

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



**ÚLOHA TUKOVÉ TKÁNĚ PŘI ROZVOJI  
ENDOTELIÁLNÍ DYSFUNKCE, ATEROSKLERÓZY A  
DALŠÍCH KOMPLIKACÍ METABOLICKÉHO  
SYNDROMU:  
VLIV DIETNÍCH A FARMAKOLOGICKÝCH  
INTERVENČÍ**

**AUTOREFERÁT DOKTORSKÉ DIZERTAČNÍ PRÁCE**

**MUDr. Radka Doležalová**

**Praha 2010**

## **Doktorské studijní programy v biomedicíně**

*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 VFN a 1. LF UK

**Autor:** MUDr. Radka Doležalová

**Školitel:** prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

**Oponenti:**

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

Autoreferát byl rozeslán dne: .....

Obhajoba se koná dne: ..... v ..... hod.  
kde .....  
.....

S dizertací je možno se seznámit na děkanátě 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

## **OBSAH**

<b>1. Úvod</b>	<b>5</b>
<b>2. Cíle práce</b>	<b>6</b>
<b>3. Vlastní výsledky</b>	<b>7</b>
<b>3.1. Vliv terapie PPAR-<math>\gamma</math> agonisty na markery endoteliální dysfunkce u pacientů s DM 2. typu</b>	<b>7</b>
3.1.1. Cíl práce	7
3.1.2. Metodika	7
3.1.3. Výsledky	8
3.1.4. Závěr	11
<b>3.2. Změny endokrinní funkce tukové tkáně u pacientek s mentální anorexií: srovnání koncentrací cirkulujících adipokinů a jejich exprese v subkutánní tukové tkáni</b>	<b>11</b>
3.2.1. Cíl práce	11
3.2.2. Metodika	11
3.2.3. Výsledky	14
3.2.4. Závěr	16
<b>4. Diskuze</b>	<b>17</b>
<b>5. Závěr</b>	<b>25</b>
<b>6. Summary</b>	<b>28</b>
<b>7. Použitá literatura</b>	<b>31</b>
<b>8. Seznam vlastních publikací</b>	<b>36</b>

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BMI – body mass index

CD68 – Cluster of Differentiation 68

CRP – C-reaktivní protein

DM – diabetes mellitus

DNA – deoxyribonukleová kyselina

ELISA – Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

HDL – lipoproteiny s vysokou hustotou

HOMA – homeostasis model assessment

IL-6 – interleukin-6

LDL – lipoproteiny s nízkou denzitou

MA – mentální anorexie

MMP-9 – matrixová metaloproteináza-9

MPO – myeloperoxidáza

mRNA – „messenger“ ribonukleová kyselina

PAI-1 – inhibitor aktivátoru plazminogenu -1

PPAR – receptory aktivované peroxizomovými proliferátory

SEM – střední chyba průměru

sICAM-1 – solubilní intercelulární cytoadhezivní molekula-1

sVCAM-1 – solubilní vaskulární cytoadhezivní molekula-1

## 1. ÚVOD

Obezita, charakterizovaná akumulací intraabdominálního viscerálního tuku, je jedním z nejdůležitějších rizikových faktorů pro vznik kardiovaskulárních onemocnění. Její prevalence má celosvětově a zejména pak ve vyspělých zemích vzrůstající tendenci a stává se tak zásadním zdravotním i psychosociálním problémem. Častý společný výskyt obezity, arteriální hypertenze, inzulinové rezistence, dyslipidémie, poruchy fibrinolýzy a dalších odchylek je označován jako metabolický syndrom (synonyma např. Reavenův syndrom, syndrom X, syndrom inzulinové rezistence) (Reaven 2002). Předpokládá se společný etiopatogenetický mechanismus jednotlivých složek metabolického syndromu. Za hlavní pojítka mezi viscerální obezitou a ostatními složkami tohoto syndromu je považována inzulinová rezistence (Reaven 1988), nicméně v současnosti směřuje značná pozornost k problematice chronického systémového zánětu jako důležité součásti patofyziologických změn doprovázejících toto onemocnění (Festa et al. 2000). Hladiny četných markerů zánětu výrazně korelují se stupněm obezity i inzulinové rezistence (Pickup & Crook 1998) a mají též vysokou prediktivní hodnotu pro stanovování rizika vzniku kardiovaskulárního onemocnění (Rader 2000).

