

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



**Význam endokrinní funkce tukové tkáně při vzniku
syndromu inzulínové
rezistence**

Mgr. Petra Kaválková

Praha 2016

Doktorské studijní programy v biomedicině

*Univerzita Karlova v Praze
a Akademie věd České republiky*

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště: 3. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Autor: Mgr. Petra Kaválková

Školitel: Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

Oponenti:

.....
.....
.....

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná

dne: 22.9. 2016 v10:00 hod.

Kde: Fyziologický ústav 1. LF UK

S disertací je možno se seznámit na děkanátě 1. lékařské fakulty
Univerzity Karlovy

OBSAH

ABSTRAKT (CZ)	5
ABSTRAKT (AJ)	6
1. ÚVOD	9
2. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE	11
3. METODIKA STUDIÍ	12
3.1 Antropometrická vyšetření a odběry krevních vzorků	12
3.2 Hormonální a biochemická vyšetření krevních vzorků	13
3.3 Hyperinzulinemický isoglykemický clamp	14
3.3.1 Praktické provedení clampu	14
3.3.2 Vzorce pro výpočet rychlosti infuze glukózy a inzulínu	15
3.4 Statistická analýza získaných dat	16
4. PROTOKOLY DÍLČÍCH STUDIÍ	16
4.1 Vliv nízkokalorické diety, akutní hyperinzulinémie a fenofibrátové léčby na sérové koncentrace Pref-1 u pacientek s obezitou a diabetes mellitus 2. typu	16
4.2 Vliv částečné realimentace na sérové koncentrace Pref-1 u pacientek s mentální anorexií	17
5. VÝSLEDKY	18

5.1	Sérové koncentrace Pref-1 u obézních žen a žen s diabetes mellitus 2. typu: vliv nízkokalorické diety, akutní hyperinzulinémie a fenofibrátové léčby	18
5.2	Vliv částečné realimentace na sérové koncentrace Pref-1 u pacientek s mentální anorexií	22
6.	DISKUZE	24
7.	ZÁVĚRY	33
8.	LITERATURA	36
9.	TABULKY A GRAFY	40
10.	SEZNAM PUBLIKACÍ	54

ABSTRAKT (CZ)

Tuková tkáň produkuje řadu adipokinů, pro- i protizánětlivých cytokinů a hormonů, které mohou ovlivňovat rozvoj inzulínové rezistence, diabetes mellitus 2. typu a dalších komorbidit tvořících metabolický syndrom. Schopnost tukové tkáně skladovat lipidy a tím chránit ostatní orgány a tkáně před ektopickým ukládáním lipidů a rozvojem inzulínové rezistence (IR) je plně závislá na adipogenním potenciálu preadipocytů. Počet a funkce těchto buněk může hrát klíčovou roli v rozvoji jak „zdravé“ tukové tkáně, tak i při vzniku metabolických poruch typu diabetes mellitus 2. typu. Regulace množství tělesného tuku ovlivněním konverze preadipocytů ve zralé adipocyty může hrát významnou roli v léčbě obezity i jejích komorbidit. Jednou z příčin vzniku inzulínové rezistence může být inhibice diferenciacie preadipocytů ve zralé adipocyty a následné ektopické ukládání lipidů způsobené sekrecí Preadipocytárního faktoru - 1 (Pref-1). Pref-1 je nedávno objevený protein exprimovaný preadipocyty nikoli však zralými adipocyty. Je členem rodiny proteinů podobných epidermálním růstovým faktorům, které regulují diferenciaci adipocytů a osteoblastů. Inhibice preadipocytární diferenciacie může hrát významnou roli v regulaci velikosti adipocytů, jejich funkce, expandability a citlivosti k pozdějším metabolickým komplikacím.

Cílem této práce bylo sledovat změny hladin Pref-1 u pacientek s různými metabolickými onemocněními jako jsou obezita, diabetes mellitus 2. typu, mentální anorexie (MA) a též u zdravých štíhlých

žen. Dalším cílem bylo zkoumat vztah sérových hladin Pref-1 k antropometrickým a metabolickým parametrům a vliv různých intervencí typu nízkokalorické diety (VLCD) resp. částečné realimentace na hladiny Pref-1. V další části této práce byl sledován vliv akutní hyperinzulinémie a léčby fenofibrátem u pacientek s obezitou a diabetes mellitus 2. typu na sérové hladiny Pref-1.

Získané výsledky ukazují významný rozdíl v sérových koncentracích Pref-1 u sledovaných skupin pacientek, jež odrážejí nutriční stav organismu. Obézní pacientky s DM 2. typu se vyznačovaly zvýšenými hladinami Pref-1 ve srovnání se štíhlými ženami a třítydenní nízkokalorická dieta vedla k signifikantnímu poklesu hladin Pref-1. Tříhodinová akutní hyperinzulinémie navozená při hyperinzulinemickém isoglykemickém clampu signifikantně snižovala sérové hladiny Pref-1 u zdravých kontrolních žen a obézních diabetiček před a po tříměsíční léčbě fenofibrátem. Naopak 46 denní realimentační program signifikantně zvýšil cirkulující hladiny Pref-1 u pacientek s MA, zatímco před realimentací nebyl nalezen rozdíl v Pref-1 mezi kontrolní skupinou a pacientkami s MA.

Klíčová slova: tuková tkáň – diabetes mellitus 2. typu – inzulínová rezistence – obezita – mentální anorexie – preadipocyty – Preadipocytární faktor - 1 – nízkokalorická dieta – fenofibrát

ABSTRAKT (AJ)

Adipose tissue produces numerous adipokines, pro- and antiinflammatory cytokines and hormones which may influence the

development of insulin resistance, type 2 diabetes mellitus and other comorbidities of the metabolic syndrome.

The ability of adipose tissue to store lipids and thus protect other organs and tissues from ectopic lipid accumulation and development of insulin resistance (IR) is largely dependent on the adipogenic potential of preadipocytes. The amount and function of these cells may be the key factor in creating “healthy” adipose tissue or on the contrary “unhealthy” adipose tissue eventually leading to metabolic derangements. The regulation of the amount of body fat by converting preadipocytes into mature adipocytes may be crucial in the prevention and treatment of obesity and its comorbidities.

One of the reasons for development of insulin resistance can be the inhibition of the differentiation process of preadipocytes into mature adipocytes with consequent ectopic lipid accumulation caused by the secretion of preadipocyte factor - 1 (Pref - 1). Pref - 1 has been discovered recently as a protein produced by preadipocytes but not by mature adipocytes. Pref - 1 is a member of the protein family sharing similarity with epidermal growth factors which regulate the differentiation of adipocytes and osteoblasts. The inhibition of preadipocyte differentiation may play an important role in determination of the size of adipocytes, their function, expandibility and sensitivity to the potential metabolic disorders.

The aim of this thesis was to explore the changes of Pref - 1 levels in patients with different metabolic diseases such as obesity, type 2 diabetes mellitus, anorexia nervosa and also in healthy lean individuals. Furthermore, we studied the relationship between the

serum levels of Pref-1 and anthropometric and metabolic parameters and the influence of various interventions such as very low-calorie diet (VLCD), acute hyperinsulinemia or chronic fenofibrate treatment in patients with obesity or partial realimentation in anorexia nervosa (AN) patients, respectively, on Pref-1 levels.

The results show that there is a significant difference in serum concentration of Pref-1 among the above described groups of patients, which reflects their nutritional status. Obese diabetic patients had higher Pref-1 levels in comparison with lean individuals, and after three weeks of VLCD the Pref-1 level significantly decreased. A three-hour acute hyperinsulinemia during hyperinsulinemic-isoglycemic clamp significantly lowered Pref-1 levels in both healthy control group and diabetic patients before and after the treatment with fenofibrate.

On the other hand, a 46 days realimentation program significantly increased the circulating levels of Pref-1 in patients with AN while no difference in Pref-1 levels was found between the control group and patients with AN at baseline.

Key words: adipose tissue – type 2 diabetes mellitus – insulin resistance – obesity – anorexia nervosa – preadipocytes – Preadipocyte factor - 1 – very low-calorie diet - fenofibrate

1. ÚVOD

Obezita dosahuje spolu s přidruženými komorbiditami, zejména diabetes mellitus 2. typu v posledních 30 letech ve všech vyspělých světových zemích včetně České republiky rozměrů epidemie. Podle aktuálních údajů WHO se výskyt obezity od roku 1980 zdvojnásobil a v roce 2008 bylo na celém světě více než 1,4 miliardy lidí s nadváhou, 200 milionů mužů a 300 milionů žen bylo obézních. Alarmující je výskyt nadváhy/obezity u dětí, který dle šetření WHO činil v roce 2013 41 milionů dětí mladších 5 let. Predikce obezity dle WHO pro rok 2015 je více než 700 milionů obézních celosvětově.

Obezita je definována jako zmnožení tukové tkáně v organizmu, které je nejčastěji způsobeno dysbalancí mezi energetickým příjmem a výdejem. Tuková tkáň není jen tepelným izolátorem, mechanickou ochranou proti nárazu nebo zásobárnou energie, ale je především největším endokrinním orgánem lidského těla, jehož hormonální působky mají velký význam v regulaci metabolismu sacharidů, lipidů i celkového energetického metabolismu [1-3]. Hypertrofie tukové tkáně je charakterizována změnami v endokrinní funkci adipocytů, preadipocytů, makrofágů a rozvojem chronického subklinického zánětu. Dysfunkce tukové tkáně je provázena produkcí prozánětlivých, proaterogenních a prodiabetických adipokinů, cytokinů a chemokinů. Vzhledem k celosvětově vzrůstajícímu trendu výskytu obezity se do popředí vědeckého zájmu dostává snaha o pochopení mechanismů nadměrného ukládání energie v tukové tkáni a možností modulace endokrinní funkce tukové tkáně.

V současné době je proto věnována velká pozornost novým, slibným adipocytárním faktorům, které mohou hrát významnou roli v etiopatogenezi především inzulinové rezistence, diabetes mellitus 2. typu, ale i jiných komorbidit spojených s obezitou. Jedním z těchto faktorů je i nedávno objevený Preadipocytární faktor - 1 (Pref-1), který je členem rodiny proteinů podobných epidermálním růstovým faktorům. Pref-1 hraje významnou roli v regulaci diferenciacie adipocytů a osteoblastů [4, 5], odráží stupeň adipocytární diferenciacie *in vitro* a *in vivo* a je proto používán jako preadipocytární marker [6]. Pref-1 produkovaný preadipocyty (nikoli však adipocyty), je uvolňován do cirkulace, kde může systémově působit v dalších tkáních a orgánech a ovlivňovat tak lipidový a glukózový metabolismus a energetickou homeostázu. Výsledky experimentálních studií ukazují, že nadprodukce Pref-1 u myši vede ke snížení obsahu tukové tkáně, hypertriglyceridémii, snížené glukózové toleranci a zároveň snížené inzulinové senzitivitě, čímž přispívá ke vzniku systémových metabolických onemocnění [7].

Objasnění a pochopení procesů probíhajících v tukové tkáni zdravých jedinců, obézních pacientů nebo pacientů trpících mentální anorexií může přispět k optimalizaci preventivních a terapeutických opatření. Je proto důležité detailně objasnit mechanismy zodpovědné za regulaci adipocytární diferenciacie a její změny u pacientů s obezitou či dalšími onemocněními spojenými se změnami nutričního stavu.

2. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Jednou z příčin vzniku inzulinové rezistence může být inhibice diferenciacie preadipocytů na zralé adipocyty a následné ektopické ukládání lipidů způsobené sekrecí Preadipocytárního faktoru – 1 (Pref-1). Práce je založena na hypotéze, že sérové koncentrace Pref-1 se budou signifikantně lišit u pacientek s obezitou a inzulinovou rezistencí a pacientek s mentální anorexií a štíhlých zdravých kontrolních subjektů. Dále předpokládáme, že tyto hladiny budou asociovány s parametry inzulinové rezistence, glukózového metabolismu a subklinického zánětu a budou signifikantně ovlivněny snížením hmotnosti u obézních pacientek, respektive částečnou realimentací u pacientek s mentální anorexií.

