs. GG:  $p = 6 \times 10^{-5}$ , CC vs. CG:  $p = 0,004$ ) a v 60. minutě (CC vs. GG:  $p = 6 \times 10^{-5}$ , CC vs. CG:  $p = 6 \times 10^{-4}$ ), významné rozdíly byly i po 90. minutách testu ( $p < 0,01$ ). Nositelé minoritní alely G, v homozygotní i heterozygotní formě, měli nižší HOMA-B a IGI indexy funkce beta buněk oproti nositelům CC genotypu, což značí sníženou sekreci inzulínu, což je zobrazeno na grafech 2 a 3. Toto zjištění je silně podpořeno snížením sekrece inzulínu a C-peptidu po 30. minutě OGTT u nositelů alely G ve srovnání s nositeli CC genotypu ( $p = 0,03$ ), ačkoli 3hodinové AUC ins a AUC cp nevykazovaly zhoršenou odpověď beta buněk. Z výsledků vyplývá, že riziková alela G utlumuje či zpožďuje velmi ranou sekreci inzulínu, což následně během testu ústí ve vyšší hladinu glukózy v krvi (viz graf 1).

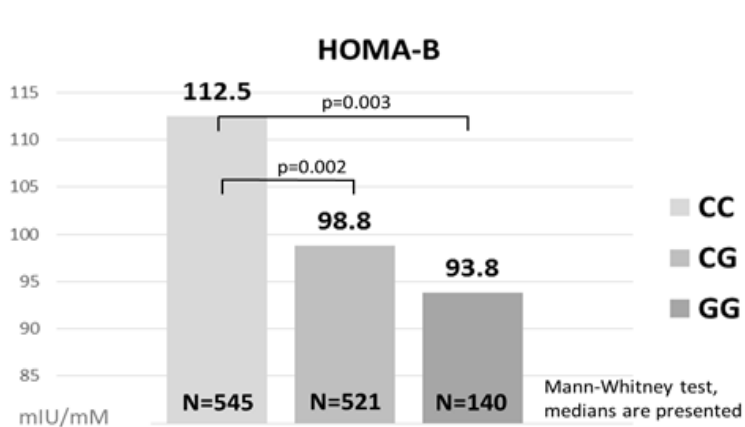
Graf 1: Plocha pod glykemickou křivkou mezi genotypy CC/CG/GG



Graf 2: IGI index mezi genotypy CC/CG/GG



Graf 3: HOMA-B index mezi genotypy CC/CG/GG



### Asociace polymorfismu rs10830963 genu *MTNR1B* s tvarem glykemických, inzulínových a C-peptidových křivek

Analýza asociace mezi *MTNR1B* rs10830963 a trajektoriemi glukózy, inzulínu a C-peptidu ukázala, že všechny tři genotypy (CC, CG, GG) jsou rovnoměrně rozloženy mezi všemi čtyřmi typy glukózových křivek.

Tab. 13: Rozložení genotypu *MTNR1B* rs10830963 v závislosti na tvaru glykemických, inzulinemických a C-peptidových křivek

		<i>MTNR1B</i> genotypy (%)			Statistika
		CC	CG	GG	
<b>Glykemická křivka</b>	Monofazická	48	45,5	56	Chi <sup>2</sup> = 5,9 p-level = 0,43 Síla = 0,40
	Bifazická	21	22,5	16,5	
	Trifazická	26	26	21,5	
	Multifazická	5	6	6	
<b>Inzulínová křivka</b>	Monofazická	69,5	67	72	Chi <sup>2</sup> = 1,85 p-level = 0,93 Síla = 0,14
	Bifazická	6,5	6,5	6	
	Trifazická	22	24,5	20	
	Multifazická	2	2	2	
<b>C-peptidová křivka</b>	Monofazická	80	77	81	Chi <sup>2</sup> = 5,11 p-level = 0,53 Síla = 0,34
	Bifazická	1	2	1	
	Trifazická	18	20	18	
	Multifazická	1	1	0	

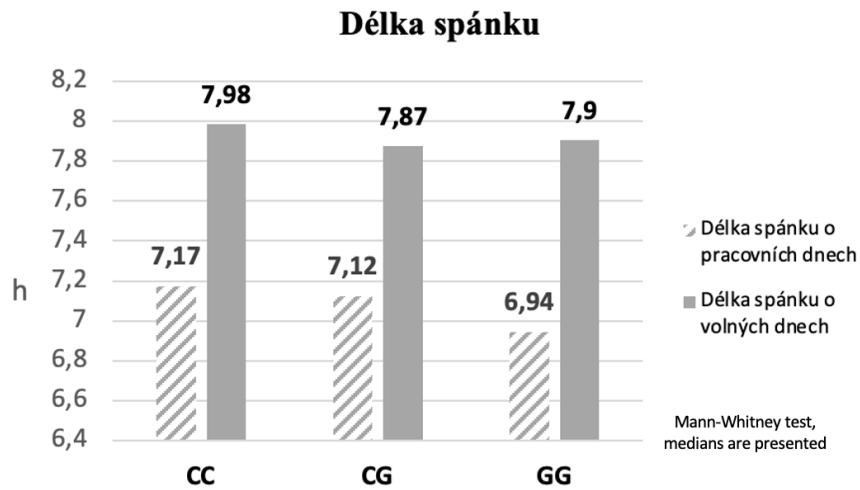
### Asociace polymorfismu rs10830963 genu *MTNR1B* se spánkovým režimem a chronotypem

V podskupině 375 jedinců (318 žen a 57 mužů) byl hodnocen pomocí spánkového dotazníku jejich spánkový vzorec a biorytmus a jejich asociace s polymorfismem melatoninového receptoru. V této skupině byla minoritní alela G přítomna v heterozygotní formě u 161 jedinců (45 %) a v homozygotní formě i 34 jedinců (10 %). Zbylých 160 jedinců (45 %) bylo homozygotních v běžné variantě C. Minoritní alela G dosahovala alelické frekvence 32,2 %.

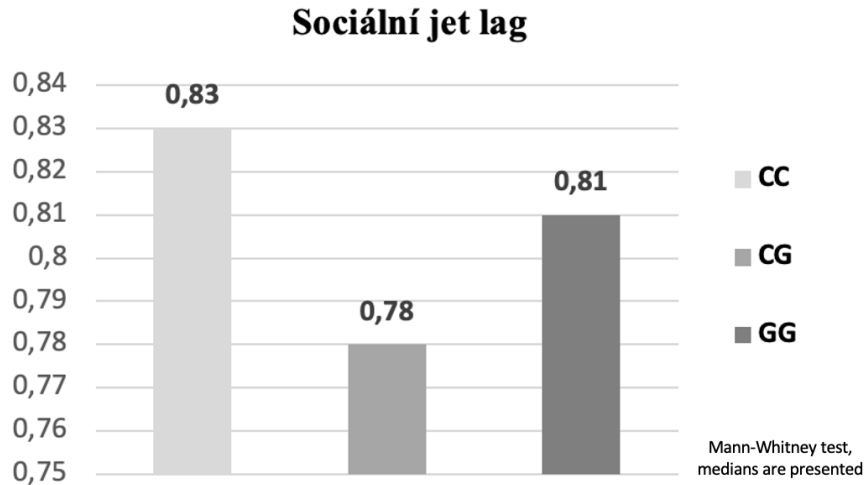
Po vyhodnocení dotazníku bylo zjištěno, že se průměrná délka spánku i fáze středního spánku v pracovních i volných dnech mezi genotypy CC/CG/GG významně nelišila (viz graf 4). U genotypů se shodoval i chronotyp počítaný ze středních hodnot spánku korigovaných na spánkový dluh nahromaděný během pracovních dnů (viz graf 6). Medián udávané subjektivní maximální denní výkonnosti byl u genotypu GG posunut z 11 h na 12 h, oproti nositelům genotypu CC a CG, rozdíl však nebyl na stávajícím souboru statisticky významný. Sociální jet lag, který vyplývá z nesouladu mezi přirozeným rytmem

a pracovními či společenskými povinnostmi, byl mezi genotypy srovnatelný, což je znázorněno na grafu 5.

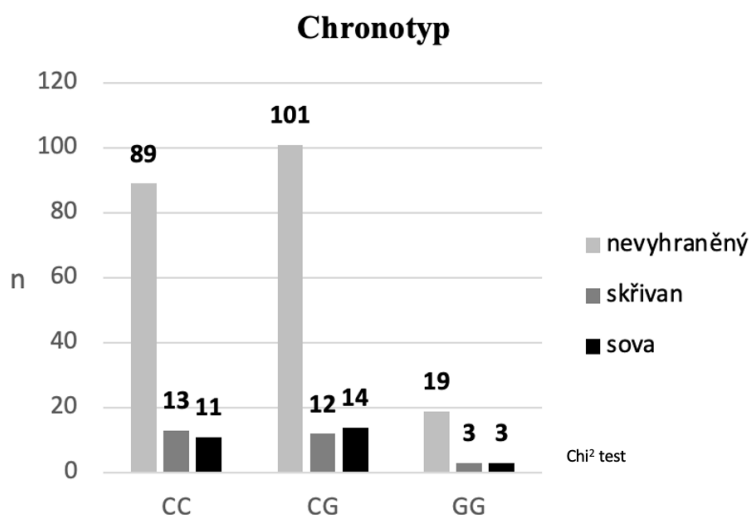
Graf 4: Délka spánku o pracovních a volných dnech mezi genotypy CC/CG/GG



Graf 5: Sociální jet lag mezi genotypy CC/CG/GG



Graf 6: Chronotyp mezi genotypy CC/CG/GG vypočtený ze středních hodnot spánku korigovaných na sex, věk a spánkový dluh, skřivani tvoří 10 % nejčasnějšího chronotypu, sovy 10 % nejpozdnějšího.



#### 5.4.2 *NME7*

V genu *NME7* byly testovány polymorfismy rs10732287, rs4264046, rs10800438, rs2157597 a rs4656659 a byla sledována jejich případná asociace s tvarem glykemických křivek. Studie zahrnuje 1262 OGTT křivek (1035 žen a 227 mužů) vykazující široký rozsah glukózové tolerance. Podrobnosti o metabolických charakteristikách jedinců a glykemických křivkách obsahuje tab. 5.

Z mnoha genů testovaných v rámci výzkumu Endokrinologického ústavu v souvislosti s poruchami metabolismu glukózy (*NME7*, *ATP1B1*, *PPARG*, *MTNR1B*...) byly pouze varianty genu *NME7* asociované s tvarem glykemické křivky během OGTT, a tedy i se způsobem, jak organismus člověka zpracovává glukózu, jak názorně ukazují tab. 14. Jeho 4 polymorfismy byly asociované významně, pátý polymorfismus měl hodnoty hraniční.

Signifikantně vyšší frekvence majoritních alel, zvláště pak homozygotů, byly pozorovány u tří polymorfismů genu *NME7* rs10732287 ( $p < 0,01$ ), rs4264046 ( $p = 0,01$ ), rs10800438 ( $p = 0,02$ ) ve skupině v bifazickém průběhem křivky, u které jsou zaznamenány vyšší zdravotní benefity oproti křivce s monofazickým průběhem. Další dva polymorfismy genu *NME7* rs4656659 ( $p = 0,01$ ) a rs2157597 ( $p = 0,05$ ) byly spojeny s bifazickým tvarem glykemické křivky naopak nižším zastoupením majoritních alel.

Tab. 14: Genotypy a alelické frekvence polymorfismů genu *NME7*

Genotyp NME7 rs10732287 (%)				Alely (%)		Statistika
	CC	CT	TT	C	T	
Monofazická (633)	46	43	11	67	33	Chi <sup>2</sup> = 19,4 p-level = 0,003 Síla = 0,93
Bifazická (221)	59	33	8	76	24	
Trifazická (351)	43	48	9	67	33	
Multifazická (57)	37	48	15	61	39	

Genotyp NME7 rs4264046 (%)				Alely (%)		Statistika
	CC	CT	TT	C	T	
Monofazická (633)	29	49	22	53	47	Chi <sup>2</sup> = 16,4 p-level = 0,012 Síla = 0,88
Bifazická (221)	39	44	17	61	39	
Trifazická (351)	28	56	16	56	44	
Multifazická (57)	25	53	22	52	48	

Genotyp NME7 rs10800438 (%)				Alely (%)		Statistika
	GG	GT	TT	G	T	
Monofazická (633)	31	49	20	56	44	Chi <sup>2</sup> = 14,2 p-level = 0,027 Síla = 0,82
Bifazická (221)	42	43	15	64	36	
Trifazická (351)	32	53	15	59	41	
Multifazická (57)	24	57	19	53	47	

Genotyp NME7 rs2157597 (%)				Alely (%)		Statistika
	CC	CT	TT	C	T	
Monofazická (633)	52	40	8	71	29	Chi <sup>2</sup> = 12,6 p-level = 0,049 Síla = 0,76
Bifazická (221)	42	48	10	66	34	
Trifazická (351)	48	47	5	72	28	
Multifazická (57)	52	41	7	73	27	

Genotyp NME7 rs4656659 (%)			Alely (%)		Statistika	
	TT	CT	CC	T		C
<b>Monofazická (633)</b>	45	43	12	67	33	Chi <sup>2</sup> = 16,4 p-level = 0,012 Síla = 0,88
<b>Bifazická (221)</b>	34	54	12	61	39	
<b>Trifazická (351)</b>	39	53	8	66	34	
<b>Multifazická (57)</b>	48	40	12	68	32	

Haplotypová analýza odhalila, že všech 5 polymorfismů genu NME7 je v silné genetické vazbě, což znamená, že se s vysokou pravděpodobností dědí spolu a nedochází mezi nimi k rekombinaci.