Bílá tuková tkáň secernuje řadu hormonů a cytokinů, jejichž nadprodukce spojená se zvýšeným množstvím tukové tkáně ovlivňuje energetickou rovnováhu, imunitní systém, inzulinovou senzitivitu, angiogenezi, krevní tlak, lipidový metabolismus a hemostázu (Ronti et al. 2006). Jedním ze zvažovaných mechanismů uplatňujících se společně při rozvoji metabolického syndromu a procesu aterosklerózy je právě porušená metabolická a endokrinní funkce tukové tkáně. K akceleraci aterogeneze dochází v důsledku poškozování endotelu velkých a středních arterií chronickým subklinickým zánětem v kombinaci s hyperkoagulabilitou,

porušenou fibrinolýzou, oxidačním stresem, hyperglykemií a pronikáním lipoproteinových částic subendoteliálně s následnou tvorbou aterosklerotického plátu. K negativnímu ovlivnění cévního systému přispívá různými mechanismy i inzulinová rezistence a kompenzační hyperinzulinémie (Svačina 2007). Lze usuzovat, že snaha o zlepšení metabolické a endokrinní funkce tukové tkáně může být jedním z terapeutických přístupů v prevenci rozvoje aterosklerózy u pacientů s metabolickým syndromem.

## 2. CÍLE PRÁCE

- posoudit úlohu tukové tkáně jako endokrinního orgánu ve vztahu k některým složkám metabolického syndromu a k procesu aterosklerózy a zkoumat princip zánětlivých dějů v tukové tkáni u obezity
- popsat změny, ke kterým dochází v tukové tkáni při její nadměrné akumulaci či naopak při významné redukci jejího množství u stavů snížené nutrice (na modelu mentální anorexie) a posoudit modulační vliv buněk monocytomakrofágového systému na funkci tukové tkáně za těchto stavů
- popsat způsob, jakým se jednotlivé adipokiny účastní ovlivnění funkce endotelu a posoudit, do jaké míry se podílejí na „komunikaci“ mezi adipocyty a dalšími buněčnými populacemi či mezi různými metabolickými systémy ve vztahu k procesu aterosklerózy
- popsat vliv terapie PPAR- $\gamma$  agonisty na vybrané metabolické parametry a funkci endotelu a posoudit úlohu změn endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu

### **3. VLASTNÍ VÝSLEDKY**

#### **3.1. Vliv terapie PPAR- $\gamma$ agonisty na markery endoteliální dysfunkce u pacientů s DM 2. typu**

##### **3.1.1. Cíl práce:**

Thiazolidindiony využívané jako inzulinové senzitivizéry vykazují též významné antiaterogenní a protizánětlivé účinky a hrají tak významnou úlohu v ovlivnění procesu aterosogeneze. Cílem studie bylo popsat efekt 5 měsíční terapie PPAR- $\gamma$  agonisty (rosiglitazon v dávce 4mg/den) na vybrané metabolické parametry a markery endoteliální dysfunkce u pacientů s DM 2. typu a posoudit úlohu změn endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu.

##### **3.1.2. Metodika:**

###### *Soubor vyšetřovaných osob*

Do studie bylo zařazeno deset pacientek s DM 2. typu (doba trvání  $6,3 \pm 1,8$  let) a deset zdravých žen odpovídajícího věku. Pacientky s DM byly minimálně 6 měsíců před zahájením studie léčeny metforminem v monoterapii. Čtyřem z nich byl dlouhodobě podáván statin, dalším čtyřem fibrát. Před zařazením do studie pacientky podepsaly informovaný souhlas.

###### *Protokol studie*

Pacientkám s DM byl podáván rosiglitazon v dávce 4mg/den po dobu 5 měsíců ( $148 \pm 5,3$  dnů). Vyšetření pacientek proběhlo před zahájením terapie a po 5 měsících léčby. Kontrolní subjekty byly vyšetřeny pouze jednou a nebyla jim nasazena žádná medikace.

###### *Hodnocení antropometrických, biochemických a hormonálních parametrů*

U všech vyšetřovaných subjektů byla změřena výška, tělesná hmotnost a vypočítán BMI. Odběry krevních vzorků byly provedeny za standardních podmínek po celonočním lačnění mezi 7 a 8 hodinou ranní.

Základní biochemické parametry (lipoproteinové spektrum, glykémie, glykovaný hemoglobin) byly stanoveny standardními laboratorními metodami. Sérové koncentrace E-selektinu, solubilního VCAM-1 (sVCAM-1), solubilního ICAM-1 (sICAM-1), matrix metaloproteinázy-9 (MMP-9), myeloperoxidázy (MPO) a inhibitoru 1 aktivátoru plazminogenu (PAI-1) byly měřeny komerčními LINCOpex kity (Linco Research, St Charles, USA). Sérové koncentrace adiponektinu byly měřeny komerčními ELISA kity (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA). Sérové koncentrace rezistinu byly měřeny komerčními ELISA kity (BioVendor, Česká republika).