Specifické cíle dizertační práce jsou proto následující:

1. Sledovat změny hladin Pref-1 a dalších parametrů endokrinní funkce tukové tkáně u pacientek s obezitou a diabetes mellitus 2. typu ve srovnání s kontrolní skupinou štíhlých zdravých žen. Dále sledovat vztah hladin Pref-1 k metabolickým a antropometrickým parametrům a vliv různých intervencí typu nízkokalorické diety na hladiny Pref-1 a metabolické parametry.
2. Sledovat vliv akutní hyperinzulinémie a léčby fenofibrátem na sérové koncentrace Pref-1 u pacientek s obezitou a diabetes mellitus 2. typu.
3. Sledovat změny hladin Pref-1 a dalších parametrů endokrinní funkce tukové tkáně u pacientek s mentální

anorexií ve srovnání s kontrolní skupinou. Dále sledovat vztah hladin Pref-1 k metabolickým a antropometrickým parametrům a vliv částečné realimentace pacientek s mentální anorexií na hladiny Pref-1 a metabolické parametry.

3. METODIKA STUDIÍ

Všechna uvedená klinická vyšetření a laboratorní měření byla provedena na 3. interní klinice 1. LF UK a VFN ve spolupráci s Psychiatrickou klinikou 1. LF UK a VFN a Ústavem klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN.

3.1. Antropometrická vyšetření a odběry krevních vzorků

U všech subjektů zařazených do studie byla měřena výška, váha a vypočítán Body mass Index (BMI – hmotnost v kg/výška v m²). Obsah tělesného tuku byl měřen bioimpedanční metodou (Bodystat 1500, Bodystat Ltd., UK) a zároveň dvouenergií rentgenovou absorpciometrií (DEXA Hologic, Waltham, MA, USA). Kostní denzita byla rovněž měřena pomocí kostního denzitometru (DEXA). Bazální metabolismus byl měřen metodou nepřímé kalorimetrie (Vmax EncoreViasysTH HEALTHCARE, SensorMedics BV, Netherlands). Krevní vzorky byly odebírány u studijních subjektů za standardních podmínek, mezi 7. a 8. hodinou ranní nalačno (po celonočním lačnění), do třiceti minut byly centrifugovány (10 min při 1000 x g) a následně byla séra a plazmy uloženy do hlubokomrazicího boxu, kde byly uchovávány při teplotě -70°C do vyšetření. HOMA (homeostasis model assessment) index byl

vypočítán pomocí vzorce: sérová koncentrace inzulinu nalačno (U/ml) * glykémie nalačno (mmol/l)/22.5.

3.2 Hormonální a biochemická vyšetření krevních vzorků

Biochemická vyšetření (glukóza, glykovaný hemoglobin, lipidový profil, jaterní testy, CRP) byla provedena v Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN.

Měření sérové koncentrace Pref-1 bylo provedeno metodou ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA). Senzitivita kitu byla 12 pg/ml a intra a interassay variabilita byla méně než 5 respektive 15%. Rozmezí standardní křivky bylo 0,16-10,00 ng/ml.

Sérová koncentrace inzulinu byla měřena metodou RIA (Cis Bio International, Gif-sur-Yvette Cedex, Francie). Senzitivita kitu byla 2,0 µIU/ml a intra a interassay variabilita byla 4,2 a 8,8%.

Sérová koncentrace adiponektinu byla měřena metodou ELISA (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA). Senzitivita byla 0,78 ng/ml.

Sérová koncentrace leptinu byla měřena metodou ELISA (BioVendor, Brno, Česká republika). Senzitivita kitu byla 0,12 ng/ml a intra a interassay variabilita byla 1,7 a 8,0%.

Sérová koncentrace MIC-1 byla měřena metodou ELISA (BioVendor, Brno, Česká republika). Senzitivita kitu byla 22 pg/ml a intra a interassay variabilita byla 6,75 a 9%. Rozmezí standardní křivky bylo 70-4480 pg/ml.

Sérová koncentrace FABP-4 byla měřena metodou ELISA (BioVendor, Brno, Česká republika). Senzitivita byla 0,1 ng/ml, intra a interassay variabilita byla 5 a 10%.

Sérová koncentrace resistinu byla měřena metodou ELISA (BioVendor, Brno, Česká republika). Senzitivita byla 0,12 ng/ml, intra a interassay variabilita byla 5 a 10%.

3.3 Hyperinzulinemický isoglykemický clamp

V současnosti jsou clampové techniky považovány za zlatý standard v testování sekrece inzulínu, inzulínové rezistence a sekrece kontraregulačních hormonů. Clampová metoda je technikou, která umožňuje navodit a libovolně dlouhou dobu udržovat požadovanou hladinu glykémie ev. inzulínémie *in vivo* pomocí infuzí glukózy a inzulínu, které mohou být podávány samostatně nebo v kombinaci. Podle hladiny cílové glykémie rozlišujeme testy hyperglykemické, euglykemické (normoglykemické), isoglykemické a hypoglykemické.

V naší studii jsme prováděli hyperinzulinemický isoglykemický clamp [8], kterým byla hodnocena míra účinku inzulínu dle podaného množství glukózy při standardně zvolené hyperinzulinémií vyvolané kontinuální infuzí inzulínu o konstantní rychlosti, tak abychom udrželi glykémii na požadované hodnotě. Za cílovou hodnotu glykémie byla považována vstupní glykémie na lačno. Relativní dávka inzulínu byla vztažena na jednotku tělesné hmotnosti nebo tělesného povrchu. Inzulín senzitivní osoby mají na rozdíl od inzulín rezistentních osob vyšší spotřebu glukózy k udržení požadované glykémie.

3.3.1 Praktické provedení clampu

Po celonočním lačnění byly pacientovi do obou předloktí zavedeny kanyly, jedna pro kontinuální infuzi inzulínu (20 IU krátkodobého

lidského inzulínu HMR ve 20 ml 0,9% NaCl, rychlost infuze 1 mIU/kg/min u pacientů BMI < 30 kg/m² a 40 mIU/m²/min při BMI > 30 kg/m² a druhá k podání roztoku 20% glukózy (v infuzích po 500 ml 20% glukózy + 20 ml 7,45% KCl). Rychlost infundované glukózy se měnila v závislosti na změnách glykémie za účelem udržení izoglykémie (vstupní glykémie na lačno). Kanyla ve druhém předloktí sloužila k odběrům krevních vzorků k stanovení glykémie v časových intervalech 5 minut a inzulínémie vstupně a při rovnovážném stavu. Glykémie byla měřena kapesním glukometrem (Super Glucocard II, Japonsko). Celý hyperinzulinemický izoglykemický clamp trval 3 hodiny, kdy rovnovážný stav glykémie v cílovém rozmezí byl nastolen po 150 minutách clampu a trval nejméně 30 minut.

3.3.2 Vzorce pro výpočet rychlosti infuze glukózy a inzulínu

Rychlost infuze glukózy byla vypočtena dle vzorce:

pro pacientky s BMI < 30 kg/m²: $V_{glc} \text{ (ml/hod)} = (\text{hmotnost v kg} \times 60) / 150$

pro pacientky s BMI > 30 kg/m²: $V_{glc} \text{ (ml/hod)} = (\text{těl. povrch v m}^2 \times 2400) / 150$

Během clampu byla rychlost glukózové infuze upravována dle naměřené glykémie.

Rychlost infuze inzulínu byla vypočtena dle vzorce:

pro pacientky s BMI < 30 kg/m²: $V_{ins} \text{ (ml/hod)} = (\text{hmotnost v kg} \times 60) / 1000$, rychlost inzulínu je 1 mIU/kg/min

pro pacientky s BMI > 30 kg/m²: $V_{ins} \text{ (ml/hod)} = (\text{těl. povrch v m}^2 \times 2400) / 1000$, rychlost inzulínu je 40 mIU/m²/min

3.4 Statistická analýza získaných dat

Statistické zpracování získaných dat bylo provedeno pomocí statistického softwaru SigmaStat (Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA). Výsledky jsou uváděny jako průměr \pm SEM (standard error of the mean – střední chyba průměru). Nepárový t-test nebo Mann-Whitney test byly použity ke srovnávání sérových koncentrací mezi kontrolní skupinou a skupinou pacientek s mentální anorexií resp. obezitou. Párový t-test nebo Wilcoxonův test byly použity k porovnání koncentrací Pref-1, biochemických a antropometrických parametrů u pacientek s mentální anorexií před a po částečné realimentaci respektive před a po absolvování nízkokalorické diety. Dále byla také použita Spearmanova korelace ke zhodnocení vztahu mezi koncentrací Pref-1 a dalšími sledovanými parametry. Za statisticky významné byly považovány rozdíly a korelace, kde p bylo menší než 0,05.

4. PROTOKOLY DÍLČÍCH STUDIÍ

4.1 Vliv nízkokalorické diety, akutní hyperinzulinémie a fenofibrátové léčby na sérové koncentrace Pref-1 u pacientek s obezitou a diabetes mellitus 2. typu

Do studie bylo zařazeno 19 pacientek s obezitou (BMI: ≥ 30 kg/m²) bez diabetes mellitus 2. typu (OB skupina), 22 obézních pacientek s diabetes mellitus 2. typu (DM2T skupina) a 22 zdravých kontrolních žen (BMI: 20-25 kg/m²) odpovídajícího věku. Tělesná hmotnost všech vyšetřovaných subjektů byla stabilní po dobu 3 měsíců před zařazením do studie. Pacientky s diabetem byly léčeny perorálními

antidiabetiky (metforminem nebo kombinací metforminu a glimepiridu). Antidiabetická léčba nebyla měněna po dobu 3 měsíců před zařazením do studie. Žádná z vyšetřovaných žen netrpěla endokrinologickým, infekčním nebo nádorovým onemocněním. Všechny obézní ženy bez diabetu a 12 obézních žen s diabetem podstoupilo třítydenní nízkokalorickou dietu (600Kcal/den) na oddělení 3. interní kliniky 1. LF UK a VFN. Podskupina 11 obézních žen s diabetem 2. typu a 10 kontrolních štíhlých žen byla zařazena do substudie s fenofibrátovou léčbou. Pacientky byly léčeny PPAR- α agonistou fenofibrátem (Lipanthyl 267 M) po dobu 3 měsíců. Jejich inzulinová senzitivita byla vyšetřována hyperinzulinemickým izoglykemickým clampem.

Zdravé ženy z kontrolní skupiny netrpěly obezitou ani malnutricí, hypertenzí ani jiným metabolickým onemocněním.

Informovaný souhlas podepsaly všechny studijní subjekty před zařazením do studie. Studijní protokol byl schválen Etickou komisí 1. LF UK a VFN a byl v souladu s Helsinskou deklarácí.

4.2 Vliv částečné realimentace na sérové koncentrace Pref-1 u patientek s mentální anorexií

Do této studie bylo zařazeno 18 dosud neléčených patientek s mentální anorexií (věk: $24,39 \pm 1,21$ let, BMI: $15,58 \pm 0,28$ kg/m²) a 16 zdravých žen odpovídajícího věku (věk: $22,69 \pm 0,76$ let, BMI: $21,80 \pm 0,51$ kg/m²). Pacientky s mentální anorexií byly hospitalizovány na oddělení Psychiatrické kliniky 1. LF UK a VFN, kde podstoupily program částečné realimentace v trvání 46 ± 2 dny. Realimentační program obsahoval 3 hlavní jídla, 2 svačiny a 1

druhou večeři, dieta obsahovala 50% sacharidů, 25% tuků, 25 % bílkovin a celkový denní příjem činil 2300kcal. Pacientky konzumovaly všechna jídla pod dohledem. Žádná z těchto žen neměla diabetes mellitus, netrpěla onemocněním štítné žlázy, akutním infekčním onemocněním ani alergií. Žádná pacientka neměla maligní onemocnění. Mentální anorexie trvala u sledovaného souboru žen v průměru $9 \pm 1,8$ roku. Pacientky byly vyšetřovány na začátku a na konci realimentačního programu a zdravé ženy pouze jednou.