## 6 Diskuze

Diabetes mellitus 2. typu je metabolická porucha charakterizovaná zvýšenou hladinou glukózy v krvi při současné rezistenci na inzulín a relativním nedostatkem inzulínu. V posledních letech celosvětově přibývají jedinci s onemocněním DM2 a do budoucna je predikován další nárůst, kdy by počet diabetiků přesáhl 11 % světové dospělé populace (International Diabetes Federation, 2021). Zvyšující se prevalence DM2 je spojena s nezdravým životním stylem charakterizovaným vysokým kalorickým příjmem a nízkou fyzickou aktivitou, což vede k rostoucí prevalenci obezity u dospělých i dětí. Vedle environmentálních faktorů se na rozvoji diabetu podílejí i genetické a epigenetické faktory. Předpokládá se, že aby došlo k plnému vyjádření DM2, musí být překročena určitá kritická mez daná vzájemnou interakcí těchto faktorů.

Rozvoji samotného DM2 předchází stadium prediabetu, což je stav zvýšené hladiny glukózy nad hranicí normy, avšak pod diagnostickým kritériem diabetu. Prediabetes je možné charakterizovat stavem zvýšené lačné glykémie, porušené glukózové tolerance či zvýšenou hladinou HbA1c, který může trvat mnoho let. Udává se, že ročně 5-10 % osob s prediabetem dospěje do stadia DM2 (Rett a Gottwald-Hostalek, 2019). V případě, že jedinec dosáhne ve fázi prediabetu opětovné normoglykémie, je možné rozvoj DM2 odvrátit.

Typickým příznakem DM2 je hyperglykémie, která se vyvíjí pomalu a v počátečních stádiích může být nenápadná a zcela bez doprovázejících symptomů, a z tohoto důvodu je DM2 často mnoho let nediodagnostikován. Hyperglykémie je hladina glukózy v krvi přesahující ve stavu nalačno hranici 7 mmol/l. Hodnoty pro určení prediabetu i DM2 lze stanovit z lačných hladin plazmatické glukózy, po uplynutí 2h OGTT, popř. z hodnot glykovaného hemoglobinu (American Diabetes Association, 2022).

Orálním glukózovým tolerančním testem se posuzuje schopnost organismu vyrovnat se s náhlým zvýšením hladiny glukózy v krvi. Diplomová práce si kladla za cíl zhodnocení dynamiky křivek glukózy za současného sledování odezvy inzulínu a C-peptidu během 3h OGTT. Pro potřeby diplomové práce vycházíme z výsledků prodlouženého tříhodinového testu, ačkoliv v klinické praxi je obvyklý spíše test dvouhodinový. Předností diplomové práce jsou cenná data reprezentativního vzorku české populace, který je unikátní jak velikostí, tak komplexitou biochemické, antropometrické i anamnestické charakterizace.

Sledování bylo zaměřeno na hodnocení tvarů glykemických křivek a na jejich asociaci se širokým spektrem biochemických a antropometrických parametrů. Na základě



rozdílného průběhu, konkrétně podle počtu inflexních bodů, rozlišujeme čtyři tvary glykemické křivky: monofazickou, bifazickou, trifazickou a multifazickou. V našem souboru čítající 1206 jedinců byla nejčastěji zastoupena monofazická křivka, a to u 50 % vyšetřených jedinců, následovaná křivkou trifazickou (28 %), bifazickou (17,5 %) a v pouhých 4,5 % křivkou multifazickou, což odpovídá výsledkům studie Tury et al. (2011) provedené také na evropské populaci, v níž je rovněž nejvíce frekventovaná křivka monofazická, následovaná poměrně častou křivkou trifazickou (Tura et al., 2011).

Monofazická křivka se na základě našich výsledků ukazuje být méně zdravá než ostatní typy křivek, a to pro obě pohlaví. U mužů i žen vykazovala monofazická křivka nejvyšší hladiny glukózy, inzulínu a C-peptidu nalačno, také AUC gluc, AUC ins i AUC cp byly ve srovnání s ostatními typy křivek mnohem vyšší. Zároveň byla přítomna vyšší bazální inzulínová rezistence (HOMA-IR) a nižší inzulínová senzitivita (Quicky a OGIS 120). Ve shodě s naším pozorováním jsou i závěry studie zkoumající obézní adolescenty, v níž bylo demonstrováno, že adolescenti s monofazickou křivkou vykazují zvýšené riziko rozvoje DM2 (Kim et al., 2016). V našem souboru byl u osob s monofazickým průběhem křivky také pozorován vyšší obvod pasu, WHR a vyšší systolický krevní tlak. Dále zde bylo zjištěno nepříznivé lipidové spektrum, u žen vyšší triacylglyceroly, u mužů byl vyšší celkový i LDL cholesterol. Při celkovém zhodnocení procentuálního zastoupení jednotlivých typů křivek napříč diagnózami se monofazická křivka vyskytovala u 88,2 % nově diagnostikovaných diabetiků, u 70 % jedinců s IFG, u 78,3 % jedinců s IGT a u 74,8 % osob splňujících kritéria pro diagnózu metabolického syndromu. Naopak největší zdravotní benefity vykazují u mužů i žen křivky s bifazickým a multifazickým průběhem, které jsou spojeny s lepší glukózovou homeostázou. Zdravotní přínosy bifazického průběhu křivky potvrzují i další studie zkoumající typ glykemických křivek během OGTT (Manco et al., 2017; Tura et al., 2011). Zastoupení multifazické křivky bylo v našem souboru pouze 4%. Multifazická křivka se vyskytovala u nejmladších účastníků studie, kteří vykazovali nejlepší funkci beta buněk pankreatu. Při průběhu této křivky se koncentrace glukózy vrátila ze všech testovaných křivek nejrychleji k bazálním hodnotám.

Na glykemické křivce jsme dále zkoumali pozici a výši glykemického maxima. V našem souboru vystoupala hladina glukózy do maximálních hodnot ve 30. minutě OGTT u 70 % účastníků, u zbývajících 30 % účastníků byl glykemický vrchol opožděn a glykemického maxima bylo dosaženo v 60. minutě, popř. pozdějších fázích testu. V souvislosti s opožděnou kulminací glykemických křivek jsme pozorovali u 57,7 %

účastníků posun nejvyšší hladiny inzulínu do pozdní fáze OGTT a u 84 % účastníků posun maxima C-peptidu. Z výsledků vyplývá, že opoždění glykemického vrcholu je spojeno s nepříznivými zdravotními okolnostmi, což koresponduje se studií z roku 2017 (Chung et al., 2017), kde bylo také pozorováno, že opoždění glykemického vrcholu je spojeno vyšším BMI, % tělesného tuku, obvodem pasu a mírou prediabetu. V naší studii byl u žen posun glykemického vrcholu z hlediska antropometrie spojen s vyšším obvodem pasu i břicha, vyšším WHR, BMI i % tuku. Dále byly zaznamenány vyšší lačné hodnoty glukózy, inzulínu i C-peptidu a vyšší AUC gluc, AUC ins i AUC cp, přičemž vyšší hladina inzulínu je způsobena sníženou citlivostí na inzulín, což se následně promítá do ukazatelů funkce beta buněk. U mužů byl posun maxima spojen s vyššími hodnotami stimulované glukózy, inzulínu a C-peptidu a se sníženou citlivostí na inzulín. Ke obdobným výsledkům dospěly i další studie věnující se dané problematice (La Grasta Sabolić et al., 2021; Wang et al., 2018; Kramer et al., 2015). U ostatních typů křivek bylo opoždění glykemického vrcholu méně časté a zhoršení metabolických parametrů nebylo natolik systematické jako u monofazické křivky.

Opoždění glykemického vrcholu jsme porovnávali z hlediska zhoršení biochemických parametrů také mezi jednotlivými typy křivek, což v této problematice představuje poměrně pokrokový přístup. U našeho souboru docházelo k opoždění glykemického maxima nejčastěji u monofazické křivky, konkrétně u 42 % jedinců s monofazickým průběhem křivky byl glykemický vrchol posunut do pozdější fáze testu, což bylo spojeno s nejvýraznějším zhoršením glukózové tolerance a přítomností téměř všech dalších sledovaných složek metabolického syndromu.

Závěrem provedené analýzy tvaru a celkové dynamiky glykemické křivky lze konstatovat, že s největším zdravotním rizikem je asociována monofazická křivka, zvláště pokud je zkombinovaná s opožděným glykemickým vrcholem. Právě kombinace těchto dvou znaků představuje nejvýznamnější marker hrozících poruch metabolismu ve smyslu zhoršení glukózové tolerance a rozvoje dalších přidružených složek metabolického syndromu. Jedná se o nález, který by mohl být v klinické praxi velice užitečný, zvláště pro jeho jednoduché a pohodlné zlepšení diagnostiky poruch glukózové tolerance. Diagnostika poruchy glukózové tolerance se v současnosti určuje podle 120. minuty 2h OGTT. Pokud by bylo hodnocení OGTT rozšířeno alespoň o stanovení glykémie v 60. minutě, podstatně by se zvýšila prediktivní hodnota testu.

V naší studii jsme hodnotili metabolismus glukózy u mužů a žen zvlášť. V tomto pohledu je náš výzkum inovativní. Tímto přístupem jsme získali mužské i ženské zástupce se širokým spektrem inzulínové senzitivity, od zcela zdravých jedinců až po pacienty s diabetem, a zaměřili jsme se na odhalení intersexuálních metabolických rozdílů. Z hlediska zaměření diplomové práce jsou nejdůležitější rozdíly v dynamice zpracování glukózy. U mužů byla zaznamenána nižší glukózou stimulovaná produkce inzulínu a C-peptidu, dále nižší indexy funkce beta buněk pankreatu (HOMA-beta, IGI, poměr AUC ins/AUC gluc a AUC cp/AUC gluc). Zásadním zjištěním je pozorování odlišného zastoupení jednotlivých typů glykemických křivek. Největší rozdíl byl zjištěn v zastoupení bifazických a trifazických křivek. U mužů jsou ve vyšším procentu zastoupeny bifazické křivky (33 % vs. 14 % u žen), zatímco u žen jsou ve vyšším procentu zastoupeny křivky trifazické (30 % vs. 19 % u mužů). V případě, že se podobná zjištění potvrdí na velkém souboru subjektů, mohlo by to být z klinického hlediska zajímavé hlavně z toho důvodu, že diagnostická kritéria porušené glukózové tolerance ve 120. minutě OGTT jsou pro obě pohlaví totožná, pokud ale mají obě pohlaví významně odlišnou reakci na přijatou glukózu vedoucí k významně odlišným hodnotám glykémie ve 120. minutě OGTT, vyvstává otázka, zda by nebylo vhodné tyto rozdíly v diagnostice poruch glukózové tolerance zohledňovat. Možným vysvětlením může být rozdílné složení těla u mužů a žen, kdy vyšší zastoupení mužů ve skupině s bifazickým průběhem křivky vyplývá s přirozeně vyššího množství svalové tkáně u mužů vedoucího k rychlejšímu metabolickému obratu, který se projeví i při zpracování glukózy. Určitým omezením předkládaných zjištění a jejich interpretace je výrazně nižší početní zastoupení mužů oproti ženám ve sledované kohortě. Příčinou může být malá ochota mužů účastnit se výzkumného projektu a zároveň velká motivace ze strany žen, vzhledem k pozitivní anamnéze GDM u podstatné části našeho souboru.

Důležitou roli v patogenezi DM2 hrají i určité varianty genů, které zvyšují pravděpodobnost rozvoje onemocnění. Za účelem lepšího porozumění etiologii DM2 byly v diplomové práci analyzovány nejen antropometrické a biochemické markery, ale také genetické faktory. Byly zkoumány geny *MTNR1B* a *NME7*.

U genu *MTNR1B* byl sledován polymorfismus rs10830963, konkrétně minoritní alela G a jeho případná souvislost s citlivostí na inzulín, funkcí beta buněk, tvarem křivek glukózy, inzulínu a C-peptidu. Studie naznačují, že polymorfismus genu *MTNR1B* je spojen s vyšší hladinou glukózy v krvi a zároveň s nižší sekrecí inzulínu (Lyssenko et al., 2009; Prokopenko et al., 2009; Bouatia-Naji et al., 2009). V souladu s výše uvedenými studiemi

naše data vykazují nižší HOMA-B a IGI indexy funkce beta buněk u nositelů rizikové alely G, což značí sníženou sekreci inzulínu. Snížená sekrece inzulínu a C-peptidu byla zaznamenána ve 30. minutě OGTT, ačkoli 3h AUC ins a AUC cp nevykazovaly zhoršenou odpověď beta buněk. Z výsledků tak vyplývá, že riziková alela G tlumí či zpožďuje velmi ranou sekreci inzulínu, což následně ústí ve vyšší hladinu glukózy v krvi během OGTT. Lze proto předpokládat výrazné rozdíly v sekreci inzulínu mezi genotypy i před 30. minutou OGTT. Za tímto účelem bude hodnocení glykémie, inzulinémie a hladin C-peptidu předmětem dalšího zkoumání. Za nevýhodu lze u této analýzy považovat významně nižší zastoupení osob s narušenou glykemickou regulací oproti zdravým kontrolám. Literatura z posledních let svědčí také o tom, že jedinci nesoucí minoritní alelu polymorfismu rs10830963 mají posunutou fázi sekrece melatoninu a vysoká hladina melatoninu v důsledku tohoto posunu zasahuje až do pozdějších ranních hodin. Jelikož u melatoninu byl zjištěn inhibiční vliv na sekreci inzulínu, kombinace obou faktorů představuje riziko zejména pro osoby, které brzy ráno vstávají a vysoká hladina melatoninu vlivem jeho opožděného poklesu může potlačovat sekreci inzulínu během příjmu potravy, např. brzké snídaně (Lane et al., 2016; Tan et al., 2020). Nositelům rizikové alely G by tak mohla prospět úprava životního stylu tak, aby nebyli nuceni snídat brzy ráno, kdy je hladina melatoninu stále vysoká. Z důvodu popisovaného posunu sekrece melatoninu k večernímu pozdějšímu vzestupu a rannímu pomalejšímu poklesu jsme předpokládali též asociaci polymorfismu genu *MTNR1B* se spánkovým režimem a chronotypem. Hodnotili jsme proto spánkový vzorec a biorytmus pomocí spánkového dotazníku ve skupině 375 jedinců, asociace s polymorfismem melatoninového receptoru však nebyla prokázána. Po vyhodnocení dotazníku byla průměrná délka i fáze středního spánku o pracovních i volných dnech mezi genotypy CC/CG/GG srovnatelná, shodoval se i chronotyp. Medián subjektivní maximální denní výkonnosti byl u nositelů genotypu GG posunut z 11h pozorovaných u genotypů CC a CG na 12h, rozdíl na stávajícím souboru však nebyl statisticky významný. Důkladná analýza asociace mezi polymorfismem rs10830963 a trajektoriemi glukózy, inzulínu a C-peptidu během 3h OGTT neprokázala statistickou významnost.