#### *Statistická analýza*

Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí programu SigmaStat (Jandel Scientific, USA). Jednotlivé parametry byly vyjádřeny jako průměr  $\pm$  střední chyba průměru (SEM). K porovnání výsledků u diabetických pacientů před a po léčbě rosiglitazonem byl použit párový t-test. Vzájemné srovnání dat diabetických pacientů a kontrolních subjektů bylo provedeno pomocí jednocestné analýzy variance (One-Way- ANOVA). Závislost mezi adipocytárními hormony a markery endoteliální dysfunkce byla hodnocena Spearmanovým korelačním koeficientem.

### **3.1.3. Výsledky:**

#### *Antropometrické a biochemické parametry*

BMI bylo bazálně i po léčbě rosiglitazonem signifikantně vyšší ve skupině pacientek s DM ve srovnání s kontrolní skupinou. Sérové koncentrace glukózy a glykovaného hemoglobinu byly bazálně vyšší ve skupině pacientek s DM ve srovnání s kontrolní skupinou. Terapie rosiglitazonem vedla k signifikantnímu poklesu koncentrací glukózy, stejně tak byl patrný pokles HbA<sub>1c</sub>, výsledek však nedosáhl statistické významnosti. Sérové koncentrace celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu



a HDL-cholesterolu byly před léčbou signifikantně nižší ve skupině pacientek s DM. Tyto parametry nebyly terapií rosiglitazonem ovlivněny. Výška systolického ani diastolického krevního tlaku nebyla ovlivněna terapií rosiglitazonem.

#### Základní antropometrické a biochemické parametry sledovaných souborů

	Kontrolní skupina (n=10)	DM 1 (n=10)	DM 2 (n=10)
Věk	54,9 ± 1,3	63,3 ± 2,7*	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25 ± 1,1	29,9 ± 1,2*	29,8 ± 1,2*
CRP (mg/l)	1,6 ± 0,6	3,7 ± 1,2	2,5 ± 0,6
Glykémie (mmol/l)	4,7 ± 0,3	8,9 ± 0,6**	7,2 ± 0,4**°
HbA1c (%)	4,0 ± 0,1	5,4 ± 0,2**	5,2 ± 0,3*
Triglyceridy (mmol/l)	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,6 ± 0,2	4,1 ± 0,7**	4,4 ± 0,2**
HDL cholesterol (mmol/l)	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1*	1,4 ± 0,1
LDL cholesterol (mmol/l)	3,4 ± 0,2	2,2 ± 0,2*	2,3 ± 0,4**

Hodnoty jsou uváděny jako průměr ± SEM. \* p<0,05 vs. kontrolní skupina, \*\* p<0,001 vs. kontrolní skupina; ° p<0,05 DM 1 (před léčbou) vs. DM 2 (po léčbě)

#### *Hormony tukové tkáně a markery endoteliální dysfunkce*

Bazálně byly sérové koncentrace adiponektinu mírně nižší ve skupině pacientek s DM ve srovnání s kontrolní skupinou, rozdíl však nedosáhl statistické významnosti. Koncentrace rezistinu byly v obou skupinách srovnatelné. Terapie rosiglitazonem vedla k signifikantnímu vzestupu koncentrací adiponektinu, zatímco hladiny rezistinu nebyly ovlivněny. U skupiny pacientek s DM jsme ve srovnání se zdravými kontrolami pozorovali signifikantně vyšší sérové koncentrace sVCAM-1 a PAI-1. Obdobný trend byl pozorován u sérových koncentrací MMP-9, sICAM-1 a E-selektinu, výsledky však nedosáhly statistické významnosti. Nebyly nalezeny významné rozdíly v hladinách MPO mezi oběma skupinami. V důsledku terapie rosiglitazonem došlo ke snížení koncentrací sVCAM-1, PAI-1 a E-selektinu, hladiny sICAM-1, MPO a MMP-9 nebyly terapií ovlivněny.

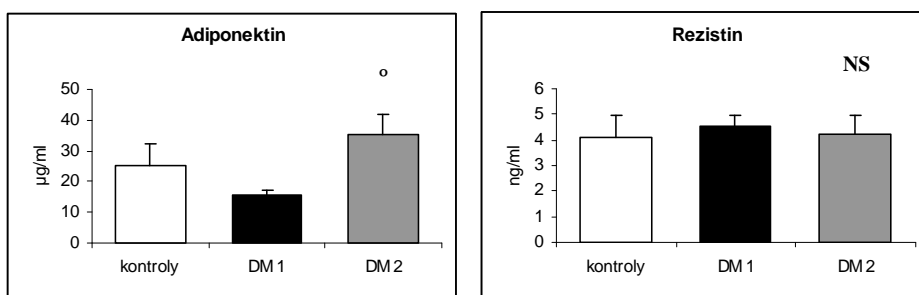
### Vztah mezi koncentracemi hormonů tukové tkáně a parametry endoteliální dysfunkce

Bazálně korelovaly koncentrace adiponektinu negativně s koncentracemi E-selektinu ( $r = -0,709$ ,  $p < 0,05$ ) a MPO ( $r = -0,648$ ,  $p < 0,05$ ), po léčbě již tento trend nebyl patrný. Dále byla bazálně naznačena pozitivní korelace rezistinu s hladinami MPO, výsledek však nedosáhl statistické významnosti ( $r = 0,612$ ,  $p = 0,051$ ). Další signifikantně významné korelace mezi hladinami cirkulujícího adiponektinu, rezistinu a markery endoteliální dysfunkce nebyly nalezeny.