Zdravé ženy tvořící kontrolní skupinu neužívaly žádnou medikaci a v minulosti netrpěly malnutricí, poruchou příjmu potravy, obezitou, hypertenzí, gastrointestinálním nebo psychiatrickým onemocněním. Ženy z kontrolní skupiny měly pravidelný menstruační cyklus.

Všechny studijní subjekty podepsaly informovaný souhlas před zařazením do studie. Studie byla provedena se souhlasem Etické komise 1. LF UK a VFN a byla v souladu s Helsinskou deklarácí.

5. VÝSLEDKY

5.1 Sérové koncentrace Pref-1 u obézních žen a žen s diabetes mellitus 2. typu: vliv nízkokalorické diety, akutní hyperinzulinémie a fenofibrátové léčby

- **Srovnání antropometrických, biochemických a hormonálních parametrů obézních žen a žen s DM 2. typu s kontrolní skupinou zdravých žen**

Základní antropometrické, biochemické a hormonální charakteristiky sledovaných obézních žen nebo žen s DM 2. typu jsou ukázány v tabulce 1. Dle očekávání byl BMI, glykémie, triglyceridémie,

inzulinémie, leptinémie, CRP, FABP-4, MIC-1 a HOMA index signifikantně vyšší u obou skupin obézních žen – s i bez DM 2. typu ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých, štíhlých žen. Naopak sérové koncentrace adiponektinu a HDL cholesterolu byly signifikantně sníženy u obou těchto skupin. Hladina glykovaného hemoglobinu byla signifikantně zvýšena u skupiny obézních žen s DM 2. typu ve srovnání s kontrolní skupinou žen. Při porovnávání skupin pacientek trpících obezitou vs. skupina pacientek s DM 2. typu, měly pacientky s diabetem signifikantně nižší BMI, zatímco glykémie, glykovaný hemoglobin, triglyceridémie, inzulinémie a HOMA index byly signifikantně vyšší u skupiny žen s diabetem ve srovnání s obézní skupinou žen bez diabetu. Sérové koncentrace leptinu a adiponektinu se nelišily mezi skupinami obézních s nebo bez diabetu. Sérové koncentrace celkového cholesterolu a resistinu se mezi sledovanými skupinami nelišily.

- **Srovnání antropometrických, biochemických a hormonálních parametrů obézních žen před a po VLCD vs. kontrolní skupina žen**

Vliv 3 týdenní nízkokalorické diety (VLCD – very-low-calorie diet) na antropometrické, hormonální a biochemické parametry skupiny obézních žen je ukázán v tabulce 2. VLCD signifikantně snížila BMI, sérové koncentrace celkového cholesterolu, LDL cholesterolu, resistinu a C reaktivního proteinu. Sérové hladiny Fatty acid binding proteinu-4 (FABP-4) a Macrophage inhibitory cytokine - 1 (MIC-1) byly signifikantně vyšší před a po VLCD v porovnání s kontrolní skupinou, ale VLCD na jejich sérové koncentrace vliv neměla.

Glykémie, triglyceridémie, inzulinémie, leptinémie, sérová koncentrace HDL cholesterolu a adiponektinu zůstaly po 3 týdenní VLCD beze změny.

- **Srovnání antropometrických, biochemických a hormonálních parametrů obézních žen s diabetes mellitus 2. typu před a po VLCD a vs. kontrolní skupina žen**

Vliv 3 týdenní nízkokalorické diety (VLCD – very-low-calorie diet) na antropometrické, hormonální a biochemické parametry skupiny obézních žen s diabetes mellitus 2. typu je ukázán v tabulce 3. VLCD signifikantně snížila BMI, glykémii, celkový cholesterol, inzulinémii, HOMA index, leptinémii, a sérovou koncentraci C reaktivního proteinu. Naopak VLCD neměla vliv na sérové koncentrace HDL a LDL cholesterolu a adiponektinu, resistinu. Sérové hladiny Fatty acid binding proteinu-4 (FABP-4) a Macrophage inhibitory cytokinu - 1 (MIC-1) byly signifikantně zvýšeny před a po VLCD v porovnání s kontrolní skupinou, ale VLCD na jejich sérové koncentrace vliv neměla.

- **Srovnání antropometrických, biochemických a hormonálních parametrů pacientek zahrnutých do studie s fenofibrátovou léčbou**

Základní antropometrické, biochemické a hormonální charakteristiky pacientek léčených fenofibrátem jsou ukázány v tabulce 4. Při vstupu do studie byly BMI, glykémie, triglyceridémie, inzulinémie, HOMA index, aterogenní index, leptinémie a glykovaný hemoglobin signifikantně vyšší u skupiny diabetiček 2. typu ve srovnání

s kontrolní skupinou, naopak HDL cholesterol byl signifikantně snížen. Tříměsíční léčba fenofibrátem vedla k signifikantnímu poklesu triglyceridémie, zatímco glykémie, glykovaný hemoglobin a HOMA index byly signifikantně zvýšeny. Další parametry včetně BMI, celkového cholesterolu, HDL cholesterolu, inzulínu, adiponektinu a aterogenního indexu nebyly léčbou ovlivněny. Sérová koncentrace leptinu nebyla po léčbě fenofibrátem stanovena. Inzulínová senzitivita, měřená hyperinzulinemickým isoglykemickým clampem, byla signifikantně nižší u skupiny diabetiček ve srovnání s kontrolní skupinou a léčba fenofibrátem na ni neměla vliv, jak bylo ukázáno dříve [9]. Sérové koncentrace celkového cholesterolu a adiponektinu se nelišily.

- **Sérové koncentrace Preadipocytárního faktoru-1 u obézních žen s nebo bez diabetes mellitus 2. typu a kontrolní skupiny žen a jeho vztah k antropometrickým a metabolickým parametrům**

Sérové koncentrace Pref-1 byly signifikantně vyšší u skupiny pacientek s diabetem ($0,334 \pm 0,027$ ng/ml) ve srovnání s kontrolní skupinou ($0,230 \pm 0,019$ ng/ml, $p < 0,001$), zatímco u skupiny obézních bez diabetu vs. kontrolní skupina statisticky signifikantní rozdíl nebyl nalezen ($0,269 \pm 0,026$ ng/ml, $p = 0,143$). Rovněž nebyl prokázán žádný rozdíl v sérových koncentracích Pref-1 mezi skupinou obézních s a bez diabetu ($p = 0,060$) viz obrázek 1. V kombinované populaci štíhlých zdravých žen a obézních žen s DM 2. typu cirkulující hladiny Pref-1 pozitivně korelovaly s inzulínem,

HOMA indexem, glykemií a leptinemií nikoli však s BMI, celkovým cholesterolem a adiponektinem, jak ukazuje tabulka 5.

- **Vliv VLCD, fenofibrátové léčby a hyperinzulinémie během clampu na sérové koncentrace Pref-1**

Třítýdenní VLCD signifikantně snížila cirkulující sérové hladiny Pref-1 u obou sledovaných skupin, obézních ($0,269 \pm 0,026$ ng/ml vs. $0,206 \pm 0,021$ ng/ml, $p = 0,005$) a skupiny s diabetem ($0,299 \pm 0,021$ ng/ml, $p = 0,010$) viz obrázek 2, zatímco léčba fenofibrátem na cirkulující hladiny Pref-1 u skupiny diabetiček vliv neměla ($0,209 \pm 0,020$ ng/ml vs. $0,231 \pm 0,029$ ng/ml, $p = 0,057$) viz obrázek 3.

Tříhodinová akutní hyperinzulinémie navozená při hyperinzulinemickém isoglykemickém clampu signifikantně snížila cirkulující sérové hladiny Pref-1 u zdravých kontrolních subjektů a diabetiček před a po tříměsíční léčbě fenofibrátem (obr. 4). Pokles hladin Pref-1 v 90. minutě clampu byl signifikantně výraznější u skupiny diabetiček léčených fenofibrátem ve srovnání s kontrolní skupinou a diabetičkami neléčenými fenofibrátem ($p < 0,026$). Podobný trend cirkulujících hladin Pref-1 byl pozorován ve 180. minutě, ačkoli rozdíl mezi sledovanými skupinami nebyl signifikantní (obr. 4).

5.2 Vliv částečné realimentace na sérové koncentrace Pref-1 u pacientek s mentální anorexií

Antropometrické, hormonální a biochemické parametry kontrolní skupiny zdravých žen a pacientek s mentální anorexií před a po částečné realimentaci ukazuje tabulka 6. Při vstupu do studie byla tělesná hmotnost, BMI, obsah tělesného tuku, glykémie na lačno,

sérová koncentrace inzulinu, TSH, volného T4, celkové bílkoviny, leptinu, klidového energetického výdeje, kostní denzita v bederní oblasti páteře a stehenní kosti u pacientek s mentální anorexií (MA) signifikantně nižší v porovnání se zdravými ženami z kontrolní skupiny.

Částečná realimentace pacientek s mentální anorexií vedla k signifikantnímu zvýšení tělesné hmotnosti, BMI, obsahu tělesného tuku, glykémie na lačno, sérové koncentrace inzulinu, leptinu, celkové bílkoviny, albuminu a klidového bazálního energetického výdeje.

Sérová koncentrace Pref-1, je ukázána na obrázku 5. Sérová koncentrace před zahájením realimentačního programu u pacientek s mentální anorexií (MA) se nelišila od kontrolní skupiny zdravých žen ($0,26 \pm 0,02$ vs. $0,32 \pm 0,05$ ng/ml, $p = 0,295$). Částečná realimentace vedla k signifikantnímu zvýšení sérové koncentrace Pref-1 ($p = 0,015$) (obr. 6).

Vztah mezi sérovou koncentrací Pref-1 a antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry byl stanoven pomocí Spearmanova korelačního testu ve skupinách mentálních anorektiček před a po částečné realimentaci a kontrolní skupině zdravých žen. Nebyl nalezen žádný vztah mezi cirkulujícími sérovými hladinami Pref-1 a sledovanými parametry na začátku studie před zahájením realimentačního programu. Totéž platí i pro vztah sérové koncentrace Pref-1 a BMI po částečné realimentaci ($p=0,161$). Naopak pozitivní korelace byla nalezena mezi cirkulující hladinou

Pref-1 po částečné realimentaci a změnou BMI po realimentaci u pacientek trpících mentální anorexií (obr. 7).