U genu *NME7* byly testovány polymorfismy rs10732287, rs4264046, rs10800438, rs2157597 a rs4656659 a opět byla sledována jejich případná asociace s tvarem glykemických křivek. Výsledky provedené na experimentálních animálních modelech ukazují zapojení variant genu *NME7* do patogeneze diabetu (Šedová et al., 2021; 2018). Naše výsledky vypovídají o zapojení genu *NME7* do metabolismu lidské glukózy. V tomto

genu byla nalezena silná asociace polymorfismů s tvarem glykemické křivky a gen tedy souvisí se způsobem, jakým lidský organismus zpracovává přijatou glukózu. Takový jasný vztah nebyl patrný u žádného z dalších kandidátních genů hodnocených v naší studii. Zajímavé je zejména zjištění, že silná vazebná nerovnováha mezi variantami NME7 je jasně detekovatelná již na základě OGTT, přesněji na podkladě analýzy tvaru glykemické křivky. Tento náš předpoklad genetické vazby a jejího uspořádání mezi testovanými 5 polymorfismy jednoznačně potvrdila následně provedená haplotypová analýza. Studie na tomto genu budou v budoucnu pokračovat. Další etapou analýz bude zjišťování, zda se fakt, že je gen asociován s tvarem glykemické křivky a tedy s metabolismem glukózy, projeví i v dalších metabolických cestách, jako je metabolismus tuku, antropometrie, krevní tlak a další složky metabolického syndromu.

## 7 Závěr

Diabetes mellitus 2. typu je jako metabolické onemocnění neustále na vzestupu a prevalence se zvyšuje společně s rostoucí prevalencí obezity. Velkou roli hrají environmentální i genetické faktory.

Cílem této diplomové práce bylo zhodnotit dynamiku křivek glukózy za současného sledování odezvy inzulínu a C-peptidu během 3h orálního glukózového tolerančního testu u osob se zvýšeným rizikem rozvoje diabetu 2. typu a u kontrolního souboru zdravých osob. Účastníci podstoupili 3h OGTT sloužící k vyšetření tvaru glykemické křivky. Z 1262 zhodnocených křivek byla v našem souboru nejčastěji zastoupena monofazická křivka, dále trifazická, bifazická a nejméně častá byla multifazická křivka. Po zhodnocení antropometrických a biochemických parametrů bylo zjištěno, že křivka s monofazickým průběhem je u mužů i žen spojena s nepříznivými zdravotními okolnostmi při srovnání s ostatními typy křivek. Z hlediska glukózového metabolismu monofazická křivka vykazovala nejvyšší hodnoty glukózy, inzulínu a C-peptidu a také nejvyšší AUC gluc, AUC ins i AUC cp. Zároveň byla přítomna nižší inzulínová senzitivita jak za bazálních podmínek (vyšší index HOMA-IR, nižší Quicky index), tak během dynamické fáze OGTT (nižší index OGIS 120). Z antropometrického i biochemického hlediska měli muži i ženy s monofazickou křivkou průměrně vyšší obvod pasu, WHR a vyšší systolický krevní tlak. Dále je tento typ křivky spojen s nepříznivým lipidovým spektrem, u žen se jedná o vyšší triacylglyceroly, u mužů byl vyšší celkový i LDL cholesterol. Monofazická křivka se vyskytovala u 88,2 % nově diagnostikovaných diabetiků, u 70 % jedinců s IFG a u 78,3 % jedinců s IGT. Naopak s největšími zdravotními benefity jsou spojeny křivky bifazické a multifazické, které vykazují lepší glukózovou homeostázu.

Na glykemické křivce jsme dále zkoumali výši a polohu glykemického vrcholu v průběhu OGTT. U 70 % jedinců byl glykemický vrchol umístěn ve 30. minutě a u 30 % jedinců bylo maximální hladiny glykémie dosaženo v 60. minutě, popř. pozdějších fázích testu. Zjistili jsme, že posun glykemického vrcholu odráží horší zdravotní kondici, a to u obou pohlaví. Opožděné glykemické maximum bylo nejčastější u monofazické křivky, a to u 42 % účastníků s monofazickým průběhem, což bylo spojeno s nejvýraznějším zhoršením glukózové tolerance a přítomností téměř všech složek metabolického syndromu.

Dalším cílem diplomové práce bylo zhodnotit a porovnat dynamiku zpracování glukózy u mužů a žen. Bylo zjištěno, že dynamika zpracování glukózy se u mužů a žen

vzájemně liší. U mužů byla zaznamenána nižší glukózou stimulovaná produkce inzulínu a C-peptidu, dále nižší indexy funkce beta buněk pankreatu (HOMA-beta, IGI, poměr AUC ins/AUC gluc a AUC cp/AUC gluc). Zásadním zjištěním je pozorování odlišného zastoupení jednotlivých typů glykemických křivek. Největší rozdíl byl zjištěn v zastoupení bifazických a trifazických křivek, kdy u mužů se ve vyšším procentu vyskytují křivky bifazické (33% vs. 14 % u žen) a u žen křivky trifazické (30 % vs. 19 % u mužů). Tento poznatek by to verifikaci na dostatečně velkém souboru mohl být podstatný z hlediska diagnostických kritérií PGT, která jsou dosud pro obě pohlaví totožná.

Z našich výsledků tedy vyplývá, že tvar glykemické křivky je asociován s poruchami glukózového metabolismu a distribuce jednotlivých typů křivek není shodná u osob s prokázanou poruchou glukózové tolerance a u kontrolního souboru zdravých osob. Dále bylo prokázáno, že tvar glykemické křivky je závislý na širším biochemickém spektru a antropometrických parametrech. Tvar glykemické křivky by tak mohl být využit vedle diagnostiky PGT také pro predikci rizika metabolického syndromu. Závěrem lze k analýze tvaru glykemické křivky říci, že ze zdravotního hlediska představuje největší riziko monofazická křivka, zejména pokud se zkombinuje s opožděním glykemického maxima.

Pro lepší porozumění etiologie DM2 byly zkoumány varianty genů *MTNR1B* a *NME7*.

Analýza polymorfismu rs10830963 genu *MTNR1B* potvrdila asociaci rizikové alely G s funkcí beta buněk. Naše data vykazují nižší HOMA-B a IGI indexy funkce beta buněk u nositelů rizikové alely G, což značí sníženou sekreci inzulínu. Snížená sekrece inzulínu a C-peptidu byla zaznamenán ve 30. minutě OGTT, ačkoli 3h AUC ins a AUC cp nevykazovaly zhoršenou odpověď beta buněk. Z výsledků tak vyplývá, že riziková alela G tlumí či zpožďuje velmi ranou sekreci inzulínu, což následně ústí ve vyšší hladinu glukózy v krvi během OGTT kompenzovanou protražovanou sekrecí inzulínu. V literatuře je doloženo, že u nositelů rizikové alely G dochází k posunu sekrece melatoninu směrem k večernímu pozdějšímu vzestupu a rannímu pomalejšímu poklesu. Z tohoto důvodu jsme testovali asociaci polymorfismu rs10830963 se spánkovým vzorcem a biorytmem, avšak asociace nebyla prokázána. Dále jsme analyzovali asociaci zmíněného polymorfismu s trajektoriemi glukózy, inzulínu a C-peptidu během 3h OGTT, avšak statistické zhodnocení neprokázalo statistickou významnost.

U genu *NME7* bylo testováno 5 polymorfismů (rs10732287, rs4264046, rs10800438, rs2157597 a rs4656659) a opět jejich případná asociace s tvarem glykemických křivek.

V tomto případě přináší diplomová práce originální výsledky, které svědčí o zapojení genu *NME7* do zpracování glukózy. Toto téma nebylo u lidí dosud testováno. Byla prokázána silná asociace polymorfismů s tvarem glykemické křivky. Toto zjištění si žádá podrobné studium vztahu variability genu *NME7* k širšímu biochemickému pozadí.

Závěrem genetické analýzy lze konstatovat, že oba geny a jejich genetické varianty hrají roli v dynamice zpracování glukózy. Polymorfismy genů *MTNR1B* a *NME7* by se tak mohly zařadit mezi klinicky zajímavé markery upozorňující na potencionální riziko pro jejich nositele.



## 8 Seznam literatury

American Diabetes Association, 2019. Standards of Medical Care in Diabetes—2019 Abridged for Primary Care Providers. *Clinical Diabetes* [online]. **37**(1), 11–34. ISSN 0891-8929, 1945-4953. Dostupné z: doi:10.2337/cd18-0105

American Diabetes Association, 2022. Standards of Medical Care in Diabetes—2022 Abridged for Primary Care Providers. *Clinical Diabetes* [online]. **40**(1), 10–38. ISSN 0891-8929, 1945-4953. Dostupné z: doi:10.2337/cd22-as01

American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2022. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care* [online]. **45**(Supplement\_1), S17–S38. ISSN 0149-5992. Dostupné z: doi:10.2337/dc22-S002

Araneta, MRG., Kanaya, AM., Hsu, WC., Chang, HK., Grandinetti, A., Boyko, EJ., Hayashi, T., Kahn, SE., Leonetti, DL., Mcneely, MJ., Onishi, Y., Sato, KK., Fujimoto, WY., 2015. Optimum BMI Cut Points to Screen Asian Americans for Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* [online]. **38**(5), 814–820. ISSN 0149-5992, 1935-5548. Dostupné z: doi:10.2337/dc14-2071

Baena-Díez, JM., Peñafiel, J., Subirana, I., Ramos, R., Elosua, R., Marín-Ibañez, A., Guembe, MJ., Rigo, F., Tormo-Díaz, MJ., Moreno-Iribas, C., Cabré, JJ., Segura, A., García-Lareo, M., Gómez de la Cámara, A., Lapetra, J., Quesada, M., Marrugat, J., Medrano, MJ., Berjón, J., Frontera, G., Gavrilá, D., Barricarte, A., Basora, J., García, JM., Pavone, NC., Lora-Pablos, D., Mayoral, E., Franch, J., Mata, M., Castell, C., Frances, A., Grau, M., FRESCO Investigators, 2016. Risk of Cause-Specific Death in Individuals With Diabetes: A Competing Risks Analysis. *Diabetes Care* [online]. **39**(11), 1987–1995. ISSN 0149-5992, 1935-5548. Dostupné z: doi:10.2337/dc16-0614

Bays, H., Mandarinó, L., DeFronzo, RA., 2004. Role of the Adipocyte, Free Fatty Acids, and Ectopic Fat in Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus: Peroxisomal Proliferator-Activated Receptor Agonists Provide a Rational Therapeutic Approach. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. **89**(2), 463–478. ISSN 0021-972X, 1945-7197. Dostupné z: doi:10.1210/jc.2003-030723

Boissan, M., Schlattner, U., Lacombe, ML., 2018. The NDPK/NME superfamily: state of the art. *Laboratory Investigation* [online]. **98**(2), 164–174. ISSN 00236837. Dostupné z: doi:10.1038/labinvest.2017.137

Bouatia-Naji, N., Bonnefond, A., Cavalcanti-Proença, C., Sparsø, T., Holmkvist, J., Marchand, M., Delplanque, J., Lobbens, S., Rocheleau, G., Durand, E., De Graeve, F., Chèvre, J.C., Borch-Johnsen, K., Hartikainen, A.L., Ruukonen, A., Tichet, J., Marre, M., Weill, J., Heude, B., Tauber, M., Lemaire, K., Schuit, F., Elliott, P., Jørgensen, T., Charpentier, G., Hadjadj, S., Cauchi, S., Vaxillaire, M., Sladek, R., Visvikis-Siest, S., Balkau, B., Lévy-Marchal, C., Pattou, F., Meyre, D., Blakemore, AIF., Jarvelin, MR., Walley, AJ., Hansen, T., Dina, C., Pedersen, O., Froguel, P., 2009. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. *Nature Genetics* [online]. **41**(1), 89–94. ISSN 1061-4036, 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng.277

Bryant, NJ., Gould, GW., 2020. Insulin stimulated GLUT4 translocation – Size is not everything! *Current Opinion in Cell Biology* [online]. **65**, 28–34. ISSN 09550674. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceb.2020.02.006