Plazmatické hladiny markerů endoteliální dysfunkce u sledovaných souborů

	Kontrolní skupina (n=10)	DM před léčbou (n=10)	DM po léčbě (n=10)
MMP-9 (ng/ml)	133 ± 19,4	193 ± 24,8	130 ± 37,7
sVCAM-1 (ng/ml)	1287,3 ± 61	1501,6 ± 73,2*	1244,2 ± 110,1°
sICAM-1 (ng/ml)	164,9 ± 35,5	195,8 ± 23,2	176,2 ± 17,8
PAI-1 (ng/ml)	28,6 ± 2,1	46,4 ± 5,1*	36,6 ± 3,9°
MPO (ng/ml)	58,3 ± 13,3	62,1 ± 19,3	61,29 ± 20,1
E-selektin (ng/ml)	18,2 ± 2,4	26,2 ± 4,4	21 ± 3,3°

Hodnoty jsou uváděny jako průměr ± SEM. \*  $p < 0,05$  vs. kontrolní skupina, °  $p < 0,05$  DM 1 (před léčbou) vs. DM 2 (po léčbě)



Koncentrace adiponektinu a rezistinu u zdravých kontrol, u pacientek s diabetem bazálně (DM 1) a po 5 měsících léčby rosiglitazonem (DM 2).

#### **3.1.4. Závěr:**

Z dosažených výsledků vyplývá, že 5-ti měsíční terapie rosiglitazonem vedla ke zlepšení kompenzace diabetu a k významnému poklesu některých markerů endoteliální dysfunkce. Tento efekt může být patrně do určité míry důsledkem vzestupu koncentrací cirkulujícího adiponektinu.

### **3.2. Změny endokrinní funkce tukové tkáně u patientek s mentální anorexií: srovnání koncentrací cirkulujících adipokinů a jejich exprese v subkutánní tukové tkáni**

#### **3.2.1. Cíl práce:**

Hormony produkované tukovou tkání vykazují systémové i parakrinní účinky. Významná část adipokinů nemusí být uvolňována do systémové cirkulace a působí tak převážně lokálně v tukové tkáni. Z tohoto důvodu se mohou značně lišit koncentrace těchto hormonů v séru a v tukové tkáni a lokální vzestup hladin adipokinů může ovlivňovat metabolismus tukové tkáně, aniž by se odrazil ve změnách jejich cirkulujících koncentrací. Cílem naší práce bylo popsat vliv chronické malnutrice u patientek s mentální anorexií na endokrinní funkci tukové tkáně srovnáním koncentrací vybraných cirkulujících adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni.

#### **3.2.2. Metodika:**

##### *Soubor vyšetřovaných osob*

Do studie bylo zařazeno dvanáct patientek s mentální anorexií (BMI  $16,37 \pm 0,41 \text{ kg/m}^2$ ) a osmnáct zdravých žen odpovídajícího věku (BMI  $22,96 \pm 0,67 \text{ kg/m}^2$ ). Patientky s mentální anorexií byly hospitalizovány na Psychiatrické klinice VFN Praha. Antropometrické vyšetření a odběr

krevních vzorků a vzorků tukové tkáně bylo provedeno po přijetí k hospitalizaci před zahájením terapeutických intervencí. Před zařazením do studie podepsaly všechny vyšetřované ženy informovaný souhlas.

#### *Hodnocení antropometrických, biochemických a hormonálních parametrů*

U všech vyšetřovaných subjektů byla změřena výška, tělesná hmotnost a vypočítán BMI. Odběry krevních vzorků byly provedeny za standardních podmínek po celonočním lačnění mezi 7 a 8 hodinou ranní. Základní biochemické parametry byly stanoveny standardními laboratorními metodami. Sérové koncentrace hsCRP a adiponektinu byly měřeny komerčními RIA kity (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA). Sérové koncentrace interleukinu-6 (IL-6) pomocí LINCOples kitů (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA). Sérové koncentrace rezistinu, leptinu a solubilního leptinového receptoru byly měřeny komerčními ELISA kity (BioVendor, Česká republika). Sérové koncentrace inzulínu byly měřeny komerčními RIA kity (Cis Bio International, Francie). HOMA (homeostasis model assessment) index byl vypočítán pomocí vzorce: sérová koncentrace inzulínu nalačno (mIU/ml) \* glykémie nalačno (mmol/l)/22,5.