6. DISKUZE

Předchozí studie ukázaly, že Pref-1 hraje důležitou roli v regulaci konverze preadipocytů ve zralé adipocyty a působí jako inhibitor adipocytární diferenciace *in vitro* a *in vivo* [10]. Downregulace nebo inhibice Pref-1 je spojena s indukci a stimulací adipocytární diferenciace a adipogeneze [11-13]. Zvýšené hladiny Pref-1 jsou spojeny s inzulínovou rezistencí a inhibicí adipocytární diferenciace nebo dediferenciace zralých adipocytů [14]. Signifikantně zvýšené bazální sérové hladiny Pref-1 u obézních pacientek s DM 2. typu ve srovnání se zdravými, štíhlými ženami naznačují možnou spojitost mezi zvýšenými koncentracemi Pref-1 a zhoršenou adipocytární diferenciací a zároveň inzulínovou rezistencí u obézních diabetických pacientů. Výsledky naší studie prokázaly, že vyšší cirkulující hladiny Pref-1 u pacientek s diabetem pozitivně korelují se sérovými hladinami inzulínu, glukózy, leptinu a HOMA indexem, což je v souladu s experimentálními daty ukazující zvýšené hladiny Pref-1 u myšího modelu lipodystrofie vyznačujícího se nadměrnou expresí Pref-1 [6], nSREBP-1c [15] a leptinového receptoru β [16] spojeného s inzulínovou rezistencí. Celkově tyto poznatky naznačují, že zvýšené hladiny Pref-1 u obézních inzulínrezistentních jedinců mohou přispívat k omezení preadipocytární diferenciace a snížení počtu „zdravých, štíhlých“ adipocytárních dep, což následně vede k nadměrnému ukládání tuků ve zralých adipocytech [17]. Snížená

kapacita tukové tkáně pro ukládání tuků vede k jejich ektopickému ukládání v jaterní a svalové tkáni, což může představovat možný mechanismus, kterým zvýšené hladiny Pref-1 přispívají k rozvoji inzulinové rezistence. Těžká inzulinová rezistence a hypertriglyceridémie u myši s nadměrnou expresí Pref-1 byla přičítána hlavně snížení inzulinem stimulovaného vychytávání glukózy v kosterním svalu a tukové tkáni a byla spojena se zhoršenou inzulinovou signalizací a zvýšeným obsahem diacylglycerolů v kosterním svalu [6]. Naše výsledky získané za použití clampu ukazují, že pacientky s diabetes mellitus 2. typu se zvýšenými hladinami Pref-1 mají signifikantně snížené celotělové vychytávání glukózy, což můžeme za těchto podmínek přičíst svalové IR (sval je v podmínkách hyperinzulinemického clampu zodpovědný za 70-80 % spotřebované glukózy). Jak ukazují výsledky nedávno provedených studií, nižší exprese Pref-1 v tukové tkáni metabolicky zdravých, obézních jedinců v porovnání s metabolicky nezdravými jedinci odráží zvýšenou adipogenní kapacitu a tudíž velmi pravděpodobně hraje významnou roli v ochraně organismu proti nežádoucímu metabolickému profilu spojeného s nadměrným ektopickým ukládáním tuku [17]. V naší studii se hladiny Pref-1 obézních pacientek bez DM 2. typu nelišily od hladin zdravých kontrolních subjektů, ale současně byla zaznamenána tendence (nesignifikantní) k nižším hodnotám u těchto jedinců ve srovnání se skupinou s DM 2. typu navzdory signifikantně vyššímu BMI. Tento fakt může být částečně vysvětlen

velikostí vyšetřované skupiny subjektů bez metabolických onemocnění.

Je zajímavé, že výsledky experimentálních studií provedených na myších se sníženými hladinami Pref-1 neukazují jednoznačně příznivý metabolický efekt, což naznačuje složitost působení Pref-1. Myši s úplným chyběním Pref-1 se vyznačují retardací růstu, vysokou perinatální mortalitou, abnormalitami skeletu a zvýšeným množstvím tělesného tuku, jsou-li krmeny dietou s vysokým obsahem tuku. Vyšetření tukové tkáně Pref-1-null myši odhalilo, že ke zvýšení obsahu tělesného tuku přispívá zvýšení diferenciacie adipocytů a jejich zvýšené zrání [18]. Celkově však mohou být metabolické výsledky u těchto zvířat jistě modifikovány komplexními fenotypickými vlivy chybění Pref-1 v jiných tkáních a orgánech.

Potlačení exprese Pref-1 a následně obnovení adipocytární diferenciacie byly zkoumány v několika studiích. Použití dexametazonu, složky diferenciacních činidel, inhibuje transkripci Pref-1 a tím podporuje adipogenezi, z čehož vyplývá, že downregulace Pref-1 je nezbytná pro správnou konverzi preadipocytů na adipocyty [19]. Výsledky studie zkoumající vliv oxidovaného LDL na rovnováhu mezi diferenciací a proliferací v 3T3-L1 preadipocytech ukázaly, že preadipocyty léčené oxidovaným LDL vykazovaly vysokou rychlost proliferace, nízkou úroveň apoptózy, a zhoršenou diferenciací za současného zvýšení exprese Pref-1. Inhibice exprese Pref-1 použitím zvýšené koncentrace dexametazonu došlo k diferenciaci preadipocytů jako

obvykle, což ukazuje na klíčovou roli Pref-1 v procesu adipogeneze [20]. Potlačení inhibičního efektu Pref-1 na adipogenní diferenciaci svalových buněk je zprostředkována inzulínem přítomným v diferenciacním mediu [21]. V naší studii bylo ukázáno signifikantní snížení hladin Pref-1 zprostředkované akutní hyperinzulinémií při hyperinzulinemickém izoglykemickém clampu jak u zdravých jedinců, tak u diabetiček 2. typu před i po léčbě PPAR- α agonistou fenofibrátem, což potvrzuje přímý vliv inzulínu na hladiny Pref-1. Naše data však neumožňují vysvětlit přesný mechanismus působení inzulínu na regulaci Pref-1 a jeho modulaci fibrátovou léčbou. Křivka změn hladin Pref-1u zdravých subjektů a diabetických pacientek po fenofibrátové léčbě byla podobná a vyznačovala se prudkým poklesem hladin Pref-1 po 90. minutě hyperinzulinémie následované stabilizací hladin Pref-1. Naopak hladiny Pref-1 u diabetiček neléčených fenofibrátem ukázaly pomalý růst na konci clampu. Tyto výsledky mohou naznačovat, že fenofibrátová léčba zlepšuje sekreční odpověď Pref-1 na inzulín. Zajímavé je, že supresivní účinek inzulínu na hladiny Pref-1 prokázány při clampu je v rozporu s bazálním zjištěním nejvyšších hladin Pref-1 u hyperinzulinemických pacientů, kterými jsou diabetici 2. typu. Toto paradoxní zjištění může být vysvětleno významným rozdílným vlivem akutní a chronické hyperinzulinémie na cirkulující hladiny Pref-1, ačkoliv přesné vysvětlení mechanismu tohoto rozporu bude vyžadovat další analýzy.

V další části naší práce, jsme zkoumali vliv snížení tělesné hmotnosti na cirkulující hladiny Pref-1 během VLCD u obézních pacientek s a

bez diabetes mellitus 2. typu. Z výsledků naší studie vyplývá, že sérové hladiny Pref-1 jsou po VLCD sníženy za současného zlepšení parametrů inzulínové rezistence (pokles glykémie, inzulínémie, HOMA-indexu, leptinémie) u diabetiček 2. typu a snížení tělesné hmotnosti a celkového cholesterolu u obou sledovaných skupin. Tyto výsledky naznačují, že downregulace Pref-1 se může podílet na pozitivním metabolickém účinku kalorické restriktce díky zvýšení diferenciace preadipocytů v prostředí nízkých hladin Pref-1.

V naší práci jsme se také zabývali vlivem léčby PPAR- α agonistů na cirkulující hladiny Pref-1. Aktivace PPAR- α u zvířecích modelů obezity a inzulínové rezistence má za následek zlepšení inzulínové rezistence stimulací oxidace mastných kyselin ve svalové a jaterní tkáni, která vede ke sníženému ektopickému ukládání tuků v těchto tkáních [22]. Zvýšené hladiny Pref-1 jsou pozorovány společně se zvýšenou stimulací oxidace mastných kyselin, která je způsobena PPAR- α a je doprovázena snížením syntézy triglyceridů a mRNA exprese PPAR- γ v potkaních adipocytech během léčby bezafibrátem [23] nebo během hyperleptinémie navozené adenovirem a doprovázené ztrátou obsahu tělesného tuku u potkanů [24]. V naší studii vedla léčba fenofibrátem k nepatrnému zhoršení kontroly diabetu, projevující se zvýšením hladin glykovaného hemoglobinu, ačkoliv hladiny triglyceridů byly sníženy. Mírně zhoršená diabetická kompenzace po fenofibrátové léčbě byla popsána i v několika dalších studiích [25, 26]. Jako možné vysvětlení tohoto faktu se jeví jak nižší exprese PPAR- α v jaterní tkáni u lidí ve srovnání s potkany, tak i chybění vlivu léčby fenofibrátem na tělesnou hmotnost [27].

Tento vliv totiž u lidí není na rozdíl od hlodavců přítomen. Výsledky naší studie neprokázaly vliv léčby fenofibrátem na cirkulující hladiny Pref-1 u diabetiček 2. typu, přestože zde byla patrná zvýšená hladina Pref-1. Tento fakt může být částečně vysvětlen malým počtem pacientek ve sledované skupině podstupující léčbu fenofibrátem a relativně krátkým trváním této farmakologické intervence. Jak již bylo dříve zmíněno, ačkoli vedla léčba fenofibrátem ke zvýšení Pref-1 a zároveň zhoršení inzulinové rezistence, byl prokázán pozitivní supresivní efekt akutní hyperinzulinémie na cirkulující hladiny Pref-1, což dokazuje existenci regulačního mechanismu zodpovědného za sekreci a účinek Pref-1. Obecně lze shrnout, že obézní, diabetické ženy mají signifikantně zvýšené cirkulující hladiny Pref-1 v porovnání se zdravými, štíhlými ženami, což potvrzuje teorii, že Pref-1 zhoršuje adipocytární diferenciaci spolu s rozvojem inzulinové rezistence, obezity a diabetes mellitus 2. typu. Spojitost mezi inzulinovou rezistencí a hladinami Pref-1 je potvrzena faktem, že zlepšení inzulinové senzitivity je zároveň doprovázeno sníženými hladinami Pref-1 po kalorické restrikci.

Ve druhé části našeho výzkumu jsme se zaměřili na sledování cirkulujících hladin Pref-1 u metabolického onemocnění, které se řadí stejně jako obezita mezi poruchy příjmu potravy, ale leží na opačném konci spektra těchto chorob. Jde o mentální anorexii, která je charakterizována úmyslným odmítáním potravy, malnutricí, úbytkem tukové tkáně a zvyšováním energetického výdeje. Příčina tohoto onemocnění není zatím zcela objasněna, proto i její léčba

zůstává velmi obtížná. Pacienti trpící mentální anorexií vykazují změny v cirkulujících hladinách hormonů řídících příjem potravy včetně leptinu, ghrelinu a dalších v kombinaci s dalšími metabolickými a hormonálními abnormalitami [28-30]. Typickým znakem tohoto onemocnění je značné snížení obsahu tělesného tuku [31] a s tím související alterovaná endokrinní funkce tukové tkáně projevující se např. sníženými sérovými hladinami leptinu nebo naopak zvýšenými hladinami adiponektinu [32, 33]. Pref-1 hraje důležitou roli v adipocytární a osteoblastové diferenciaci [4, 5] a může nepřímo ovlivňovat regulaci kostního metabolismu a kostní denzitu. Dosud existuje jen velmi málo údajů o regulaci cirkulujících hladin Pref-1 u pacientů s MA a vlivu parciální realimentace na jeho hladiny. Na základě experimentálních dat ukazujících snížení obsahu tělesného tuku a změn v energetické homeostáze u myši nadměrně exprimujících Pref-1, vznikla naše hypotéza, že změny v sérových koncentracích Pref-1 mohou přispívat k etiopatogenezi mentální anorexie nebo k objasnění metabolických abnormalit doprovázející toto onemocnění.