Buzzetti, R., Zampetti, S., Maddaloni, E., 2017. Adult-onset autoimmune diabetes: current knowledge and implications for management. *Nature Reviews Endocrinology* [online]. **13**(11), 674–686. ISSN 1759-5029, 1759-5037. Dostupné z: doi:10.1038/nrendo.2017.99

Cipolla-Neto, J., Amaral, FG., 2018. Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocrine Reviews* [online]. **39**(6), 990–1028. ISSN 0163-769X, 1945-7189. Dostupné z: doi:10.1210/er.2018-00084

Cole, JB., Florez, JC., 2020. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nature Reviews Nephrology* [online]. **16**(7), 377–390. ISSN 1759-5061, 1759-507X. Dostupné z: doi:10.1038/s41581-020-0278-5

DeFronzo, RA., 2004. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Medical Clinics of North America* [online]. **88**(4), 787–835. ISSN 00257125. Dostupné z: doi:10.1016/j.mcna.2004.04.013

DeFronzo, RA., Tripathy, D., 2009. Skeletal Muscle Insulin Resistance Is the Primary Defect in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* [online]. **32**(suppl\_2), S157–S163. ISSN 0149-5992, 1935-5548. Dostupné z: doi:10.2337/dc09-S302

Ebeling, P., Koistinen, HA., Koivisto, V., 1998. Insulin-independent glucose transport regulates insulin sensitivity. *FEBS Letters* [online]. **436**(3), 301–303. ISSN 0014-5793, 1873-3468. Dostupné z: doi:10.1016/S0014-5793(98)01149-1

Eckel, RH., Depner, CM., Perreault, L., Markwald, RR., Smith, MR., Mchill, AW., Higgins, J., Melanson, EL., Wright, KP., 2015. Morning Circadian Misalignment during Short Sleep Duration Impacts Insulin Sensitivity. *Current Biology* [online]. **25**(22), 3004–3010. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2015.10.011

Elsayed, NA., Alepro, G., Aroda, VR., Bannuru, RR., Brown, FM., Bruemmer, D., Collins, BS., Gaglia, JL., Hilliard, ME., Isaacs, D., Johnson EL., Kahan, S., Khunti K., Leon, J., Lyons, SK., Perry, ML., Prahalad, P., Pratley, RE., Seley, JJ., Stanton, RC., Gabbay, RA., American Diabetes Association, 2023. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Care in Diabetes—2023*. *Diabetes Care* [online]. **46**(Supplement\_1), S19–S40. ISSN 0149-5992. Dostupné z: doi:10.2337/dc23-S002

Engle, SE., Bansal, R., Antonellis, PJ., Berbari, NF., 2021. Cilia signaling and obesity. *Seminars in Cell & Developmental Biology* [online]. **110**, 43–50. ISSN 10849521. Dostupné z: doi:10.1016/j.semcd.2020.05.006

Expert Panel on detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, 2001. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA: The Journal of the American Medical Association* [online]. **285**(19), 2486–2497. ISSN 00987484, 15383598. Dostupné z: doi:10.1001/jama.285.19.2486

Fagiani, F., Di Marino, D., Romagnoli, A., Travelli, C., Voltan, D., Di Cesare Mannelli, L., Racchi, M., Govoni, S., Lanni, C., 2022. Molecular regulations of circadian rhythm and implications for physiology and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy* [online]. **7**(1), 41. ISSN 2059-3635. Dostupné z: doi:10.1038/s41392-022-00899-y

Floch, JPL., Escuyer, P., Baudin E., Baudon, D., Perlemuter, L., 1990. Blood Glucose Area Under the Curve: Methodological Aspects. *Diabetes Care* [online]. **13**(2), 172–175. ISSN 0149-5992, 1935-5548. Dostupné z: doi:10.2337/diacare.13.2.172

Freese, J., Al-Rawi, R., Choat, H., Martin, A., Lunsford, A., Tse, H., Mick, G., McCormick, K., 2021. Proinsulin to C-Peptide Ratio in the First Year After Diagnosis of Type 1 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. **106**(11), e4318–e4326. ISSN 0021-972X, 1945-7197. Dostupné z: doi:10.1210/clinem/dgab463

Glechner, A., Keuchel, L., Affengruber, L., Titscher, V., Sommer, I., Matyas, N., Wagner, G., Kien, C., Klerings, I., Gartlehner, G., 2018. Effects of lifestyle changes on adults with prediabetes: A systematic review and meta-analysis. *Primary Care Diabetes* [online]. **12**(5), 393–408. ISSN 17519918. Dostupné z: doi:10.1016/j.pcd.2018.07.003

Haeusler, RA., McGraw TE., Accili, D., 2018. Biochemical and cellular properties of insulin receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. **19**(1), 31–44. ISSN 1471-0072, 1471-0080. Dostupné z: doi:10.1038/nrm.2017.89

Hakkarainen, H., Huopio, H., Cederberg, H., Pääkkönen, M., Voutilainen, R., Heinonen, S., 2015. Post-challenge glycemia during pregnancy as a marker of future risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology* [online]. **31**(7), 573–577. ISSN 1473-0766. Dostupné z: doi:10.3109/09513590.2015.1032926

- Hardy, OT., Czech, MP., Corvera, S., 2012. What causes the insulin resistance underlying obesity? *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity* [online]. **19**(2), 81–87. ISSN 1752-296X. Dostupné z: doi:10.1097/MED.0b013e3283514e13
- Harreiter, J., Roden, M., 2023. Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation, Diagnose, Screening und Prävention (Update 2023). *Wiener klinische Wochenschrift* [online]. **135**(S1), 7–17. ISSN 0043-5325, 1613-7671. Dostupné z: doi:10.1007/s00508-022-02122-y
- Huang, S., Czech, MP., 2007. The GLUT4 Glucose Transporter. *Cell Metabolism* [online]. **5**(4), 237–252. ISSN 15504131. Dostupné z: doi:10.1016/j.cmet.2007.03.006
- Chatterjee, S., Khunti, K., Davies MJ., 2017. Type 2 diabetes. *The Lancet* [online]. **389**(10085), 2239–2251. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(17)30058-2
- Chung ST., Ha, J., Onuzuruike, AU., Kasturi, K., Galvan-De La Cruz, M., Bingham, BA., Baker, RL., Utumatwishima, JN., Mabundo, LS., Ricks, M., Sherman, AS., Summer, AE., 2017. Time to glucose peak during an oral glucose tolerance test identifies prediabetes risk. *Clinical Endocrinology* [online]. **87**(5), 484–491. ISSN 0300-0664, 1365-2265. Dostupné z: doi:10.1111/cen.13416
- Chung, WK., Erion, K., Florez, JC., Hattersley, AT., Hivert, MF., Lee, CG., McCarthy, MI., Nolan, JJ., Norris, JM., Pearson, ER., Philipson, L., McElvaine, AT., Cefalu, WT., Rich, SS., Franks, PW., 2020. Precision Medicine in Diabetes: A Consensus Report From the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care* [online]. **43**(7), 1617–1635. ISSN 0149-5992, 1935-5548. Dostupné z: doi:10.2337/dci20-0022
- Ikoh Rph, CL., Tang Tinong, R., 2023. The Incidence and Management of Type 2 Diabetes Mellitus After Gestational Diabetes Mellitus. *Cureus* [online]. [vid. 2023-11-19]. ISSN 2168-8184. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.44468
- International Diabetes Federation, 2021. *IDF diabetes atlas*. 10th edition. Brussels: International Diabetes Federation. ISBN 978-2-930229-98-0.
- Javeed, N., Matveyenko, AV., 2018. Circadian Etiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Physiology* [online]. **33**(2), 138–150. ISSN 1548-9213, 1548-9221. Dostupné z: doi:10.1152/physiol.00003.2018
- Jia, Y., Liu, Y., Feng, L., Sun, S., Sun, G., 2022. Role of Glucagon and Its Receptor in the Pathogenesis of Diabetes. *Frontiers in Endocrinology* [online]. **13**, 928016. ISSN 1664-2392. Dostupné z: doi:10.3389/fendo.2022.928016
- Jones, AG., Hattersley, AT., 2013. The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes. *Diabetic Medicine* [online]. **30**(7), 803–817. ISSN 0742-3071, 1464-5491. Dostupné z: doi:10.1111/dme.12159

Kautzky-Willer, A., Harreiter, J., Pacini, G., 2016. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews* [online]. **37**(3), 278–316. ISSN 0163-769X, 1945-7189. Dostupné z: doi:10.1210/er.2015-1137

Kautzky-Willer, A., Leutner, M., Harreiter, J., 2023. Sex differences in type 2 diabetes. *Diabetologia* [online]. **66**(6), 986–1002. ISSN 0012-186X, 1432-0428. Dostupné z: doi:10.1007/s00125-023-05891-x

Kerner, W., Brückel, J., 2014. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* [online]. **122**(07), 384–386. ISSN 0947-7349, 1439-3646. Dostupné z: doi:10.1055/s-0034-1366278

Khetan, AK., Rajagopalan, S., 2018. Prediabetes. *Canadian Journal of Cardiology* [online]. **34**(5), 615–623. ISSN 0828282X. Dostupné z: doi:10.1016/j.cjca.2017.12.030

Kim, JY., Michaliszyn, SF., Nasr, A., Lee, SJ., Tfayli, H., Hannon, T., Hughan, KS., Bacha, F., Arslanian, S., 2016. The Shape of the Glucose Response Curve During an Oral Glucose Tolerance Test Heralds Biomarkers of Type 2 Diabetes Risk in Obese Youth. *Diabetes Care* [online]. **39**(8), 1431–1439. ISSN 0149-5992, 1935-5548. Dostupné z: doi:10.2337/dc16-0352

Kim, KM., Jang, HC., Lim, S., 2016. Differences among skeletal muscle mass indices derived from height-, weight-, and body mass index-adjusted models in assessing sarcopenia. *The Korean Journal of Internal Medicine* [online]. **31**(4), 643–650. ISSN 1226-3303, 2005-6648. Dostupné z: doi:10.3904/kjim.2016.015

Klip, A., McGraw, TE., James, DE., 2019. Thirty sweet years of GLUT4. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **294**(30), 11369–11381. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.REV119.008351

Korf, HW., Von Gall, C., 2013. Circadian Physiology. In: Donald W. PFAFF, ed. *Neuroscience in the 21st Century* [online]. New York, NY: Springer New York, s. 1813–1845 [vid. 2023-10-25]. ISBN 978-1-4614-1996-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4614-1997-6\_65

Kramer, CK., Ye, C., Hanley, AJG., Connelly, PW., Sermer, M., Zinman, B., Retnakaran, R., 2015. Delayed timing of post-challenge peak blood glucose predicts declining beta cell function and worsening glucose tolerance over time: insight from the first year postpartum. *Diabetologia* [online]. **58**(6), 1354–1362. ISSN 0012-186X, 1432-0428. Dostupné z: doi:10.1007/s00125-015-3551-6

Krejčí, H., 2024. Metody remise diabetu 2. typu. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie a výživa* [online]. **27**(1). Dostupné z: [https://www.tigis.cz/images/stories/DMEV/2024/01/DMEV\\_1\\_24\\_Krejci.pdf](https://www.tigis.cz/images/stories/DMEV/2024/01/DMEV_1_24_Krejci.pdf)

Kwak, SH., Park, KS., 2016. Recent progress in genetic and epigenetic research on type 2 diabetes. *Experimental & Molecular Medicine* [online]. **48**(3), e220–e220. ISSN 2092-6413. Dostupné z: doi:10.1038/emm.2016.7

La Grasta Sabolić, L., Šepec, MP., Cigrovski Berković, M., Stipančić, G., 2021. Time to the Peak, Shape of the Curve and Combination of These Glucose Response Characteristics During Oral Glucose Tolerance Test as Indicators of Early Beta-cell Dysfunction in Obese Adolescents. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology* [online]. **13**(2), 160–169. ISSN 1308-5727, 1308-5735. Dostupné z: doi:10.4274/jcrpe.galenos.2020.2020.0142

Lane, JM., Chang, AM., Bjorntjes, AC., Aeschbach, D., Anderson, C., Cade, BE., Cain, SW., Czeisler, CA., Gharib, SA., Gooley, JJ., Gottlieb, DJ., Grant, SFA., Klerman, EB., Lauderdale, DS., Lockley, SW., Munch, M., Patel, S., Punjabi, NM., Rajaratnam SMW., Rueger, M., St. Hilaire, MA., Santhi, N., Scheuermaier, K., Van Reen, E., Zee, PC., Shea, SA., Duffy, JF., Buxton, OM., Redline, S., Scheer, FAJL., Saxena, R., 2016. Impact of Common Diabetes Risk Variant in *MTNR1B* on Sleep, Circadian, and Melatonin Physiology. *Diabetes* [online]. **65**(6), 1741–1751. ISSN 0012-1797, 1939-327X. Dostupné z: doi:10.2337/db15-0999

Li, H., Konja, D., Wang, L., Wang, Y., 2022. Sex Differences in Adiposity and Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **23**(16), 9338. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23169338

Li, X., Cheng, J., Zhou, Z., 2016. Revisiting multiple models of progression of  $\beta$ -cell loss of function in type 1 diabetes: Significance for prevention and cure. *Journal of Diabetes* [online]. **8**(4), 460–469. ISSN 17530393. Dostupné z: doi:10.1111/1753-0407.12376