#### *Biopsie tukové tkáně*

Biopsie subkutánní tukové tkáně byla prováděna u pacientek s mentální anorexií a u zdravých žen současně s krevními odběry v ranních hodinách po 10-12 hodinovém lačnění. Vzorky tukové tkáně byly odebírány z oblasti břišní stěny cca 10-15 cm laterálně od pupku. Po zarouškování a dezinfekci místa odběru bylo provedeno lokální znecitlivění 10 ml 1% Mesocainu. Skalpelem byl proveden krátký řez (3-4 mm), kterým byla paralelně s břišní stěnou zavedena plastová kanyla s kovovým zavaděčem (Braunüle MT, 12G, délka 80 mm). Po opatrném rozrušení podkožní tukové tkáně byl odstraněn kovový zavaděč. Na kanylu byla připojena 20 ml

stříkačka a poté pomocí vytvořeného podtlaku odebráno požadované množství tukové tkáně (200-1000 mg). Vzorky tukové tkáně byly rozděleny do zkumavek eppendorf (1,5 ml) s 1ml RNA lateru, okamžitě zmrazeny na -80 °C a uloženy před dalším zpracováním.

*Hodnocení exprese mRNA vybraných adipokinů, adiponektinového receptoru 1 a 2 a transmembránového glykoproteinu CD68*

Vzorek tukové tkáně byl před vlastní izolací homogenizován. K homogenizaci vzorku tukové tkáně byl použit automatický homogenizátor MagNA Lyser (Roche Diagnostics GmbH, Německo). Po homogenizaci byla RNA extrahována MagNA Pure Compact RNA Isolation Kitem (Tissue, Roche Diagnostics GmbH, Německo). Do doby další analýzy byly vzorky skladovány při -80 °C.

Integrita RNA a její případné kontaminace DNA byly kontrolovány elektroforeticky na 1% agarozovém gelu s ethidium bromidem (1%). Koncentrace RNA byla stanovena spektrofotometrickým měřením absorbance při 260 nm (BioPhotometr Eppendorf AG, Německo). (Optická hustota  $A_{260}=1$  odpovídá 40  $\mu\text{g}$  RNA/ml). Poměr  $R_{260\text{ nm}/280\text{ nm}}$  byl použit k posouzení čistoty vzorků.

Pro přípravu cDNA bylo použito 0,1 - 1  $\mu\text{g}$  RNA. Syntéza byla provedena soupravou RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas Life Sciences, Lithuania) s oligo(dT)18 primery podle protokolu doporučeného výrobcem. Vzorky cDNA byly naředěny vodou na koncentraci 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$  a skladovány při  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Validace postupu izolace celkové RNA z tukové tkáně byla provedena stanovením míry genové exprese metodou RT-PCR v systému se specifickou hydrolyzační sondou. RT-PCR s hydrolyzační sondou TaqMan® Gene Expression Assay byla provedena na přístroji ABI 7500 (Applied Biosystems, USA). V reakční směsi byla cDNA (1  $\mu\text{g}$ ), TaqMan® Universal

Master Mix, No AmpErase® UNG (12,5 µl) a hydrolyzační sonda TaqMan® (1,25 µl). Celkový objem reakční směsi byl 25 µl. Podmínky reakce byly následující: po iniciační denaturaci při 95°C, 10 minut následovalo 40 cyklů, kde anaeling probíhal při 60° C jednu minutu a hydrolýza při 95° C 15 sekund. Data byla vyjádřena jako prahové hodnoty (CT), tzn. jako změna fluorescence v reálném čase. Pro každý vzorek byl stanovován také beta-2-mikroglobulin jako endogenní kontrola. Použitím této kontroly byl kompenzován různý vstupní objem RNA do reakční směsi a účinnost reakce. Relativní genová exprese sledovaných genů byla vypočítána podle vzorce:  $2^{-\Delta\Delta (CT \text{ cytokinu} - CT \text{ B2M})}$  (viz. User bulletin #2, ABI Prism 7700 Sequence Detection System, Applied Biosystems).

#### *Statistická analýza*

Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí programu SigmaStat (Jandel Scientific, USA). Jednotlivé parametry byly vyjádřeny jako průměr ± střední chyba průměru (SEM). Změny hladin adipocytárních hormonů a jejich genové exprese u pacientek s mentální anorexií a zdravých kontrol byly hodnoceny nepárovým t-testem či neparametrickým Wilcoxonovým (Mann-Whitney) rank sum testem.