Důležitým zjištěním naší studie je, že částečná realimentace u pacientek s mentální anorexií signifikantně zvýšila cirkulující sérové hladiny Pref-1. Naopak hodnoty Pref-1 u MA před a po realimentaci se nelišily od hodnot zdravých žen. Tento fakt může být vysvětlen tím, že dynamické změny v cirkulujících sérových hladinách mohou být důležitější než absolutní koncentrace při procesu realimentace. Pref-1 je protein obsahující 385 aminokyselin, který je u lidí exprimován preadipocyty (nikoli však adipocyty) a jinými tkáněmi

včetně buněk pankreatických ostrůvků, stromálních buněk brzlíku a buněk nadledvin [34]. Experimentální studie ukazují, že cirkulující hladiny Pref-1 se mohou přímo podílet na řízení ukládání lipidů a lipidového a glukózového metabolismu [6, 7, 18]. Myši s knockoutem genu pro Pref-1 krmené vysokotukovou dietou vykazují retardaci růstu, kosterní abnormality, zvýšený obsah tuku [18], což podporuje roli Pref-1 v regulaci adipocytární diferenciace. Naopak mladé, dospělé myši s nadměrnou expresí Pref-1 vykazují značnou redukci bílé tukové tkáně jako výsledek zhoršené adipocytární diferenciace [6]. Tyto myši jsou rezistentní k obezitě vyvolané vysokotukovou dietou, ale naopak se u nich vyvíjí hypertriglyceridémie, zhoršená glukózová tolerance a inzulinová rezistence v důsledku nemožnosti správného vývoje tukové tkáně lépe řečeno její kapacitní nedostatečnosti [7]. Velice málo studií se zabývá cirkulujícími hladinami Pref-1 u lidí s malnutricí. Ve studii provedené Fazelim a kol. byly zjištěny signifikantně vyšší cirkulující hladiny u skupiny neléčených pacientek s mentální anorexií ve srovnání se zdravými ženami s normální tělesnou hmotností [35]. V této studii je uváděna pozitivní korelace cirkulujících hladin Pref-1 s množstvím tuku v kostní dřeni v proximální části stehenní kosti. Na rozdíl od těchto výsledků jsme v naší studii neprokázali signifikantní rozdíl mezi cirkulujícími hladinami Pref-1 u pacientek s MA a zdravých žen. Rozdíl mezi výsledky naší studie a výsledky studie provedené Fazelim může být vysvětlen nižší hmotností u našich pacientek s MA oproti skupině vyšetřované Fazelim a odlišnou dobou trvání onemocnění. Výsledky naší studie ukazují, že částečná

realimentace signifikantně zvyšuje cirkulující hladiny Pref-1, což naznačuje, že změny v nutričním stavu mohou signifikantně ovlivňovat produkci Pref-1 a jeho uvolňování z tukové tkáně. Toto zjištění je zajímavé vzhledem k tomu, že jsme neprokázali signifikantní souvislost s antropometrickými, biochemickými nutričními parametry v našem studovaném souboru pacientek. Tyto naše výsledky ukazují, že dynamické změny nutričního stavu ovlivňují koncentrace Pref-1 podstatně více než dlouhodobý stav nutriční. Naše výsledky byly získány testováním dynamických změn Pref-1 u skupiny pacientek s mentální anorexií po částečné realimentaci, zatímco nadměrná alimentace u kontrolní skupiny nebyla prováděna. Proto změny nalezené u skupiny žen trpících mentální anorexií nemohou být obecně extrapolovány na jiné stavy jako je např. obezita spojená s pozitivní energetickou bilancí. Zvýšené hladiny Pref-1 u pacientek s MA po částečné realimentaci signifikantně korelovaly se změnami BMI. Tato souvislost ukazuje, že produkce Pref-1 v tukové tkáni po realimentaci velmi pravděpodobně odráží její diferenciační kapacitu a/nebo počet preadipocytů. Pacienti vykazující vyšší hladiny Pref-1 a vyšší počet preadipocytů v tukové tkáni mohou mít vyšší hmotnostní přírůstky ve srovnání s pacienty s nižším počtem preadipocytů v tukové tkáni a s tím souvisejícími nižšími hladinami Pref-1. Lze tedy shrnout, že cirkulující hladiny Pref-1 u námi sledovaných neléčených pacientek s mentální anorexií se neliší od zdravých žen, ale jsou naopak zvýšené po částečné realimentaci, která koreluje se změnami BMI.

7. ZÁVĚRY

Obezita, spolu s jejími komorbiditami a celosvětově se zvyšující prevalencí představuje závažný zdravotní, celospolečenský a v neposlední řadě i ekonomický problém. Obezita je charakterizována hypertrofií a hyperplazií tukové tkáně, která ve zvýšené míře produkuje celou řadu působků s endokrinním, exokrinním a parakrinním působením. Tyto faktory mají velký význam v regulaci metabolismu sacharidů, lipidů i celkového energetického metabolismu. Dysbalance v produkci těchto působků přispívá ke vzniku přidružených onemocnění doprovázející obezitu (inzulínová rezistence, diabetes mellitus 2. typu, arteriální hypertenze, hyperlipidémie, hyperurikémie, prokoagulační stav, endoteliální dysfunkce a zvýšení markerů subklinického zánětu). Z tohoto důvodu se do popředí výzkumného zájmu dostává studium nových faktorů produkovaných tukovou tkání, které mohou mít etiopatogenetickou souvislost s těmito chorobami. Jedním z těchto faktorů může být i Preadipocytární faktor-1. Sledování jeho cirkulujících hladin, funkce a působení u dvou nutričně odlišných stavů – obezity a mentální anorexie, se stalo předmětem naší práce.

Preadipocytární faktor-1 (Pref-1) je nedávno objevený faktor, který je ve velké míře exprimován preadipocyty, snížen při diferenciaci adipocytů a úplně chybí u zralých adipocytů [4, 5]. Pref-1 odráží stupeň adipocytární diferenciacie *in vitro* a *in vivo* a je proto používán jako preadipocytární marker. Jeho exprese je snížena působením adipogenních faktorů (dexametazon) a naopak zvýšena antiadipogenním působením růstového hormonu, jehož stimulační

účinek je způsoben aktivací FoxA2 [36]. Pref-1 inhibuje diferenciaci adipocytů aktivací MEK/ERK [37], akumulaci lipidů, expresi adipocytárních transkripčních faktorů jako jsou PPAR γ a C/EBP α a dalších markerů včetně FAS (fatty acid synthase), stearyl - coenzym A desaturázy a FABP4/aP2. Zvýšené hladiny Pref-1 jsou spojeny se zhoršenou adipocytární diferenciací nebo dediferenciací zralých adipocytů a inzulínovou rezistencí [14]. V naší studii jsme ukázali, že cirkulující sérové koncentrace Pref-1 byly signifikantně vyšší u skupiny obézních pacientek s diabetem ve srovnání s kontrolní skupinou, zatímco u skupiny obézních bez diabetu nebyl ve srovnání s kontrolní skupinou rozdíl zaznamenán. V kombinované populaci štíhlých, zdravých žen a obézních žen s DM 2. typu cirkulující hladiny Pref-1 pozitivně korelovaly s hladinou inzulínu, HOMA indexem, glykemií, leptinemií nikoli však s BMI, celkovým cholesterolem a adiponektinem. Sledování vlivu třítýdenní VLCD prokázalo, signifikantní snížení cirkulujících sérových hladin Pref-1 jak u obézních, tak u obézních s diabetem. Změny v cirkulujících hladinách Pref-1, u pacientek podstupujících tříměsíční léčbu fenofibrátem, nebyly prokázány. Výsledky naší studie dále prokázaly, že tříhodinová akutní hyperinzulinémie navozená při hyperinzulinemickém isoglykemickém clampu signifikantně snižovala cirkulující sérové hladiny Pref-1 u zdravých kontrol a diabetiček před a po tříměsíční léčbě fenofibrátem. Snížení hladin Pref-1 v 90. minutě clampu bylo signifikantně výraznější u skupiny diabetiček léčených fenofibrátem ve srovnání s kontrolní skupinou a diabetiček neléčených fenofibrátem. Podobný trend

cirkulujících hladin Pref-1 byl pozorován ve 180. minutě, ačkoli rozdíl mezi sledovanými skupinami nebyl signifikantní.

V další části studie, kde jsme sledovali cirkulující hladiny Pref-1 u pacientek s mentální anorexií, jsme neprokázali rozdíl cirkulujících hladin Pref-1 mezi skupinou s MA a skupinou zdravých žen z kontrolní skupiny. Naopak částečná realimentace vedla k signifikantnímu zvýšení sérové koncentrace Pref-1. Neméně významným zjištěním je nález pozitivní korelace mezi hladinami Pref-1 po částečné realimentaci a změnou BMI taktéž po realimentaci u pacientek s MA.

Závěrem lze shrnout, že produkce Pref-1 preadipocyty v tukové tkáni a jeho následné působení v organismu neodráží pouze akutní nutriční stav, ale je součástí dynamických metabolických změn organismu, které musí být chápány jako součást celkového dlouhodobého stavu sledovaného organismu. Hledání patofyziologických souvislostí mezi působky produkovanými tukovou tkání a vznikem metabolických onemocnění bude vyžadovat další intenzivní výzkumy.

8. LITERATURA

1. Van Gaal, L.F., I.L. Mertens, and C.E. De Block, *Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease*. Nature, 2006. **444**(7121): p. 875-80.
2. Bluher, M., *Adipokines - removing road blocks to obesity and diabetes therapy*. Mol Metab, 2014. **3**(3): p. 230-40.
3. Bluher, M., *Clinical relevance of adipokines*. Diabetes Metab J, 2012. **36**(5): p. 317-27.
4. Smas, C.M. and H.S. Sul, *Pref-1, a protein containing EGF-like repeats, inhibits adipocyte differentiation*. Cell, 1993. **73**(4): p. 725-34.
5. Wang, Y., et al., *Pref-1, a preadipocyte secreted factor that inhibits adipogenesis*. J Nutr, 2006. **136**(12): p. 2953-6.
6. Lee, K., et al., *Inhibition of adipogenesis and development of glucose intolerance by soluble preadipocyte factor-1 (Pref-1)*. J Clin Invest, 2003. **111**(4): p. 453-61.
7. Villena, J.A., et al., *Resistance to high-fat diet-induced obesity but exacerbated insulin resistance in mice overexpressing preadipocyte factor-1 (Pref-1): a new model of partial lipodystrophy*. Diabetes, 2008. **57**(12): p. 3258-66.
8. DeFronzo, R.A., J.D. Tobin, and R. Andres, *Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance*. Am J Physiol, 1979. **237**(3): p. E214-23.
9. Haluzik, M.M., et al., *Serum adipocyte fatty acid binding protein levels in patients with type 2 diabetes mellitus and obesity: the influence of fenofibrate treatment*. Physiol Res, 2009. **58**(1): p. 93-9.
10. de Zegher, F., et al., *Abundance of circulating preadipocyte factor 1 in early life*. Diabetes Care, 2012. **35**(4): p. 848-9.
11. Gustafson, B. and U. Smith, *Cytokines promote Wnt signaling and inflammation and impair the normal differentiation and lipid accumulation in 3T3-L1 preadipocytes*. J Biol Chem, 2006. **281**(14): p. 9507-16.
12. Tseng, Y.H., et al., *Prediction of preadipocyte differentiation by gene expression reveals role of insulin receptor substrates and necdin*. Nat Cell Biol, 2005. **7**(6): p. 601-11.

13. Gong, H., et al., *Resistin promotes 3T3-L1 preadipocyte differentiation*. Eur J Endocrinol, 2004. **150**(6): p. 885-92.
14. Gustafson, B. and U. Smith, *Activation of canonical wingless-type MMTV integration site family (Wnt) signaling in mature adipocytes increases beta-catenin levels and leads to cell dedifferentiation and insulin resistance*. J Biol Chem, 2010. **285**(18): p. 14031-41.
15. Shimomura, I., et al., *Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy*. Genes Dev, 1998. **12**(20): p. 3182-94.
16. Wang, M.Y., et al., *Adipogenic capacity and the susceptibility to type 2 diabetes and metabolic syndrome*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(16): p. 6139-44.
17. O'Connell, J., et al., *Preadipocyte factor-1 is associated with metabolic profile in severe obesity*. J Clin Endocrinol Metab, 2011. **96**(4): p. E680-4.
18. Moon, Y.S., et al., *Mice lacking paternally expressed Pref-1/Dkl1 display growth retardation and accelerated adiposity*. Mol Cell Biol, 2002. **22**(15): p. 5585-92.
19. Sul, H.S., et al., *Function of pref-1 as an inhibitor of adipocyte differentiation*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2000. **24 Suppl 4**: p. S15-9.
20. Masella, R., et al., *Oxidised LDL modulate adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes by affecting the balance between cell proliferation and differentiation*. FEBS Lett, 2006. **580**(10): p. 2421-9.
21. Yamanouchi, K., et al., *Increased adipogenicity of cells from regenerating skeletal muscle*. Exp Cell Res, 2006. **312**(15): p. 2701-11.
22. Guerre-Millo, M., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity*. J Biol Chem, 2000. **275**(22): p. 16638-42.
23. Cabrero, A., et al., *Bezafibrate reduces mRNA levels of adipocyte markers and increases fatty acid oxidation in primary culture of adipocytes*. Diabetes, 2001. **50**(8): p. 1883-90.