Liu, M., Weiss, MA., Arunagiri, A., Yong, J., Rege, N., Liu, J., Sun, J., Haataja, L., Kaufman, RJ., Arvan, P., 2018. Biosynthesis, structure, and folding of the insulin precursor protein. *Diabetes, Obesity and Metabolism* [online]. **20**(S2), 28–50. ISSN 1462-8902, 1463-1326. Dostupné z: doi:10.1111/dom.13378

Liu, P., Choi, YK., Qi, RZ., 2014. NME7 is a functional component of the  $\gamma$ -tubulin ring complex. *Molecular Biology of the Cell* [online]. **25**(13), 2017–2025. ISSN 1059-1524, 1939-4586. Dostupné z: doi:10.1091/mbc.e13-06-0339

Lowe, WL., Scholtens, DM., Lowe, LP., Kuang, A., Nodzenski, M., Talbot, O., Catalano, PM., Linder, B., Brickman, WJ., Clayton, P., Deerochanawong, C., Hamilton, J., Josefson, JL., Lashley, M., Lawrence, JM., Lebenthal, Y., Ma, R., Maresh, M., McCance, D., Tam, WH., Sacks, DA., Dyer, AR., Metzger, BE., HAPO Follow-up Study Cooperative Research Group, 2018. Association of Gestational Diabetes With Maternal Disorders of Glucose Metabolism and Childhood Adiposity. *JAMA* [online]. **320**(10), 1005. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2018.11628

Lyssenko, V., Nagorny, CLF., Erdos, MR., Wierup, N., Jonsson, A., Spégel, P., Bugliani, M., Saxena, R., Fex, M., Pulizzi, N., Isomaa, Tuomi, T., Nilsson, P., Kuusisto, J., Tuomilehto, J., Boehnke, M., Altshuler, D., Sundler, F., Eriksson, JG., Jackson, AU., Laakso, M., Marchetti, P., Watanabe, RM., Mulder, H., Groop, L., 2009. Common variant in *MTNR1B* associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion. *Nature Genetics* [online]. **41**(1), 82–88. ISSN 1061-4036, 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng.288

Manco, M., Nolfi, G., Pataky, Z., Monti, L., Porcellati, F., Gabriel, R., Mitrakou, A., Mingrone, G., 2017. Shape of the OGTT glucose curve and risk of impaired glucose metabolism in the EGIR-RISC cohort. *Metabolism* [online]. **70**, 42–50. ISSN 00260495. Dostupné z: doi:10.1016/j.metabol.2017.02.007

Mauvais-Jarvis, F., 2018. Gender differences in glucose homeostasis and diabetes. *Physiology & Behavior* [online]. **187**, 20–23. ISSN 00319384. Dostupné z: doi:10.1016/j.physbeh.2017.08.01

Mauvais-Jarvis, F., Bairey Merz, N., Barnes, PJ., Brinton, RD., Carrero, JJ., DeMeo, DL., De Vries, GJ., Epperson, CN., Govindan, R., Klein, SL., Lonardo, A., Maki, PM., McCullough, LD., Regitz-Zagrosek, V., Regensteiner, JG., Rubin, JB., Sandberg, K., Suzuki, A., 2020. Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. *The Lancet* [online]. **396**(10250), 565–582. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(20)31561-0

Meier, JJ., Veldhuis, JD., Butler, PC., 2005. Pulsatile Insulin Secretion Dictates Systemic Insulin Delivery by Regulating Hepatic Insulin Extraction In Humans. *Diabetes* [online]. **54**(6), 1649–1656. ISSN 0012-1797, 1939-327X. Dostupné z: doi:10.2337/diabetes.54.6.1649

Merikanto, I., Lahti, T., Puolijoki, H., Vanhala, M., Peltonen, M., Laatikainen, T., Vartiainen, E., Salomaa, V., Kronholm, E., Partonen, T., 2013. Associations of Chronotype and Sleep With Cardiovascular Diseases and Type 2 Diabetes. *Chronobiology International* [online]. **30**(4), 470–477. ISSN 0742-0528, 1525-6073. Dostupné z: doi:10.3109/07420528.2012.741171

Merz, KE., Thurmond, DC., 2020. Role of Skeletal Muscle in Insulin Resistance and Glucose Uptake. In: Ronald TERJUNG, ed. *Comprehensive Physiology* [online]. 1. vyd. B.m.: Wiley, s. 785–809 [vid. 2023-04-27]. ISBN 978-0-470-65071-4. Dostupné z: doi:10.1002/cphy.c190029

Montaruli, A., Castelli, L., Mulé, A., Scurati, R., Esposito, F., Galasso, L., Roveda, E., 2021. Biological Rhythm and Chronotype: New Perspectives in Health. *Biomolecules* [online]. **11**(4), 487. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom11040487

Morris EP., 2018. Progress in defining the genetic contribution to type 2 diabetes susceptibility. *Current Opinion in Genetics & Development* [online]. **50**, 41–51. ISSN 0959437X. Dostupné z: doi:10.1016/j.gde.2018.02.003

Mulder, H., 2017. Melatonin signalling and type 2 diabetes risk: too little, too much or just right? *Diabetologia* [online]. **60**(5), 826–829. ISSN 0012-186X, 1432-0428. Dostupné z: doi:10.1007/s00125-017-4249-8

Müller, TD., Finan, B., Clemmensen C., DiMarchi RD., Tschöp MH., 2017. The New Biology and Pharmacology of Glucagon. *Physiological Reviews* [online]. **97**(2), 721–766. ISSN 0031-9333, 1522-1210. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00025.2016

Muscogiuri, G., Verde, L., Vetrani, C., Barrea, L., Savastano, S., Colao, A., 2023. Obesity: a gender-view. *Journal of Endocrinological Investigation* [online]. **47**(2), 299–306. ISSN 1720-8386. Dostupné z: doi:10.1007/s40618-023-02196-z

Palmer, BF., Clegg, DJ., 2015. The sexual dimorphism of obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology* [online]. **402**, 113–119. ISSN 03037207. Dostupné z: doi:10.1016/j.mce.2014.11.029

Pasdar, Y., Rezaeian, S., Mohammadi, E., Khosravi Shadmani F., Shahnazi, N., Najafi, F., Nazar, MM., Darbandi, M., 2024. The interaction between general or abdominal obesity and hypertension on the risk of type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional analysis in Iranian adults from the RaNCD cohort study. *BMC Public Health* [online]. **24**(1), 752. ISSN 1471-2458. Dostupné z: doi:10.1186/s12889-024-18290-7

Pearson, ER., 2019. Type 2 diabetes: a multifaceted disease. *Diabetologia* [online]. **62**(7), 1107–1112. ISSN 0012-186X, 1432-0428. Dostupné z: doi:10.1007/s00125-019-4909-y

Petersen MC., Shulman, GI., 2018. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews* [online]. **98**(4), 2133–2223. ISSN 0031-9333, 1522-1210. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00063.2017

Prokopenko, I., Langenberg, C., Florez, JC., Saxena, R., Soranzo, N., Thorleifsson, G., Loos, RJF., Manning, AK., Jackson, AU., Aulchenko, Y., Potter, SC., Erdos, MR., Sanna, S., Hottenga, JJ., Wheeler, E., Kaakinen, M., Lyssenko, V., Chen, WM., Ahmadi, K., Beckmann, JS., Berman, RN., Bochud, M., Bonnycastle, LL., Buchanan, TA., Cao, A., Cervino, A., Coin, L., Collins, FS., Crisponi, L., de Geus, EJC., Dehghan, A., Deloukas, P., Doney, ASF., Elliott, P., Freimer, N., Gateva, V., Herder, C., Hofman, A., Hughes, TE., Hunt, S., Illig, T., Inouye, M., Isomaa, B., Johnson, T., Kong, A., Krestyaninova, M., Kuusisto, J., Laakso, M., Lim, N., Lindblad, U., Lindgren, CM., McCann, OT., Mohlke, KL., Morris, AD., Naitza, S., Orrú, M., Palmer, CNA., Pouta, A., Randall, J., Rathmann, W., Saramies, J., Scheet, P., Scott, LJ., Scuteri, A., Sharp, S., Sijbrands, E., Smit, JH., Song, K., Steinthorsdottir, V., Stringham, HM., Tuomi, T., Tuomilehto, J., Uitterlinden, AG., Voight, BF., Waterworth, D., Wichmann, HE., Willemsen, G., Witteman, JCM., Yuan, X., Zhao, JH., Zeggini, E., Schlessinger, D., Sandhu, M., Boomsma, DI., Uda, M., Spector, TD., Penninx, BW., Altshuler, D., Vollenweider, P., Jarvelin, MR., Lakatta, E., Waeber, G., Fox, CS., Peltonen, L., Groop, LC., Mooser, V., Cupples, LA., Thorsteinsdottir, U., Boehnke, M., Barroso, I., Van Duijn, C., Dupuis, J., Watanabe, RM., Stefansson, K., McCarthy, MI., Wareham, NJ., Meigs, JB., Abecasis, GR., 2009. Variants in MTNR1B influence fasting glucose levels. *Nature Genetics* [online]. **41**(1), 77–81. ISSN 1061-4036, 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng.290

Pu, J., Wang, EJ., Nimbale, V., Osmundson, S., Kunz, L., Popat, RA., Chung, S., Palaniappan, LP., 2015. Racial/Ethnic Differences in Gestational Diabetes Prevalence and Contribution of Common Risk Factors: Racial/ethnic differences in GDM risk factors. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* [online]. **29**(5), 436–443. ISSN 02695022. Dostupné z: doi:10.1111/ppe.12209



Puts, GS., Leonard, MK., Pamidimukkala, NV., Snyder, DE., Kaetzel, DM., 2018. Nuclear functions of NME proteins. *Laboratory Investigation* [online]. **98**(2), 211–218. ISSN 00236837. Dostupné z: doi:10.1038/labinvest.2017.109

Reaven, P., 2004. Metabolic syndrome. *Journal of Insurance Medicine (New York, N.Y.)*. **36**(2), 132–142. ISSN 0743-6661.

Rett, K., Gottwald-Hostalek, U., 2019. Understanding prediabetes: definition, prevalence, burden and treatment options for an emerging disease. *Current Medical Research and Opinion* [online]. **35**(9), 1529–1534. ISSN 0300-7995, 1473-4877. Dostupné z: doi:10.1080/03007995.2019.1601455

Reutrakul, S., Hood, MM., Crowley, SJ., Morgan, MK., Teodori, M., Knutson, KL., Van Cauter, E., 2013. Chronotype Is Independently Associated With Glycemic Control in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* [online]. **36**(9), 2523–2529. ISSN 0149-5992, 1935-5548. Dostupné z: doi:10.2337/dc12-2697

Roenneberg, T., Wirz-Justice, A., Merrow, M., 2003. Life between Clocks: Daily Temporal Patterns of Human Chronotypes. *Journal of Biological Rhythms* [online]. **18**(1), 80–90. ISSN 0748-7304, 1552-4531. Dostupné z: doi:10.1177/0748730402239679

Ross, R., Neeland, IJ., Yamashita, S., Shai, I., Seidell, J., Magni, P., Santos, RD., Arsenault, B., Cuevas, A., Hu, FB., Griffin, BA., Zambon, A., Barter, P., Fruchart, JC., Eckel, RH., Matsuzawa, Y., Després, JP., 2020. Waist circumference as a vital sign in clinical practice: a Consensus Statement from the IAS and ICCR Working Group on Visceral Obesity. *Nature Reviews Endocrinology* [online]. **16**(3), 177–189. ISSN 1759-5029, 1759-5037. Dostupné z: doi:10.1038/s41574-019-0310-7

Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group, 2004. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* [online]. **81**(1), 19–25. ISSN 00150282. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2003.10.004

Sakran, N., Graham, Y., Pintar, T., Yang, W., Kassir, R., Willigendael, EM., Singhal, R., Ramnarain, D., Mahawar, K., Parmar, C., Madhok, B., Pouwels, S., 2022. The many faces of diabetes. Is there a need for re-classification? A narrative review. *BMC Endocrine Disorders* [online]. **22**(1), 9. ISSN 1472-6823. Dostupné z: doi:10.1186/s12902-021-00927-y

Shojima, N., Yamauchi, T., 2023. Progress in genetics of type 2 diabetes and diabetic complications. *Journal of Diabetes Investigation* [online]. **14**(4), 503–515. ISSN 2040-1116, 2040-1124. Dostupné z: doi:10.1111/jdi.13970

Schorr, M., Dichtel, LE., Gerweck, AV., Valera, RD., Torriani, M., Miller, KK., Bredella, MA., 2018. Sex differences in body composition and association with cardiometabolic risk. *Biology of Sex Differences* [online]. **9**(1), 28. ISSN 2042-6410. Dostupné z: doi:10.1186/s13293-018-0189-3

Skyler, JS., Bakris, GL., Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, RH., Groop, L., Groop, PH., Handelsman, Y., Insel, RA., Mathieu, C., McElvaine, AT., Pugliese, A., Schatz, DA., Sosenko, JM., Wilding, JPH., Ratner RE., 2017. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes* [online]. **66**(2), 241–255. ISSN 0012-1797, 1939-327X. Dostupné z: doi:10.2337/db16-0806

Stenvers, DJ., Scheer, FAJL., Schrauwen, P., la Fleur, SE., Kalsbeek, A., 2019. Circadian clocks and insulin resistance. *Nature Reviews Endocrinology* [online]. **15**(2), 75–89. ISSN 1759-5029, 1759-5037. Dostupné z: doi:10.1038/s41574-018-0122-1