### **3.2.3. Výsledky:**

#### *Antropometrické, biochemické a hormonální parametry*

BMI bylo dle očekávání signifikantně nižší ve skupině pacientek s MA ve srovnání se zdravými kontrolami. Snížený obsah tukové tkáně u pacientek s MA byl doprovázen snížením koncentrace hsCRP. Obdobný trend byl pozorován u sérových koncentrací inzulinu a triglyceridů a u HOMA indexu, výsledky však nedosáhly statistické významnosti. Nebyl prokázán významný rozdíl sérových koncentrací celkového cholesterolu a glukózy mezi oběma skupinami. Ve skupině pacientek s MA byly výrazně

snížené sérové koncentrace leptinu, zatímco koncentrace adiponektinu a solubilního leptinového receptoru byly signifikantně zvýšené ve srovnání s kontrolní skupinou. Sérové koncentrace rezistinu a IL-6 se mezi oběma skupinami významně nelišily.

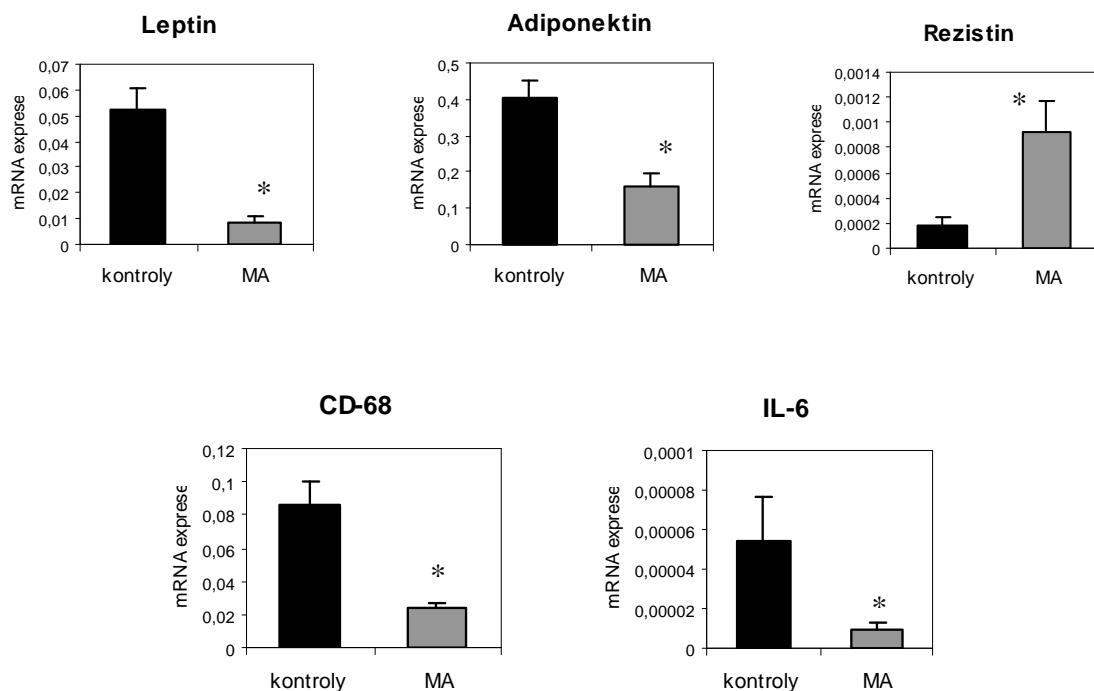
### **Základní antropometrické, biochemické a hormonální parametry sledovaných souborů**

	<b>Kontrolní skupina (n=18)</b>	<b>MA (n=12)</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22,96 ± 0,67	16,37 ± 0,41*
Glykémie (mmol/l)	4,14 ± 0,16	3,91 ± 0,05
Inzulin (mIU/l)	15,52 ± 1,87	11,52 ± 1,08
HOMA index	2,97 ± 0,45	2,00 ± 0,18
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,30 ± 0,25	5,10 ± 0,19
Triglyceridy (mmol/l)	1,13 ± 0,11	0,87 ± 0,13
CRP (mg/l)	2,86 ± 0,65	1,01 ± 0,60*
Leptin (ng/ml)	12,12 ± 1,78	1,94 ± 0,57*
Solubilní leptinový receptor (IU/ml)	29,74 ± 2,01	39,32 ± 2,63*
Adiponektin (ng/ml)	24,94 ± 2,92	38,23 ± 5,32*
Rezistin (ng/ml)	5,98 ± 0,44	5,23 ± 0,65
Interleukin-6 (ng/ml)	1,86 ± 0,38	2,85 ± 0,81

Hodnoty jsou uváděny jako průměr ± SEM. \*p<0,05 vs. kontrolní skupina.