24. Zhou, Y.T., et al., *Reversing adipocyte differentiation: implications for treatment of obesity*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(5): p. 2391-5.
25. Whitelaw, D.C., J.M. Smith, and M. Nattrass, *Effects of gemfibrozil on insulin resistance to fat metabolism in subjects with type 2 diabetes and hypertriglyceridaemia*. Diabetes Obes Metab, 2002. **4**(3): p. 187-94.
26. Skrha, J., et al., [*Relation between hypertriacylglycerolemia and the action of insulin in type 2 diabetes mellitus*]. Cas Lek Cesk, 1994. **133**(16): p. 496-9.
27. Anderlova, K., et al., *Influence of PPAR-alpha agonist fenofibrate on insulin sensitivity and selected adipose tissue-derived hormones in obese women with type 2 diabetes*. Physiol Res, 2007. **56**(5): p. 579-86.
28. Baranowska, B., et al., *Neuropeptide Y, galanin, and leptin release in obese women and in women with anorexia nervosa*. Metabolism, 1997. **46**(12): p. 1384-9.
29. Stoving, R.K., et al., *A review of endocrine changes in anorexia nervosa*. J Psychiatr Res, 1999. **33**(2): p. 139-52.
30. Dostalova, I. and M. Haluzik, *The role of ghrelin in the regulation of food intake in patients with obesity and anorexia nervosa*. Physiol Res, 2009. **58**(2): p. 159-70.
31. Frisch, R.E. and J.W. McArthur, *Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset*. Science, 1974. **185**(4155): p. 949-51.
32. Grinspoon, S., et al., *Serum leptin levels in women with anorexia nervosa*. J Clin Endocrinol Metab, 1996. **81**(11): p. 3861-3.
33. Dolezalova, R., et al., *Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: comparison of circulating levels versus subcutaneous mRNA expression*. Clin Endocrinol (Oxf), 2007. **67**(5): p. 674-8.
34. Sul, H.S., *Minireview: Pref-1: role in adipogenesis and mesenchymal cell fate*. Mol Endocrinol, 2009. **23**(11): p. 1717-25.
35. Fazeli, P.K., et al., *Preadipocyte factor-1 is associated with marrow adiposity and bone mineral density in women with*

- anorexia nervosa*. J Clin Endocrinol Metab, 2010. **95**(1): p. 407-13.
36. Wolfrum, C., et al., *Role of Foxa-2 in adipocyte metabolism and differentiation*. J Clin Invest, 2003. **112**(3): p. 345-56.
37. Kim, K.A., et al., *Pref-1 (preadipocyte factor 1) activates the MEK/extracellular signal-regulated kinase pathway to inhibit adipocyte differentiation*. Mol Cell Biol, 2007. **27**(6): p. 2294-308.

9. TABULKY A GRAFY

Tabulka 1: Antropometrické, biochemické a hormonální charakteristiky kontrolní skupiny zdravých, štíhlých žen, obézních žen bez DM2T nebo obézních s DM2T.

Skupina	Kontrolní	Obézní	DM2T
Počet subjektů	22	19	22
Věk (roky)	45,6 ± 2,5	47,8 ± 3,1	54,2 ± 1,8
BMI (kg/m ²)	23,2 ± 0,4	48,2 ± 2,3**	44,3 ± 2,5**°
Glykémie (mmol/l)	4,47 ± 0,16	5,14 ± 0,22**	9,49 ± 0,75**°
HbA1c (%)	3,69 ± 0,09	4,13 ± 0,18	8,30 ± 1,04**°
Cholesterol (mmol/l)	5,03 ± 0,14	4,82 ± 0,25	4,85 ± 0,20
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,51 ± 0,07	1,21 ± 0,06**	0,94±0,04**°
LDL-cholesterol (mmol/l)	3,06 ± 0,15	2,94 ± 0,20	2,71 ± 0,20
Triglyceridy (mmol/l)	1,03 ± 0,11	1,50 ± 0,10**	3,22 ± 0,83**°
Inzulín (mIU/l)	13,7 ± 1,5	27,3 ± 3,8**	51,8 ± 10,8**°
HOMA index	2,83 ± 0,34	6,46 ± 0,98**	20,46 ± 3,49**°
Leptin (ng/ml)	13,5 ± 1,7	50,7 ± 3,8**	43,5 ± 5,3**
Adiponektin (µg/ml)	23,6 ± 2,2	17,2 ± 2,3*	16,2 ± 2,0*
Resistin (ng/ml)	7,11 ± 0,73	7,30 ± 0,56	7,48 ± 1,51
CRP (mg/l)	5,3 ± 0,8	14,2 ± 2,2**	13,2 ± 3,5**
FABP-4 (ng/ml)	18,0 ± 3,16	77,8 ± 17,0**	106,6 ± 11,6**
MIC-1 (ng/ml)	336 ± 30	627 ± 83**	1211 ± 216**

Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry ± S.E.M. Statistická signifikance je vypočítána pomocí ANOVA on ranks a nepárovým t-testem nebo Mann-Whitney testem.

*p<0,05 vs. kontrolní skupina

** p<0,01 vs. kontrolní skupina

° p<0,01 T2DM vs. obézní

Tabulka 2: Antropometrické, biochemické a hormonální charakteristiky kontrolní skupiny zdravých, štíhlých žen, obézních žen bez DM2T před (obézní 1) a po (obézní 2) 3 týdenní VLCD.

Skupina	Kontrolní	Obézní	
		Obézní 1	Obézní 2
Počet subjektů	22	19	19
BMI (kg/m ²)	23,2 ± 0,4	48,2 ± 2,3**	45,7 ± 2,0**°
Glykémie (mmol/l)	4,47 ± 0,16	5,14 ± 0,22**	5,09 ± 0,25*
HbA1c (%)	3,69 ± 0,09	4,13 ± 0,18	----
Cholesterol (mmol/l)	5,03 ± 0,14	4,82 ± 0,25	4,16 ± 0,34**°
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,51 ± 0,07	1,21 ± 0,06**	1,05 ± 0,06**
LDL-cholesterol (mmol/l)	3,06 ± 0,15	2,94 ± 0,20	2,31 ± 0,22**°
Triglyceridy (mmol/l)	1,03 ± 0,11	1,50 ± 0,10*	1,58 ± 0,29*
Inzulín (mIU/l)	13,7 ± 1,5	27,3 ± 3,8**	26,3 ± 2,8**
HOMA index	2,83 ± 0,34	6,46 ± 0,98**	5,68 ± 0,67**
Leptin (ng/ml)	13,5 ± 1,7	50,7 ± 3,8**	45,7 ± 5,0**
Adiponektin (μg/ml)	23,6 ± 2,2	17,2 ± 2,3*	18,7 ± 2,3
Resistin (ng/ml)	7,11 ± 0,73	7,30 ± 0,56	6,16 ± 0,40°
CRP (mg/l)	5,3 ± 0,8	14,2 ± 2,2**	5,8 ± 1,3°
FABP-4 (ng/ml)	18,0 ± 3,16	77,8 ± 17,0**	114,3 ± 1,3**
MIC-1 (ng/ml)	336 ± 30	627 ± 83**	749 ± 123**

Hodnoty jsou zobrazeny jako průměry ± S.E.M. Statistická signifikance je vypočítána pomocí one-way ANOVA a párového t-testu.

*p<0,05 obézní vs. kontrolní skupina, ** p<0,01 obézní vs. kontrolní skupina, ° p<0,05 obézní 1 vs. obézní 2

Tabulka 3: Antropometrické, biochemické a hormonální charakteristiky kontrolní skupiny zdravých, štíhlých žen a obézních žen s DM2T před (DM2T 1) a po (DM2T 2) 3 týdenní VLCD.

Skupina	Kontrolní skupina	DM2T	
		DM2T 1	DM2T 2
Počet subjektů	22	12	12
BMI (kg/m ²)	23,2 ± 0,4	50,9 ± 2,9**	47,4 ± 2,7**°
Glykémie (mmol/l)	4,47 ± 0,16	10,48 ± 1,1**	7,43 ± 0,80**°
HbA1c (%)	3,69 ± 0,09	8,30 ± 1,04**	----
Cholesterol (mmol/l)	5,03 ± 0,14	4,7 ± 0,25	3,76 ± 0,24**°
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,51 ± 0,07	0,94 ± 0,05**	0,84 ± 0,04**
LDL-cholesterol (mmol/l)	3,06 ± 0,15	2,71 ± 0,20	2,10 ± 0,27
Triglyceridy (mmol/l)	1,03 ± 0,11	3,43 ± 1,45**	2,32 ± 0,68**
Inzulín (mIU/l)	13,7 ± 1,5	55,7 ± 16,8**	31,4 ± 5,2**°
HOMA index	2,83 ± 0,34	22,51 ± 5,32**	9,68 ± 1,44**°
Leptin (ng/ml)	13,5 ± 1,7	52,7 ± 7,7**	45,2 ± 7,0**°
Adiponektin (µg/ml)	23,6 ± 2,2	16,2 ± 2,7	15,5 ± 2,4
Resistin (ng/ml)	7,11 ± 0,73	7,48 ± 1,51	6,81 ± 0,90
CRP (mg/l)	5,3 ± 0,8	13,2 ± 3,5**	7,1 ± 2,4°
FABP-4 (ng/ml)	18,0 ± 3,2	106,6 ± 11,6**	180,7 ± 45,6**
MIC-1 (ng/ml)	336 ± 30	1211 ± 216**	1654 ± 288**

Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry ± S.E.M. Statistická signifikance je vypočítána pomocí one-way ANOVA a párového t-testu.

*p<0,05 kontrolní skupina vs. DM2T 1, ** p<0,01 kontrolní skupina vs. DM2T 1, ° p<0,05 DM2T 1 vs. DM2T 2

Tabulka 4: Antropometrické, biochemické a hormonální charakteristiky kontrolní skupiny zdravých, štíhlých žen a obézních žen s DM2T před (DM2T baseline) a po tříměsíční léčbě PPAR- α agonistou – fenofibrátem (DM2T fenofibrát).

Skupina	Kontrolní skupina	DM 2T	
		Baseline	Fenofibrát
Počet subjektů	10	11	11
BMI (kg/m ²)	23,7 ± 0,8	36,7 ± 2,9*	36,5 ± 2,7*
glykémie (mmol/l)	4,97 ± 0,19	8,48 ± 0,68*	9,43 ± 0,84* ^o
Glykovaný hemoglobin (%)	38,1 ± 0,8	57,7 ± 5,6*	61,0 ± 5,8* ^o
Cholesterol (mmol/l)	5,39 ± 0,24	5,22 ± 0,32	5,09 ± 0,25
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,55 ± 0,28	1,17 ± 0,11*	1,20 ± 0,11*
Triglyceridy (mmol/l)	0,98 ± 0,12	2,96 ± 0,39*	2,17 ± 0,24* ^o
Inzulín (mIU/l)	23,0 ± 2,9	44,2 ± 7,1*	47,5 ± 8,0*
HOMA index	5,08 ± 0,56	16,66 ± 0,21*	20,12 ± 0,30* ^o
Adiponektin (μg/ml)	22,41 ± 1,82	17,46 ± 4,04	16,53 ± 2,56
Leptin (ng/ml)	11,7 ± 2,68	32,25 ± 3,41*	NA
Aterogenní index	1,88 ± 0,09	3,17 ± 0,37*	3,02 ± 0,75*

Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry ± S.E.M. Statistická signifikance je vypočítána pomocí one-way ANOVA a párového t-testu.