Šedová, L., Školníková, E., Hodúlová, M., Včelák, J., Šeda, O., Bendlová, B., 2018. Expression Profiling of Nme7 Interactome in Experimental Models of Metabolic Syndrome. *Physiological Research* [online]. S543–S550. ISSN 1802-9973, 0862-8408. Dostupné z: doi:10.33549/physiolres.934021

Šedová, L., Procházka, J., Zudová, D., Bendlová B., Včelák, J., Sedláček, R., Šeda, O., 2021. Heterozygous Nme7 Mutation Affects Glucose Tolerance in Male Rats. *Genes* [online]. **12**(7), 1087. ISSN 2073-4425. Dostupné z: doi:10.3390/genes12071087

Tan, X., Ciuculete, DM., Schiöth, HB., Benedict, C., 2020. Associations between chronotype, *MTNR1B* genotype and risk of type 2 diabetes in UK Biobank. *Journal of Internal Medicine* [online]. **287**(2), 189–196. ISSN 0954-6820, 1365-2796. Dostupné z: doi:10.1111/joim.12994

Taniguchi, CM., Emanuelli, B., Kahn CR., 2006. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. **7**(2), 85–96. ISSN 1471-0072, 1471-0080. Dostupné z: doi:10.1038/nrm1837

Thomas, NJ., Jones, SE., Weedon, MN., Shields, BM., Oram, RA., Hattersley, AT., 2018. Frequency and phenotype of type 1 diabetes in the first six decades of life: a cross-sectional, genetically stratified survival analysis from UK Biobank. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* [online]. **6**(2), 122–129. ISSN 22138587. Dostupné z: doi:10.1016/S2213-8587(17)30362-5

Tinajero, MG., Malik, VS., 2021. An Update on the Epidemiology of Type 2 Diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* [online]. **50**(3), 337–355. ISSN 08898529. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecl.2021.05.013

Tokarz, VL., MacDonald, PE., Klip, A., 2018. The cell biology of systemic insulin function. *Journal of Cell Biology* [online]. **217**(7), 2273–2289. ISSN 0021-9525, 1540-8140. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.201802095

Tramunt, B., Smati, S., Grandgeorge, N., Lenfant, JF., Arnal, JF., Montagner, A., Gourdy, P., 2020. Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. *Diabetologia* [online]. **63**(3), 453–461. ISSN 0012-186X, 1432-0428. Dostupné z: doi:10.1007/s00125-019-05040-3

Tuomi, T., Nagorny, CLF., Singh, P., Bennet, H., Yu, Q., Alenkvist, I., Isomaa, B., Östman, B., Söderström, J., Pesonen, AK., Martikainen, S., Rääkkönen, K., Forsén, T., Hakaste, L.,

Almgren, P., Storm, P., Asplund, O., Shcherbina, L., Fex, M., Fadista, J., Tengholm, A., Wierup, N., Groop, L., Mulder, H., 2016. Increased Melatonin Signaling Is a Risk Factor for Type 2 Diabetes. *Cell Metabolism* [online]. **23**(6), 1067–1077. ISSN 15504131. Dostupné z: doi:10.1016/j.cmet.2016.04.009

Tura, A., Morbiducci, U., Sbrignadello, S., Winhofer, Y., Pacini, G., Kautzky-Willer, A., 2011. Shape of glucose, insulin, C-peptide curves during a 3-h oral glucose tolerance test: any relationship with the degree of glucose tolerance? *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* [online]. **300**(4), R941–R948. ISSN 0363-6119, 1522-1490. Dostupné z: doi:10.1152/ajpregu.00650.2010

Vaňková, M., Vejražková, D., Lukášová, P., Včelák, J., Chocholová, D., Bendlová, B., 2023. Age-Related Changes in Proinsulin Processing in Normoglycemic Individuals. *Physiological Research* [online]. S389–S397. ISSN 1802-9973, 0862-8408. Dostupné z: doi:10.33549/physiolres.935181

Vounzoulaki, E., Khunti, K., Abner, SC., Tan, BK., Davies, MJ., Gillies, CL., 2020. Progression to type 2 diabetes in women with a known history of gestational diabetes: systematic review and meta-analysis. *BMJ* [online]. m1361. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.m1361

Wang, X., Zhao, X., Zhou, R., Gu, Y., Zhu, X., Tang, Z., Yuan, X., Chen, W., Zhang, R., Qian, C., Cui, S., 2018. Delay in glucose peak time during the oral glucose tolerance test as an indicator of insulin resistance and insulin secretion in type 2 diabetes patients. *Journal of Diabetes Investigation* [online]. **9**(6), 1288–1295. ISSN 2040-1116, 2040-1124. Dostupné z: doi:10.1111/jdi.12834

Weiss, MA., 2009. Proinsulin and the Genetics of Diabetes Mellitus. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **284**(29), 19159–19163. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.R109.009936

Weng, J., Zhou, Z., Guo, L., Zhu, D., Ji, L., Luo, X., Mu, Y., Jia, W., 2018. Incidence of type 1 diabetes in China, 2010-13: population based study. *BMJ* [online]. j5295. ISSN 0959-8138, 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.j5295

Xu, W., Morford, J., Mauvais-Jarvis, F., 2019. Emerging role of testosterone in pancreatic  $\beta$  cell function and insulin secretion. *Journal of Endocrinology* [online]. **240**(3), R97–R105. ISSN 0022-0795, 1479-6805. Dostupné z: doi:10.1530/JOE-18-0573

Yeagle, PL., 2016. Membrane Transport. In: *The Membranes of Cells* [online]. B.m.: Elsevier, s. 335–378 [vid. 2023-11-14]. ISBN 978-0-12-800047-2. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-800047-2.00013-9

You, H., Hu, J., Liu, Y., Luo, B., Lei, A., 2021. Risk of type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes mellitus: A systematic review & meta-analysis. *Indian Journal of Medical Research* [online]. **154**(1), 62. ISSN 0971-5916. Dostupné z: doi:10.4103/ijmr.IJMR\_852\_18

Zand, A., Ibrahim, K., Patham, B., 2018. Prediabetes: Why Should We Care? *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal* [online]. **14**(4), 289. ISSN 1947-6108, 1947-6094. Dostupné z: doi:10.14797/mdcj-14-4-289

Zhu, H., Zhao, Z., Liu, H., Cai, J., Lu, Q., Ji, L., Xu, J., 2023. The melatonin receptor 1B gene links circadian rhythms and type 2 diabetes mellitus: an evolutionary story. *Annals of Medicine* [online]. **55**(1), 1262–1286. ISSN 0785-3890, 1365-2060. Dostupné z: doi:10.1080/07853890.2023.2191218

Zibolka, J., Bazwinsky-Wutsche, I., Mühlbauer, E., Peschke, E., 2018. Distribution and density of melatonin receptors in human main pancreatic islet cell types. *Journal of Pineal Research* [online]. **65**(1), e12480. ISSN 07423098. Dostupné z: doi:10.1111/jpi.12480

## 9 Přílohy

Příloha 1: Dotazník osobní a rodinné anamnézy

**DOTAZNÍK – Sledování dynamiky glukózové tolerance**  
**Oddělení molekulární endokrinologie, Endokrinologický ústav**  
**Národní 8, Praha 1, 116 94, tel. +420 224 905 266**

- A**      **RODINNÁ ANAMNÉZA**
- B**      **OSOBNÍ ANAMNÉZA**
- C**      **GYNEKOLOGICKÁ ANAMNÉZA**
- D**      **OSOBNÍ DOTAZNÍK**

**Jméno a příjmení (i rodné)** \_\_\_\_\_

**Číslo pojištění** \_\_\_\_\_

**Adresa trvalého bydliště** \_\_\_\_\_

**Kontaktní adresa** (je-li jiná než trvalého bydliště) \_\_\_\_\_

**Národnost** \_\_\_\_\_

**Telefon, email** \_\_\_\_\_

**Pojišťovna** \_\_\_\_\_

Léčíte se v Endokrinologickém ústavu? Ano  Ne .

Pokud ano, kdo je Váš ošetřující lékař? \_\_\_\_\_

Léčí se někdo z Vašich příbuzných v Endokrinologickém ústavu? Ano  Ne .

Pokud ano, kdo? Znáte ošetřujícího lékaře? \_\_\_\_\_

## **A** RODINNÁ ANAMNÉZA

### ANAMNÉZA VAŠICH RODIČŮ

V případě, že si nejste odpověď jisti, nezaškrtněte žádnou z možností.

	ročník narození	MATKA	OTEC
Cukrovka (diabetes mellitus)		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?		
Komplikace cukrovky, např. změny na očním pozadí, snížená citlivost nohou apod.		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?		
Vysoký krevní tlak		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?		
Nadváha či obezita		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?		
Porucha metabolismu tuků, např. zvýšená hladina cholesterolu		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?		
Nádorové onemocnění		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	V kolika letech? Uveďte jaké?		
Onemocnění štítné žlázy, např. zvětšení žlázy, snížená funkce, zvýšená funkce		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?		
Infarkt myokardu		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	V kolika letech ?		

**Označte další onemocnění, se kterými se matka léčila nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , syndrom polycystických ovarií , těhotenská cukrovka ,  
Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí matky, uveďte v kolika letech zemřela a příčinu úmrtí:**

**Označte další onemocnění, se kterými se otec léčil nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí otce, uveďte v kolika letech zemřel a příčinu úmrtí:**

## ANAMNÉZA VAŠICH SOUROZENCŮ

V případě, že si nejste odpovědí jisti, nezaškrťávejte žádnou z možností

	1.	2.	3.
	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>
ročník narození	.....	.....	.....
Cukrovka (diabetes mellitus)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Komplikace cukrovky, např. změny na očním pozadí, snížená citlivost nohou	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Vysoký krevní tlak	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Nadváha či obezita	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Porucha metabolismu tuků, např. zvýšená hladina cholesterolu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Nádorové onemocnění	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech? Uveďte jaké?			
Onemocnění štítné žlázy, např. zvětšení žlázy, snížená funkce, zvýšená funkce	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Infarkt myokardu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech ?			

**Označte další onemocnění, se kterými se některý z Vašich sourozenců léčil nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , syndrom polycystických ovárií , těhotenská cukrovka ,  
Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí sourozence, uveďte v kolika letech zemřel a příčinu úmrtí:**

### ANAMNÉZA VAŠICH PRARODIČŮ – RODIČE MATKY

V případě, že si nejste odpovědí jisti, nezaškrtnávejte žádnou z možností.

	BABIČKA	DĚDEČEK
ročník narození		
Cukrovka (diabetes mellitus)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Komplikace cukrovky, např. změny na očním pozadí, snížená citlivost nohou apod.	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Vysoký krevní tlak	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Nadváha či obezita	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Porucha metabolismu tuků, např. zvýšená hladina cholesterolu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Nádorové onemocnění	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech? Uveďte jaké?		
Onemocnění štítné žlázy, např. zvětšení žlázy, snížená funkce, zvýšená funkce	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Infarkt myokardu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech ?		

**Označte další onemocnění, se kterými se **babička** léčila nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , syndrom polycystických ovárií , těhotenská cukrovka ,  
Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí **babičky**, uveďte v kolika letech zemřela a příčinu úmrtí:**

**Označte další onemocnění, se kterými se **dědeček** léčil nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí **dědečka**, uveďte v kolika letech zemřel a příčinu úmrtí:**



### ANAMNÉZA SOUROZENCŮ VAŠÍ MATKY

V případě, že si nejste odpovědí jisti, nezaškrtněte žádnou z možností.

Sourozenec matky – tj. Vaše teta či strýc	1.	2.	3.
	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>
ročník narození	.....	.....	.....
Cukrovka (diabetes mellitus)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Komplikace cukrovky, např. změny na očním pozadí, snížená citlivost nohou	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Vysoký krevní tlak	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Nadváha či obezita	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Porucha metabolismu tuků, např. zvýšená hladina cholesterolu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Nádorové onemocnění	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech? Uveďte jaké?			
Onemocnění štítné žlázy, např. zvětšení žlázy, snížená funkce, zvýšená funkce	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Infarkt myokardu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech ?			

**Označte další onemocnění, se kterými se někdo z nich léčil nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , syndrom polycystických ovárií , těhotenská cukrovka ,  
Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí strýce/ tety, uveďte v kolika letech zemřel/a a příčinu úmrtí:**

### ANAMNÉZA VAŠICH PRARODIČŮ – RODIČE OTCE

V případě, že si nejste odpověď jisti, nezaškrtněte žádnou z možností.

	<b>BABIČKA</b>	<b>DĚDEČEK</b>
ročník narození	.....	.....
Cukrovka (diabetes mellitus)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Komplikace cukrovky, např. změny na očním pozadí, snížená citlivost nohou apod.	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Vysoký krevní tlak	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Nadváha či obezita	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Porucha metabolismu tuků, např. zvýšená hladina cholesterolu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Nádorové onemocnění	V kolika letech? Uved'te jaké?	
Onemocnění štítné žlázy, např. zvětšení žlázy, snížená funkce, zvýšená funkce	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?		
Infarkt myokardu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech ?		

**Označte další onemocnění, se kterými se **babička** léčila nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , syndrom polycystických ovárií , těhotenská cukrovka ,  
Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí babičky, uveďte v kolika letech zemřela a příčinu úmrtí:**

**Označte další onemocnění, se kterými se **dědeček** léčil nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí dědečka, uveďte v kolika letech zemřel a příčinu úmrtí:**

## ANAMNÉZA SOUROZENCŮ VAŠEHO OTCE

V případě, že si nejste odpověď jisti, nezaškrťávejte žádnou z možností.