#### *Expresa mRNA adipocytárních hormonů a cytokinů v subkutánní tukové tkáni*

U pacientek s MA byla ve srovnání s kontrolami výrazně snížená exprese mRNA v tukové tkáni pro adiponektin a leptin, zatímco exprese mRNA pro rezistin byla zvýšená. Rozdíly v expresi mRNA pro adiponektinový receptor 1 a 2 nedosáhly statistické významnosti. Expresa mRNA pro IL-6 a CD68 v subkutánní tukové tkáni byla signifikantně nižší u skupiny pacientek s MA ve srovnání se zdravými kontrolami.



Expres mRNA leptinu, adiponektinu, rezistinu, interleukinu 6 a transmembránového glykoproteinu CD68 v subkutánní tukové tkáni stanovené pomocí RT-PCR. Data jsou normalizována k  $\beta$ -2-mikroglobulinu. Hodnoty jsou uváděny jako průměr  $\pm$  SEM. \* $p < 0,05$  vs. kontrolní skupina.

### 3.2.4. Závěr:

Změny adipocytární exprese mRNA pro adiponektin, rezistin a IL-6 u pacientek s MA se neodrazilo ve změnách sérových koncentrací těchto adipokinů. Lze předpokládat, že rozdíly v lokální produkci adiponektinu a rezistinu se mohou podílet na některých metabolických odchylkách u pacientek s mentální anorexií.



#### 4. DISKUZE

Metabolický syndrom představuje pro své nositele výrazné zvýšení rizika akcelerace aterosklerózy a tím i kardiovaskulární morbidity a mortality (Haffner et al. 1998; Howard et al. 1996). Endoteliální dysfunkce je považována za časnou, morfologicky němou fází aterosklerózy. Společně s dalšími funkčními změnami, jako je zvýšená rigidita cévní stěny či abnormální reakce na vazodilatační podněty, předchází rozvoji detekovatelných morfologických změn cévní stěny. Z výsledků řady studií je zřejmé, že v patogenezi metabolického syndromu i aterosklerózy může hrát významnou roli porušená endokrinní a metabolická funkce tukové tkáně, charakterizovaná aktivací tvorby prozánětlivých a inzulinovou rezistenci navozujících signálů v tukové tkáni (Haluzík & Haluzíková 2006; Haluzík et al. 2004; Ravussin & Smith 2002). Agonisté PPAR- $\gamma$  receptorů – thiazolidindiony zlepšují v experimentálních i klinických studiích inzulinovou senzitivitu a kompenzaci diabetu (Nolan et al. 1994; Saltiel & Olefsky 1996). U zvířecích modelů aterosklerózy (LDL receptor deficientní a apolipoprotein E knock-out myši) došlo po podání PPAR- $\gamma$  agonistů ke zpomalení procesu aterosklerózy nezávisle na změnách glykémie a koncentrace plazmatických lipidů (Chen et al. 2001; Li et al. 2000). V klinických studiích byl prokázán pozitivní vliv PPAR- $\gamma$  agonistů na lipidové spektrum, cirkulující zánětlivé a koagulační markery i na funkci endotelu (Goldberg et al. 2005; Haffner et al. 2002; Miyazaki et al. 2004; Szapary et al. 2006). Thiazolidindiony současně reprezentují skupinu léků, které prokazatelně svými účinky příznivě ovlivňují endokrinní funkci tukové tkáně (Combs et al. 2002; Olefsky 2000).

V naší práci vedlo 5měsíční podávání PPAR- $\gamma$  agonisty rosiglitazonu u pacientů s DM 2. typu nejen ke zlepšení kompenzace diabetu, ale i k signifikantnímu poklesu cirkulujících hladin sVCAM, PAI-1 a E-selektinu, což svědčí pro zlepšení endoteliální dysfunkce. Toto zjištění je ve shodě se