*p<0,05 vs. kontrolní skupina, ^o p<0,05 vs. DM2T baseline

Tabulka 5: Vztah cirkulujících hladin Pref-1 s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry v kombinované populaci zdravých, štíhlých žen a obézních žen s diabetes mellitus 2. typu.

	R	p
BMI (kg/m²)		NS
Glykémie (mmol/l)	0,348	0,01
Celkový cholesterol (mmol/l)		NS
Triglyceridy (mmol/l)		NS
Inzulín (mIU/l)	0,39	0,004
HOMA-index	0,426	0,002
Leptin (ng/ml)	0,384	0,003
Adiponektin (µg/ml)		NS

Statistická signifikance je vypočítána pomocí Spearmanova nebo Pearsonova korelačního testu, NS = nesignifikantní

Tabulka 6: Antropometrická, hormonální a biochemická charakteristika kontrolní skupiny zdravých žen a pacientek s mentální anorexií před a po parciální realimentaci.

	Kontrolní skupina (n=16)	AN před realimentací (n=18)	AN po realimentaci (n=18)
Věk (roky)	22,69 ± 0,76	24,39 ± 1,21	24,39 ± 1,21
Tělesná hmotnost (kg)	64,23 ± 1,91	42,59 ± 0,98 ^a	47,63 ± 0,91 ^{a, b}
Body mass index (kg/m²)	21,80 ± 0,51	15,58 ± 0,28 ^a	17,44 ± 0,24 ^{a, b}
Obsah tělesného tuku (bodystat) (%)	20,07 ± 1,4	10,31 ± 1,8 ^a	13,3 ± 1,32 ^{a, b}
Obsah tělesného tuku (DEXA) (%)	26,19 ± 1,52	14,86 ± 1,58 ^a	18,71 ± 1,41 ^{a, b}
Klidový energetický výdej (kcal/day)	1405,75 ± 30,63	1055,44 ± 35,81 ^a	1166,00 ± 24,02 ^{a, b}
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,32 ± 0,19	7,64 ± 3,10	5,18 ± 0,24 ^a
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,76 ± 0,09	1,57 ± 0,10	1,63 ± 0,1
LDL-cholesterol (mmol/l)	2,15 ± 0,13	2,37 ± 0,17	2,9 ± 0,20 ^a
Triglyceridy (mmol/l)	0,91 ± 0,12	1,52 ± 0,16 ^a	1,46 ± 0,17 ^a
Glykémie (mmol/l)	4,38 ± 0,08	3,97 ± 0,07 ^a	4,26 ± 0,08 ^b
Inzulín (μUI/ml)	19,29 ± 1,12	15,79 ± 0,75 ^a	16,1 ± 0,95 ^{a, b}
TSH (mIU)	2,25 ± 0,27	1,45 ± 0,21 ^a	-
Volný T4 (mIU)	14,19 ± 0,50	12,35 ± 0,51 ^a	-
Leptin (ng/ml)	11,8 ± 1,78	0,97 ± 0,23 ^a	2,62 ± 0,66 ^{a, b}
Celková bílkovina (g/l)	78,4 ± 1,28	69,66 ± 1,84 ^a	75,26 ± 0,97 ^b

	Kontrolní skupina (n=16)	AN před realimentací (n=18)	AN po realimentaci (n=18)
Albumin (g/l)	46,36 ± 0,99	44,23 ± 1,03	47,32 ± 0,66 ^b
Celková BMD (g/cm²)	1,08 ± 0,02	1,05 ± 0,02	1,04 ± 0,02 ^a
BMD femorální (g/cm²)	0,96 ± 0,02	0,78 ± 0,03 ^a	-
BMD lumbální (g/cm²)	0,99 ± 0,03	0,86 ± 0,03 ^a	-

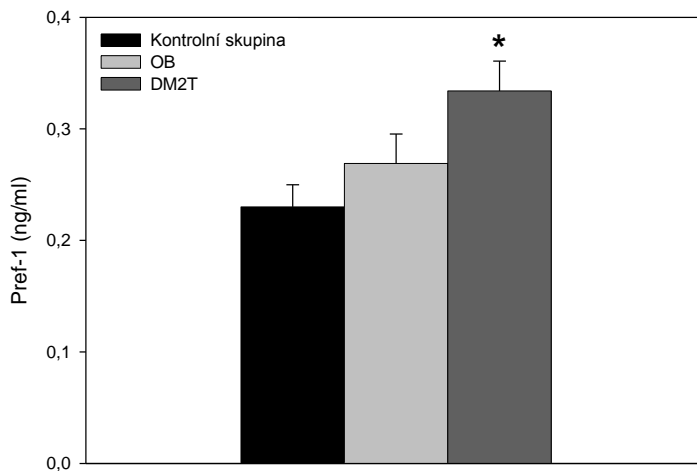
Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± S.E.M. Statistická signifikance je vypočítána pomocí nepárového nebo párového t-testu nebo Mann-Whitneyova testu.

^a P < 0,05 vs. kontrolní skupina žen,

^b P < 0,05 vs. anorexia nervosa před částečnou realimentací

Obrázek 1: Sérové koncentrace Pref-1 u kontrolní skupiny (černý sloupec, n = 22), obézní skupiny bez diabetu (světle šedivý sloupec, n = 19) a obézní skupiny s diabetem (tmavě šedivý sloupec, n = 22).

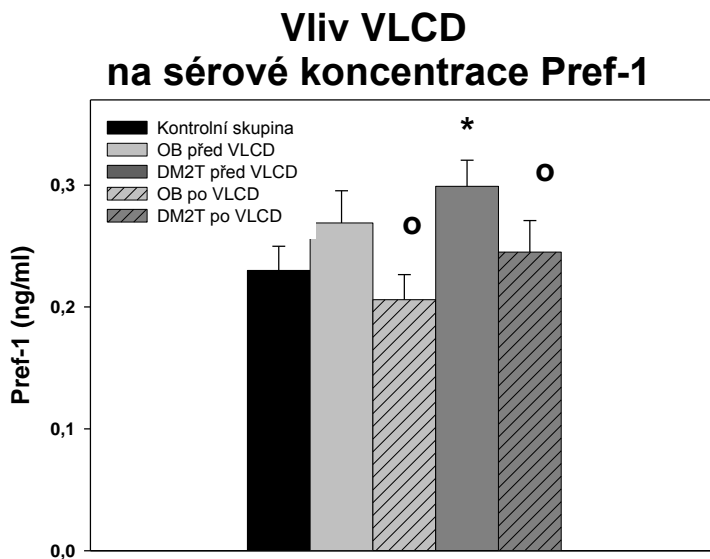
Sérová koncentrace Pref-1



Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry \pm S.E.M. Statistická signifikance je vypočítána pomocí ANOVA on ranks.

* $p < 0,05$ vs. kontrolní skupina.

Obrázek 2: Sérové koncentrace Pref-1 u kontrolní skupiny, obézní skupiny před VLCD a po 3 týdenní VLCD, skupiny s diabetem před VLCD a po 3 týdenní VLCD.

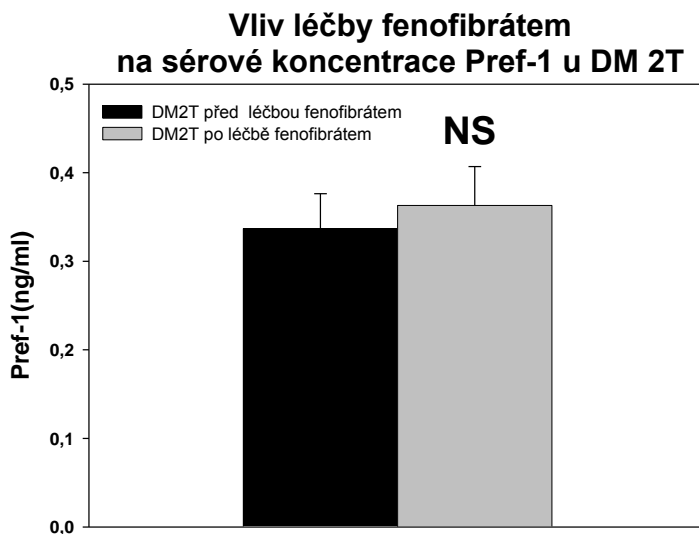


Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry \pm S.E.M. Statistická signifikance je vypočítána ANOVA (obézní, DM2T vs. kontrolní skupina nebo párového t-testu (obézní před VLCD vs. obézní po VLCD resp. DM2T před VLCD a DM2T po VLCD).

* $p < 0,05$ DM2T vs. kontrolní skupina,

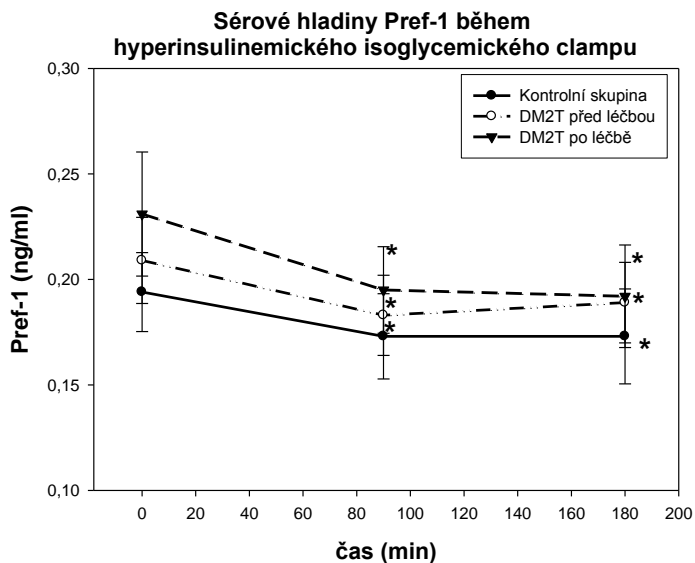
° $p < 0,05$ DM2T po VLCD nebo obézní po VLCD vs. DM2T nebo obézní před VLCD.

Obrázek 3: Vliv tříměsíční léčby fenofibrátem na sérové koncentrace Pref-1 u skupiny pacientů s diabetes mellitus 2. typu.



Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry \pm S.E.M.

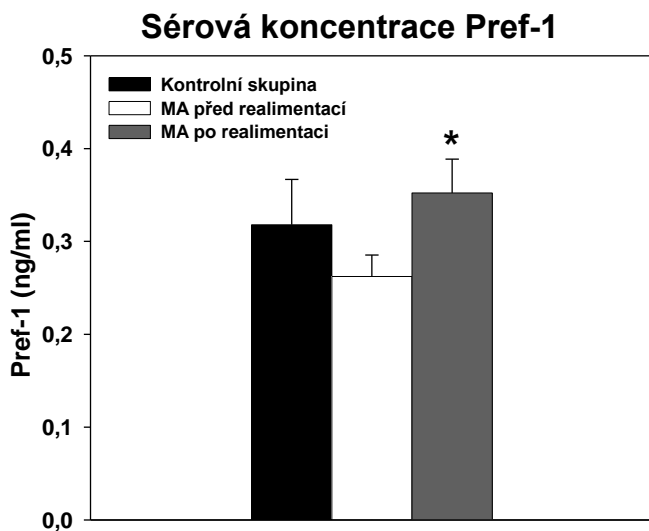
Obrázek 4: Relativní změny koncentrace Pref-1 během hyperinzulinemického isoglykemického clampu u kontrolní skupiny zdravých žen (černá kolečka), obézních žen s DM2T před (prázdné kolečka) a po 3 měsících léčby PPAR- α agonistou fenofibrátem (černé trojúhelníky).



Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry \pm S.E.M. Statistická signifikance byla vypočítána pomocí RM ANOVA.

* $p < 0,05$ vs. baseline příslušné skupiny

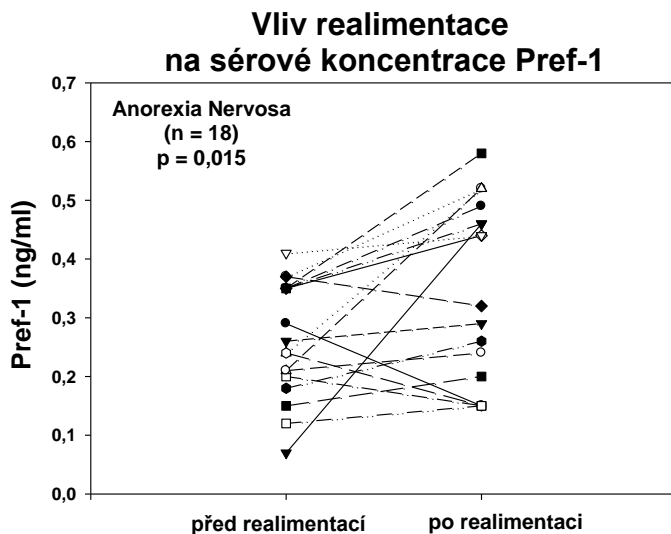
Obrázek 5: Sérová koncentrace Pref-1 u kontrolní skupiny (černý sloupec) a u pacientek s mentální anorexií před (bílý sloupec) a po částečné realimentaci (šedivý sloupec).



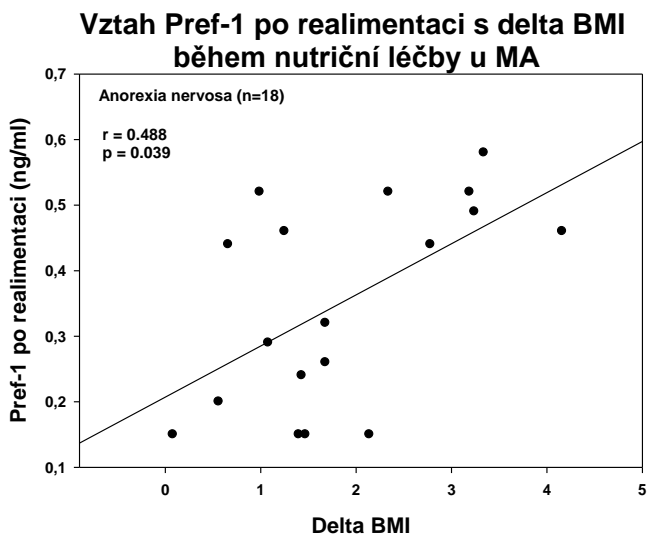
Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry \pm S.E.M. Statistická signifikance byla vypočítána nepárovým nebo párovým t-testem nebo Mann-Whitney testem.

* $p < 0,05$ vs. anorexia nervosa před částečnou realimentací

Obrázek 6: Vliv částečné realimentace na sérové koncentrace Pref-1 zobrazeno individuálně u jednotlivých pacientek s mentální anorexií.



Obrázek 7: Vztah sérových koncentrací Pref-1 po částečné realimentaci a změnou BMI během nutriční léčby u pacientek s MA.



Statistická signifikance byla vypočítána pomocí Spearmanovy korelace.

10. SEZNAM PUBLIKACÍ

1. publikace, které jsou podkladem disertace

a) s impact faktorem

- **Preadipocyte factor-1 concentrations in patients with anorexia nervosa: the influence of partial realimentation.**
Kaválková P, Dostálová I, Haluzíková D, Trachta P, Hanušová V, Lacinová Z, Papežová H, Domluvilová D, Zikán V, Haluzík M.
Physiol Res. 2012;61(2):153-9. Epub 2012 Jan 31. - **IF 1,53**
- **Serum Preadipocyte Factor-1 Concentrations in Females with Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus: The Influence of Very Low Calorie Diet, Acute Hyperinsulinemia, and Fenofibrate Treatment.**
Kavalkova P, Touskova V, Roubicek T, Trachta P, Urbanova M, Drapalova J, Haluzikova D, Mraz M, Novak D, Matoulek M, Lacinova Z, Haluzik M.
Horm Metab Res. 2013 Aug 26. [Epub ahead of print]
PMID:23979788 - **IF 2,04**

b) bez impact factoru

- **Endokrinní funkce tukové tkáně: co je nového?**
Petra Kaválková, Denisa Haluzíková, Martin Haluzík
DMEV č. 4/2010

2. publikace bez vztahu k tématu disertace

a) s impact faktorem

- **Plasma concentrations of fibroblast growth factors 19 and 21 in patients with anorexia nervosa.**
Dostálová I, Kaválková P, Haluzíková D, Lacinová Z, Mráz M, Papežová H, Haluzík M.
J Clin Endocrinol Metab. 2008 Sep;93(9):3627-32. doi:
10.1210/jc.2008-0746. Epub 2008 Jun 17. PMID: 18559909. – **IF 6,3**

- **Serum concentrations of adipocyte fatty acid binding protein in patients with anorexia nervosa.**
Haluzíková D, Dostálová I, Kaválková P, Roubíček T, Mráz M, Papezová H, Haluzík M.
Physiol Res. 2009;58(4):577-81. Epub 2008 Jul 25.PMID: 18657008 – **IF 1,6**
- **The use of microdialysis to characterize the endocrine production of human subcutaneous adipose tissue in vivo.**
Dostálová I, Kaválková P, Haluzíková D, Housová J, Matoulek M, Haluzík M.
Regul Pept. 2009 Jun 5;155(1-3):156-62. doi: 10.1016/j.regpep.2009.03.008. Epub 2009 Mar 27.PMID:19328826 . – **IF 1,83**
- **Increased serum concentrations of macrophage inhibitory cytokine-1 in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of very low calorie diet.**
Dostálová I, Roubíček T, Bártlová M, Mráz M, Lacinová Z, Haluzíková D, Kaválková P, Matoulek M, Kasalický M, Haluzík M. Eur J Endocrinol. 2009 Sep;161(3):397-404. Epub 2009 Jun 10 – **IF 2,42**
- **Plasma concentrations of fibroblast growth factors 21 and 19 in patients with Cushing's syndrome.**
Durovcová V, Marek J, Hána V, Matoulek M, Zikán V, Haluzíková D, Kaválková P, Lacinová Z, Krsek M, Haluzík M.Physiol Res. 2010;59(3):415-22. Epub 2009 Aug 12 – **IF 1,65**
- **Association of macrophage inhibitory cytokine-1 with nutritional status, body composition and bone mineral density in patients with anorexia nervosa: the influence of partial realimentation.**
Dostálová I, Kaválková P, Papezová H, Domluvilová D, Zikán V, Haluzík M. Nutr Metab (Lond). 2010 Apr 23;7:34. – **IF 0,61**
- **Plasma concentrations of adipocyte fatty acid binding protein in patients with Cushing's syndrome.**
Durovcová V, Marek J, Hána V, Matoulek M, Zikán V, Haluzíková D, Kaválková P, Lacinová Z, Kršek M, Haluzík M.Physiol Res. 2010 Jun 9. – **IF 1,65**

- The effect of very-low-calorie diet on mRNA expression of inflammation-related genes in subcutaneous adipose tissue and peripheral monocytes of obese patients with type 2 diabetes mellitus**

Mraz M, Lacinova Z, Drapalova J, Haluzikova D, Horinek A, Matoulek M, Trachta P, Kavalkova P, Svacina S, Haluzik M. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Apr;96(4):E606-13. Epub 2011 Feb 2. – **IF 6,5**
- Serum concentrations of fibroblast growth factor 19 in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of acute hyperinsulinemia, very-low calorie diet and PPAR-alpha agonist treatment**

Mraz M, Lacinova Z, Kavalkova P, Haluzikova D, Trachta P, Drapalova J, Hanusova V, Haluzik M. *Physiol Res.* 2011 May 16 – **IF 1,56**
- Serum concentrations and tissue expression of components of insulin-like growth factor-axis in females with type 2 diabetes mellitus and obesity: The influence of very-low-calorie diet.**

Touskova V, Trachta P, Kavalkova P, Drapalova J, Haluzikova D, Mraz M, Lacinova Z, Marek J, Haluzik M. *Mol Cell Endocrinol.* 2012 Sep 25;361(1-2):172-8. Epub 2012 Apr 24. – **IF 4,75**
- Laparoscopic sleeve gastrectomy differentially affects serum concentrations of FGF-19 and FGF-21 in morbidly obese subjects.**

Haluziková D, Lacinová Z, Kaválová P, Drápalová J, Křížová J, Bártlová M, Mráz M, Petr T, Vitek L, Kasalický M, Haluzík M. *Obesity (Silver Spring).* 2013 Jul;21(7):1335-42. doi: 10.1002/oby.20208. Epub 2013 May 13. PMID: 23670968 – **IF 4,39**
- Changes in energy metabolism in pheochromocytoma.**

Petrák O, Haluzikova D, Kaválová P, Štrauch B, Rosa J, Holaj R, Brabcová Vránková A, Michalsky D, Haluzík M, Zelinka T, Widimsky J Jr. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Apr;98(4):1651-8. doi: 10.1210/jc.2012-3625. Epub 2013 Feb 22. PMID: 23436923 – **IF 6,31**
- Laparoscopic sleeve gastrectomy ameliorates mRNA expression of inflammation-related genes in subcutaneous**

adipose tissue but not in peripheral monocytes of obese patients.

Trachta P, Dostálová I, Haluzíková D, Kasalický M, Kaválková P, Drápalová J, Urbanová M, Lacinová Z, Mráz M, Haluzík M. Mol Cell Endocrinol. 2014 Mar 5;383(1-2):96-102. doi: 10.1016/j.mce.2013.11.013. Epub 2013 Nov 27. PMID:24291610 – **IF 4,24**

- **Serum concentrations and subcutaneous adipose tissue mRNA expression of omentin in morbid obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of very-low-calorie diet, physical activity and laparoscopic sleeve gastrectomy.**

Urbanová M, Dostálová I, Trachta P, Drápalová J, Kaválková P, Haluzíková D, Matoulek M, Lacinová Z, Mráz M, Kasalický M, Haluzík M. Physiol Res. 2014;63(2):207-18. Epub 2014 Jan 8. PMID: 24397804 – **IF 1,29**

- **Three months of regular aerobic exercise in patients with obesity improve systemic subclinical inflammation without major influence on blood pressure and endocrine production of subcutaneous fat.**

Trachta P, Drápalová J, Kaválková P, Toušková V, Cinkajzlóvá A, Lacinová Z, Matoulek M, Zelinka T, Widimský J Jr, Mráz M, Haluzík M. Physiol Res. 2014;63 Suppl 2:S299-308. PMID: 24908236 – **IF 1,29**

- **No change in serum incretins levels but rise of leptin levels after smoking cessation: a pilot study.**

Pankova A, Kralikova E, Kavalkova P, Stepankova L, Zvolaska K, Haluzik M. Physiol Res. 2016 Mar 15. [Epub ahead of print] PMID: 26988157 – **IF 1,29**

b) Bez impact factoru

- **The influence of 6-months treatment with exenatide on type 2 diabetes mellitus compensation, anthropometric and biochemical parameters**

Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Kaválková P, Haluzíková D, Trachta P, Housová J, Matoulek M, Svacina S, Haluzík M. Vnitř Lek. 2010 Jan;56(1):15-20. Czech.