Sourozenec otce – tj. Vaše teta či strýc	1.	2.	3.
	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>
ročník narození	.....	.....	.....
Cukrovka (diabetes mellitus)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Komplikace cukrovky, např. změny na očním pozadí, snížená citlivost nohou	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Vysoký krevní tlak	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Nadváha či obezita	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Porucha metabolismu tuků, např. zvýšená hladina cholesterolu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Nádorové onemocnění	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech? Uveďte jaké?			
Onemocnění štítné žlázy, např. zvětšení žlázy, snížená funkce, zvýšená funkce	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
Od kolika let ?			
Infarkt myokardu	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
V kolika letech ?			

**Označte další onemocnění, se kterými se někdo z nich léčil nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , syndrom polycystických ovárií , těhotenská cukrovka ,  
Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí strýce/ tety, uveďte v kolika letech zemřel/a a příčinu úmrtí:**

## ANAMNÉZA VAŠICH DĚTÍ

Vyplňte pouze v případě, že Vaším dětem je **víc než 18 let**.

		1.	2.	3.
		muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>	muž <input type="checkbox"/> žena <input type="checkbox"/>
ročník narození		.....	.....	.....
Cukrovka (diabetes mellitus)		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?			
Komplikace cukrovky, např. změny na očním pozadí, snížená citlivost nohou		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?			
Vysoký krevní tlak		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?			
Nadváha či obezita		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?			
Porucha metabolismu tuků, např. zvýšená hladina cholesterolu		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?			
Nádorové onemocnění	V kolika letech?			
	Uveďte jaké?			
Onemocnění štítné žlázy, např. zvětšení žlázy, snížená funkce, zvýšená funkce		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	Od kolika let ?			
Infarkt myokardu		Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>
	V kolika letech ?			

**Označte další onemocnění, se kterými se některé z Vašich dětí léčilo nebo léčí:**

autoimunitní onemocnění , alergie , astma , cévní příhody , ischemická choroba srdeční ,  
ischemická choroba dolních končetin , syndrom polycystických ovárií , těhotenská cukrovka ,  
Alzheimerova choroba

**jiné** – vypište jaké a pokud víte, upřesněte od kolika let.

**V případě úmrtí dítěte, uveďte v kolika letech zemřelo a příčinu úmrtí:**

## **B** OSOBNÍ ANAMNÉZA

**Těhotenství matky** (s Vámi) bylo jednočetné , vícečetné .

**Komplikace během těhotenství matky.** Ano  Ne .

**Porod** byl v řádném termínu (38. – 41. gestační týden)

předčasný (před 37. gestačním týdnem) ,

opožděný (po 42. gestačním týdnem) .

**Vaše porodní hmotnost** \_\_\_\_\_ g.

**Vaše porodní délka** \_\_\_\_\_ cm.

**Byl/a jste kojen/a ?** Ne , do 2 měsíců , do 6 měsíců , do 12 měsíců , déle než 12 měsíců .

**Nemoci prodělané v dětství (mimo běžné dětské nemoci):**

spála , časté angíny , časté záněty středního ucha , časté záněty horních cest dýchacích ,

infekční mononukleóza , alergie , astma ,

jiné – vypište \_\_\_\_\_

**Úrazy a operace v dětství** \_\_\_\_\_

**POKUD SE LÉČÍTE S DIABETEM 2. TYPU (tj. CUKROVKOU):**

**Od kolika let?** \_\_\_\_\_

**Léčba probíhá jen dietou** ?

**perorálními antidiabetiky** ?

- jaká a od kolika let? \_\_\_\_\_

**inzulínem** ?

- od kolika let? \_\_\_\_\_

Kolik jednotek máte v současnosti? \_\_\_\_\_

**Máte zdravotní komplikace související s diabetem?**

Změny na očním pozadí , bolest nohou v klidu , sníženou citlivost nohou , špatně se hojící rány ,

plísň nohou , amputace prstů nebo celé končetiny , špatné trávení .

Pokud jiné, jaké?

## LÉČÍTE SE S DALŠÍMI ONEMOCNĚNÍMI?

<b>Vysoký krevní tlak</b> (hypertenze)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
<b>Porucha metabolismu tuků</b> např. vyšší cholesterol nebo triacylglyceroly	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
<b>Nádorové onemocnění,</b> uved'te jaké ?	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	V kolika letech ?
<b>zvětšení žlázy</b> (struma)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
<b>Porucha štítné žlázy</b> snížená funkce (hypotyreóza)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
zvýšená funkce (hypertyreóza)	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
<b>Ischemická choroba srdeční</b>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
<b>Ischemická choroba dolních končetin</b>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
<b>Cévní mozková příhoda</b>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	V kolika letech ?
<b>Autoimunitní onemocnění, nebo alergie,</b> uved'te na co ?	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
<b>Astma</b>	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?
<b>Jiné onemocnění,</b> uved'te jaké ?	Ano <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	Od kolika let ?

Vypište všechny léky a potravinové doplňky, které užíváte:

## OBEZITA

Měl/měla jste někdy problém s udržení hmotnosti? (mimo těhotenství) Ano  Ne .

Měl/a jste problém s obezitou nebo nadváhou

v předškolním věku? Ano  Ne .

na základní škole? Ano  Ne .

na střední škole? Ano  Ne .

v dospělosti? (mimo těhotenství) Ano  Ne .

Jaká byla Vaše nejvyšší hmotnost v dospělosti? (mimo těhotenství) \_\_\_\_\_(ANTROPO)

Jaká byla Vaše nejnižší hmotnost v dospělosti? \_\_\_\_\_(ANTROPO)

Souvisela změna hmotnosti s nemocí nebo užíváním nějakého léku? Ano  Ne .

Uved'te \_\_\_\_\_



V kolika letech jste měla první menstruaci? \_\_\_\_\_

Máte pravidelný cyklus (21 – 35 dní)? Ano  Ne .

Užíváte hormonální antikoncepci? Ano  Ne .

Pokud ano, jakou? \_\_\_\_\_ Jak dlouho? \_\_\_\_\_

Prodělala jste již klimakterium? Ano  Ne .

Pokud ano, v kolika letech? \_\_\_\_\_

Užíváte hormonální substituci v klimakteriu? Ano  Ne .

Pokud ano, jakou? \_\_\_\_\_ Jak dlouho? \_\_\_\_\_

Byl Vám zjištěn syndrom polycystických ovárií? Ano  Ne .

Máte nebo měla jste problém otěhotnět? Ano  Ne .

Pokud ano, proč? \_\_\_\_\_

Byla jste již těhotná? Ano  Ne .

V současnosti kojíte? Ano  Ne . Pokud ano, jak dlouho? \_\_\_\_\_ měsíců

		<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>Těhotenství</b>	normální	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	rizikové	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	s komplikacemi (otoky, hypertenze, bílkovina v moči)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
Byl u Vás diagnostikován <b>gestační diabetes</b> (těhotenská cukrovka)?	Ano <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/>	
	Ne <input type="checkbox"/>	Ne <input type="checkbox"/>	Ne <input type="checkbox"/>	Ne <input type="checkbox"/>	
		<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>V kterém týdnu těhotenství</b> Vám byl gestační diabetes diagnostikován? (pokud nevíte, uveďte alespoň měsíc těhotenství)					
		<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>Léčba gest.diabetu</b>	jen dietou	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	léky (uveďte jaké):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	inzulínem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
Došlo po porodu k úpravě glykémie?	Ano <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/>	Ano <input type="checkbox"/>	
	Ne <input type="checkbox"/>	Ne <input type="checkbox"/>	Ne <input type="checkbox"/>	Ne <input type="checkbox"/>	

	<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
v řádném termínu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Porod</b>				
předčasný (před 37. gestačním týdnem)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
opožděný (po 42. gestačním týdnu)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>Kojení</b>				
nekojené	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
do 6 měsíců	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
od 6 do 12 měsíců	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
více než 12 měsíců	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>Pohlaví dítěte (♂ muž, ♀ žena)</b>	♂ <input type="checkbox"/> ♀ <input type="checkbox"/>	♂ <input type="checkbox"/> ♀ <input type="checkbox"/>	♂ <input type="checkbox"/> ♀ <input type="checkbox"/>	♂ <input type="checkbox"/> ♀ <input type="checkbox"/>
	<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>Porodní délka a váha dítěte</b>	..... cm	..... cm	..... cm	..... cm
	..... g	..... g	..... g	..... g
	<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>Datum porodu</b>				
	<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>Vaše hmotnost před otěhotněním</b>	..... kg	..... kg	..... kg	..... kg
	<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>
<b>Kolik kilogramů jste přibrala během těhotenství?</b>	..... kg	..... kg	..... kg	..... kg



## **D** OSOBNÍ DOTAZNÍK

**Rodinný stav:** svobodný/svobodná , ženatý/vdaná , rozvedený/rozvedená , vdovec/vdova

**Dětství jsem strávil/strávila v obci** do 1 tisíce obyvatel , do 10 tisíc obyvatel ,  
do 100 tisíc obyvatel , nad 100 tisíc obyvatel

Napište název obce (a PSČ, pokud ho znáte) \_\_\_\_\_

**V současnosti bydlím v obci** do 1 tisíce obyvatel , do 10 tisíc obyvatel , do 100 tisíc obyvatel ,  
nad 100 tisíc obyvatel

Napište název obce (a PSČ, pokud ho znáte) \_\_\_\_\_

**Počet osob ve společné domácnosti (i s Vámi)** \_\_\_\_\_

**Nejvyšší dosažené vzdělání:** základní , střední bez maturity , střední s maturitou ,  
vysokoškolské (vyplní i studenti)

### **KOUŘENÍ**

**Nekouřím a ani nikdy dříve jsem nekouřil/a** , **jsem bývalý kuřák** , **jsem kuřák** .

Pokud jste bývalý kuřák, kolik cigaret denně jste kouřil/a? \_\_\_\_\_ a jak dlouho? \_\_\_\_\_

Pokud jste aktivní kuřák, kolik cigaret denně kouříte? \_\_\_\_\_ a jak dlouho? \_\_\_\_\_

**Kouří některý člen domácnosti přímo v bytě?** Ano  Ne .

**Pracujete přes den v zakouřených prostorech?** Ano  Ne .

### **ALKOHOL**

**Alkoholické nápoje nepiju žádné, jsem abstinent** , **piju příležitostně** , **piju 3x týdně a častěji** .

Jakým alkoholickým nápojům dáváte přednost? \_\_\_\_\_

**Kolik tekutin denně vypijete?** (mimo alkohol a kávu) \_\_\_\_\_

## Příloha 2: Dotazník Spánkového režimu a biorytmů

V následujících otázkách vypovídejte o svém spánkovém režimu v **posledních 3 měsících**. Ptáme se na všední a volné dny zvlášť. Prosím odpovídejte podle toho, jak vypadaly Vaše **obvyklé** všední a volné dny.

**O.1** Kolik dní v týdnu (0 až 7) máte pravidelný pracovní rozvrh (zaměstnání, školu, práci ženy/muže v domácnosti)? I pokud je Vaše odpověď 0 či 7, prosím uvažte, že se Vaše doba spánku může lišit mezi všedními a volnými (víkendovými) dny a vyplňte následující otázky podle toho.

POČET DNÍ V TÝDNU S PRAC. ROZVRHEM	<input style="width: 40px; height: 20px;" type="text"/>	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
------------------------------------	---	---

**ZAPISUJETE VE 24HODINOVÉM FORMÁTU HH:MM.**

Např. deset dopoledne = 10:00, deset večer = 22:00, půl třetí odpoledne = 14:30, dvě ráno = 02:00, půlnoc = 24:00.

**O.2** V kolik hodin si chodíte obvykle lehnout do postele ve **všední** dny? Pokud je čas v minutách zcela nepravidelný, uveďte zde i dále alespoň hodiny.

HODINY	MINUTY	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
:	:	

**O.3** V kolik hodin obvykle usínáte ve **všední** dny?

HODINY	MINUTY	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
:	:	

**O.4** V kolik hodin se obvykle probouzí ve **všední** dny?

HODINY	MINUTY	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
:	:	

**O.5** Za jak dlouho vstanete po probuzení z postele ve **všední** dny?

HODINY	MINUTY	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
:	:	

**O.6** Používáte obvykle budík ve **všední** dny?

ano	<input type="checkbox"/> 1	<b>POKRAČUJTE NA OTÁZKU O.7</b>
ne	<input type="checkbox"/> 2	<b>POKRAČUJTE NA OTÁZKU O.8</b>

**O.7** Pokud ano, probouzí se pravidelně před tím, než budík zazvoní?

ano	<input type="checkbox"/> 1
ne	<input type="checkbox"/> 2

**O.8** V kolik hodin si chodíte obvykle lehnout do postele ve **volné** dny?

HODINY	MINUTY	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
:	:	

O.9 V kolik hodin obvykle usínáte ve volné dny?

HODINY	MINUTY	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input type="text"/>	<input type="text"/>	

O.10 V kolik hodin se obvykle probouzí ve volné dny?

HODINY	MINUTY	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input type="text"/>	<input type="text"/>	

O.11 Za jak dlouho vstanete po probuzení z postele ve volné dny?

HODINY	MINUTY	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input type="text"/>	<input type="text"/>	

O.12 Máte nějaký důvod, kvůli kterému si nemůžete zvolit čas pro spánek a probouzení ve volné dny (např. děti, domácí mazlíček, hobby apod.)?

ano	<input type="checkbox"/> 1
ne	<input type="checkbox"/> 2

O.13 Jak byste hodnotili kvalitu vašeho spánku?

velmi dobrá	<input type="checkbox"/> 1
spíše dobrá	<input type="checkbox"/> 2
spíše špatná	<input type="checkbox"/> 3
velmi špatná	<input type="checkbox"/> 4

O.14 Kdy se během dne cítíte mentálně nejaktivnější (nejlépe se soustředíte, učíte apod.)? Vypište začátek a konec doby.

	HODINY	MINUTY		HODINY	MINUTY
OD:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
DO:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	:	<input type="text"/>	<input type="text"/>

O.15 Průměrně jak dlouho strávíte denně venku na přirozeném denním světle? Ve všedních dnech to bylo:

HODIN	MINUT	Vypište v hodinách a minutách (např. 1 hodina 10 minut = 01:10).
<input type="text"/>	<input type="text"/>	

O.16 A ve volných dnech to bylo:

HODIN	MINUT	Vypište v hodinách a minutách (např. 1 hodina 10 minut = 01:10).
<input type="text"/>	<input type="text"/>	

**O.17 Pracoval jste během posledních 3 měsíců na směny (tj. mimo obvyklou pracovní dobu)?**

ano	<input type="checkbox"/> 1	<b>POKRAČUJTE NA OTÁZKU O.18</b>
ne	<input type="checkbox"/> 2	<b>POKRAČUJTE NA OTÁZKU O.20</b>

**O.18 V kolik hodin obvykle začala vaše směna?**

<b>HODINY</b>	<b>MINUTY</b>	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input type="text"/>	<input type="text"/>	

**O.19 V kolik hodin obvykle skončila vaše směna?**

<b>HODINY</b>	<b>MINUTY</b>	nelze říci, zcela nepravidelně <input type="checkbox"/> 96
<input type="text"/>	<input type="text"/>	

**O.20 Prosím zadejte vaši odhadovanou spotřebu za týden.**

Cigarety (kusů)	
Pivo (0.5 l lahví / sklenic)	
Víno (2 dl sklenek)	
Tvrdý alkohol (0.05 cl sklenek)	
Káva (hrnků)	
Černý nebo zelený čaj (hrnků)	
Limonáda s kofeinem, např. kola (0.5 l lahví)	



UNIVERZITA  
KARLOVA



## Biorytmy a spánkový režim ve vztahu k variabilitě genu pro melatoninový receptor

Denisa Chocholová<sup>1</sup>, Daniela Vejražková<sup>2</sup>, Markéta Vaňková<sup>2</sup>, Petra Lukášová<sup>2</sup>, Josef Včelák<sup>2</sup>, Martin Sládek<sup>3</sup>, Alena Sumová<sup>3</sup>, Běla Bendlová<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Obor Antropologie a genetiky člověka, PříF UK, Praha  
<sup>2</sup>Oddělení Molekulární endokrinologie, Endokrinologický ústav, Praha  
<sup>3</sup>Oddělení Biologické rytmy, Fyziologický ústav AVČR, Praha



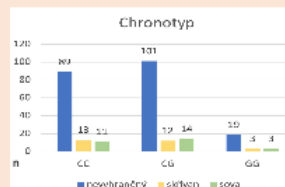
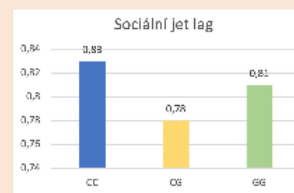
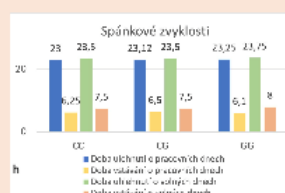
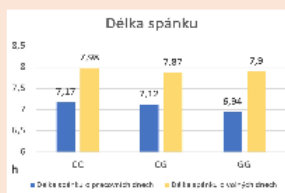
**Úvod:** Melatonin je hormon stěžejní pro řízení spánkových rytmů. Narušování jeho přirozené sekreční rytmicity je popisováno jako jedna z příčin rozvoje diabetu. Gen *MTNR1B* kóduje receptor pro melatonin. Variabilita genu je významným faktorem ovlivňujícím glukózový metabolismus. Navíc se ukazuje, že nositelé minoritní alely G polymorfismu rs10830963 mají mírně posunutý cyklus melatoninové sekrece směrem k pozdějšímu vzestupu večer a pomalejšímu poklesu ráno, což může v interakci se společenským tlakem na časnou ranní aktivitu nepříznivě ovlivňovat glykoregulaci. Zároveň jsme u nositelů tohoto polymorfismu prokázali vliv na časnou fázi inzulínové sekrece (Vejražková et al, Front Endocrinol 2022).

**Cíl:** Zjistit, zda se polymorfismus rs10830963 promítá do spánkových zvyklostí a biorytmů hodnocených prostřednictvím dotazníku.

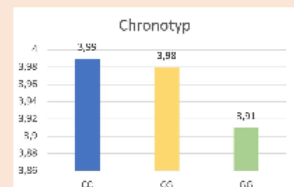
**Soubor a metodika:** Dotazník MCTQ (Munich chronotype questionnaire) pro určení spánkových zvyklostí a chronotypu vyplnilo 375 dobrovolníků (318 žen a 57 mužů, věkový průměr 48 ± 8.5 let). Genotypizace proběhla na přístroji TaqMan (LC480, Roche), data byla hodnocena programem NCSS/PASS 2020 (Mann-Whitney test).

### Výsledky:

- Minoritní alela G byla přítomna v homozygotní konstelaci u 34 účastníků (10 %), heterozygotní u 161 účastníků (45 %), zbylých 160 jedinců (45 %) bylo homozygotních v běžné variantě C. Minoritní varianta G dosahovala alelické frekvence 32.2 %.
- Délka spánku ani střední doba spánku během pracovních a volných dnů se mezi genotypovými skupinami CC/CG/GG významně nelišila.
- U genotypů se shodoval i chronotyp počítaný ze středních hodnot spánku korigovaných na spánkový dluh nahromaděný během pracovních dnů.
- Medián udávané subjektivní maximální denní výkonnosti byl u genotypu GG posunut z 11 h na 12 h, rozdíl však nebyl na stávajícím souboru statisticky významný.



Chronotyp vypočtený ze středních hodnot spánku korigovaných na sex, věk a spánkový dluh, skřivani tvoří 10 % nejčasnějšího chronotypu, sova 10 % nejpozdějšího.



Chronotyp vypočtený ze středních hodnot spánku korigovaných na sex, věk a spánkových dluh.

**Závěr:** U vzorků české populace jsme mezi genotypovými skupinami polymorfismu rs10830963 genu *MTNR1B* pro melatoninový receptor nezaznamenali významné rozdíly v biorytmu a spánkovém režimu.

Příloha 4: Spoluautorství ve článku – Vejrazkova D, Vankova M, Lukasova P, Hill M, Vcelak J, Tura A, Chocholova D, Bendlova B. The Glycemic Curve during the Oral Glucose Tolerance Test: Is It Only Indicative of Glycoregulation? *Biomedicines*. 2023 Apr 25;11(5):1278. doi: 10.3390/biomedicines11051278. PMID: 37238949; PMCID: PMC10216069.



Article

## The Glycemic Curve during the Oral Glucose Tolerance Test: Is It Only Indicative of Glycoregulation?

Daniela Vejrazkova <sup>1,\*</sup>, Marketa Vankova <sup>1</sup>, Petra Lukasova <sup>1</sup>, Martin Hill <sup>1</sup>, Josef Vcelak <sup>1</sup>, Andrea Tura <sup>2</sup>, Denisa Chocholova <sup>3</sup> and Bela Bendlova <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Endocrinology, 110 00 Prague, Czech Republic; plukasova@endo.cz (P.L.); mhill@endo.cz (M.H.); bbendlova@endo.cz (B.B.)

<sup>2</sup> Institute of Neuroscience, National Research Council (CNR), 351 22 Padova, Italy; andrea.tura@cnr.it

<sup>3</sup> Faculty of Science, Charles University, 128 00 Prague, Czech Republic; denisa.chocholova@natur.cuni.cz

\* Correspondence: dvejrazkova@endo.cz; Tel.: +420-224-905-266

**Abstract:** The shape of the glycemic curve during the oral glucose tolerance test (OGTT), interpreted in the correct context, can predict impaired glucose homeostasis. Our aim was to reveal information inherent in the 3 h glycemic trajectory that is of physiological relevance concerning the disruption of glycoregulation and complications beyond, such as components of metabolic syndrome (MS). **Methods:** In 1262 subjects (1035 women, 227 men) with a wide range of glucose tolerance, glycemic curves were categorized into four groups: monophasic, biphasic, triphasic, and multiphasic. The groups were then monitored in terms of anthropometry, biochemistry, and timing of the glycemic peak. **Results:** Most curves were monophasic (50%), then triphasic (28%), biphasic (17.5%), and multiphasic (4.5%). Men had more biphasic curves than women (33 vs. 14%, respectively), while women had more triphasic curves than men (30 vs. 19%, respectively) ( $p < 0.01$ ). Monophasic curves were more frequent in people with impaired glucose regulation and MS compared to bi-, tri-, and multiphasic ones. Peak delay was the most common in monophasic curves, in which it was also most strongly associated with the deterioration of glucose tolerance and other components of MS. **Conclusion:** The shape of the glycemic curve is gender dependent. A monophasic curve is associated with an unfavorable metabolic profile, especially when combined with a delayed peak.



**Citation:** Vejrazkova, D.; Vankova, M.; Lukasova, P.; Hill, M.; Vcelak, J.; Tura, A.; Chocholova, D.; Bendlova, B. The Glycemic Curve during the Oral Glucose Tolerance Test: Is It Only Indicative of Glycoregulation?

**Keywords:** glycemic curve; glucose curve shape; delayed glucose peak; insulin sensitivity; beta cell function; oral glucose tolerance test; glucose tolerance; type 2 diabetes mellitus



Příloha 5: Spoluautorství ve článku – Vaňková M, Vejražková D, Lukášová P, Včelák J, Chocholová D, Bendlová B. Age-Related Changes in Proinsulin Processing in Normoglycemic Individuals. *Physiol Res.* 2023 Dec 17;72(S4):S389-S397. doi: 10.33549/physiolres.935181. PMID: 38116775.

*Physiol. Res.* 72 (Suppl. 4): S389-S397, 2023

<https://doi.org/10.33549/physiolres.935181>

## Age-Related Changes in Proinsulin Processing in Normoglycemic Individuals

Markéta VAŇKOVÁ<sup>1</sup>, Daniela VEJRAŽKOVÁ<sup>1</sup>, Petra LUKÁŠOVÁ<sup>1</sup>, Josef VČELÁK<sup>1</sup>, Denisa CHOCHOLOVÁ<sup>2</sup>, Běla BENDLOVÁ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Endocrinology, Prague, Czech Republic, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic

Received June 26, 2023

Accepted July 3, 2023

### Summary

In order to understand the pathological changes associated with glucose homeostasis in old age, it is necessary to know the natural changes in the processing of proinsulin to mature insulin. While there is abundant information about insulin production and function in diabetics, the situation in healthy adults and the elderly has surprisingly rarely been investigated. The aim of the study was to determine how proinsulin secretion changes in individuals with normal glucose tolerance during the process of natural aging. A total of 761 individuals (539 women, 222 men) aged 18-90 years with normal fasting glycemia (less than 5.6 mmol/l) were divided into five groups according to age. Body composition and levels of fasting blood glucose, proinsulin, insulin, and C-peptide were determined, and the ratios of proinsulin to both insulin and C-peptide were calculated. The homeostasis model of  $\beta$ -cell function (HOMA F) and peripheral insulin resistance (HOMA R) were calculated. The effect of age was assessed using an ANOVA model consisting of the factors sex, age, and sex  $\times$  age interaction. Statgraphics Centurion v. XVIII statistical software was used. Glycemia, insulin, C-peptide and HOMA R increased in both sexes up to 75 years. On the contrary, proinsulin levels as well as proinsulin/insulin and proinsulin/C-peptide ratios decreased with age up to 75 years. In normoglycemic and normotolerant people, both women and men, the aging process is associated with decreased insulin sensitivity compensated by potentiation of insulin production. In older age, there is also a gradual decrease in circulating proinsulin, which can be explained by its more efficient processing into active insulin by matured healthy beta cells.

### Keywords

Proinsulin • Insulin • Age • Glucose tolerance • Type 2 diabetes mellitus

### Corresponding author

Markéta Vaňková, Department of Molecular Endocrinology, Institute of Endocrinology, Narodni 8, 110 00 Prague 1, Czech Republic. E-mail: mvankova@endo.cz

### Introduction

The insulin precursor protein proinsulin is initiated as preproinsulin, typically in the cytosol of pancreatic beta cells, although in early embryonic stages, still pre-pancreatic transcription of proinsulin mRNA has been proven, with a major impact on the development of the nervous system (reviewed by [1,2]). One beta cell of a healthy person can synthesize cca 6000 preproinsulin molecules per second [3]. Each molecule of preproinsulin is comprised of insulin A-chain, insulin B-chain, the area connecting the two chains named the connecting peptide or, for short, C-peptide, and a signal peptide. With the help of a signal peptide, preproinsulin is guided to the endoplasmic reticulum, where proinsulin folding takes place. Errors in this complex chaperone- and oxidoreductase-assisted process may contribute to deficient insulin production and type 2 diabetes mellitus (T2DM), as highlighted in discovery of several diabetogenic preproinsulin signal peptide mutations [4-8].

Proinsulin must be folded to become exportable from the endoplasmic reticulum and to form insulin. Human proinsulin is made up of 86 residues formed into the three chains (A-chain, B-chain, and C-peptide) that are stabilized by three disulfide bonds. Two of these disulfide bonds are between the A- and B-chains, and one is an intra-A-chain bond. The correct structure of