závěry některých dříve publikovaných studií (Caballero et al. 2003; Esposito et al. 2006), ačkoli jiné práce tuto skutečnost nepotvrdily (Buras et al. 2005). Obdobný trend byl pozorován i u hladin MMP-9, proteolytického enzymu účastnícího se remodelace cévní stěny, jehož působením dochází též k ruptuře aterosklerotického plátu (Dandona et al. 2003), výsledky však nedosáhly statistické významnosti. Existuje několik různých mechanismů, jakými lze vysvětlit pozitivní vliv thiazolidindionů na funkci endotelu. Chronická hyperglykémie vykazuje řadu nežádoucích metabolických efektů a přímo potencuje rozvoj časných aterosklerotických změn. Proto samotné zlepšení kompenzace diabetu významně přispívá ke zlepšení endoteliální funkce. Jak již bylo zmíněno výše, výzkum porušené endokrinní funkce tukové tkáně stojí v současné době v centru zájmu při hledání patofyziologických mechanismů společně se uplatňujících při rozvoji metabolického syndromu, inzulínové rezistence a aterosklerózy. Adiponektin je hormonem vykazujícím inzulín-senzitizující (Berg et al. 2002), antiinflatorní i antisklerotické účinky (Ouchi et al. 2003). V experimentálních studiích vedlo jeho podání u adiponektin deficientních myší ke zlepšení endoteliální dysfunkce a zpomalení procesu aterosklerózy (Cao et al. 2009; Kubota et al. 2002). Z výsledků klinických studií je zřejmé, že nízké sérové koncentrace adiponektinu jsou v těsné souvislosti s progresí aterosklerotických změn (Kumada et al. 2003; Shimada et al. 2004). Ve shodě s dalšími publikovanými daty (Bahia et al. 2007; Hoo et al. 2007; Majuri et al. 2007) došlo i v naší studii vlivem několikaměsíční terapie rosiglitazonem k vzestupu sérových koncentrací adiponektinu. Tyto výsledky tedy podporují předpoklad, že příznivý efekt aktivace PPAR- $\gamma$  receptorů na funkci endotelu a proces aterogeneze může být alespoň zčásti zprostředkovan stimulací produkce adiponektinu v tukové tkáni.

Dalším adipokinem zkoumaným v naší práci byl rezistin. Závěry dosud publikovaných studií hodnotících úlohu tohoto hormonu v patogenezi

obezitou indukované inzulinové rezistence a DM 2. jsou značně nejednotné. Výrazná diskrepance se objevuje zejména mezi výsledky experimentálních a klinických studií. V prvních studiích byly u experimentálních modelů obezity a inzulinové rezistence zaznamenány zvýšené cirkulující hladiny rezistinu. Terapie thiazolidindiony vedla k poklesu jeho sérových koncentrací i genové exprese v tukové tkáni. Neutralizace rezistinu specifickými protilátkami zlepšila inzulinovou senzitivitu u inzulin-rezistentních obézních myší. Naopak podání rekombinantního rezistinu štíhlým kontrolním jedincům zhoršilo jejich glukózovou toleranci a vyvolalo inzulinovou rezistenci (Steppan et al. 2001). Na základě těchto nálezů byla vyslovena hypotéza, že rezistin může být důležitým spojovacím článkem mezi obezitou, inzulinovou rezistencí a DM 2. typu. Pozdější experimentální ani klinické studie však tuto hypotézu zcela nepotvrdily. Nicméně výsledky řady klinických studií naznačují, že zvýšené sérové koncentrace rezistinu potencují riziko aterosklerózy (Kawanami et al. 2004; Pischon et al. 2005). Na základě výsledků několika dalších studií lze soudit, že hlavní úloha rezistinu v lidském organismu spočívá v regulaci systémové zánětlivé odpovědi (Gerber et al. 2005; Křemen et al. 2006; Lehrke et al. 2004; Savage et al. 2001). V recentní studii Fargnoliho et al. byl rezistin pozitivně asociován s markery zánětu (TNF-alfaRII a IL-6), nikoli však s biomarkery endoteliální dysfunkce, glykemií, inzulinémií a markery inzulinové sekrece (Fargnoli et al. 2009). Byla prokázána asociace rezistinu s koronární nemocí (Reilly et al. 2005), revmatoidní artritidou (Bokarewa et al. 2005) a aktivitou nespecifických střevních zánětů (Konrad et al. 2007). Rezistin lze zřejmě též považovat za marker závažnosti klinického stavu u těžké sepse a septického šoku (Sunden-Cullberg et al. 2007). V naší práci jsme nezjistili signifikantní rozdíly v sérových koncentracích rezistinu u pacientů s DM 2. typu a kontrolní skupiny. Přes svůj příznivý efekt na kompenzaci diabetu neovlivnila terapie rosiglitazonem sérové koncentrace tohoto hormonu. Naše

výsledky tedy nepodporují hypotézu, že rezistin je přímým spojovacím článkem mezi obezitou, inzulinovou rezistencí a aterosklerózou. Nicméně nelze zcela vyloučit, že podávání rosiglitazonu vedlo k alteraci lokální exprese a sekrece rezistinu v tukové tkáni, aniž by došlo ke změně jeho sérových koncentrací.

Z výsledků naší studie je tedy zřejmé, že aktivace PPAR- $\gamma$  receptorů v kombinaci se vzestupem hladin adiponektinu ovlivnila příznivě kompenzaci diabetu a současně i produkci markerů endoteliální dysfunkce.

Rozsáhlou diskuzi vyvolaly výsledky Nissenovy metaanalýzy 42 klinických studií zveřejněné v roce 2007 v časopisu *The New England Journal of Medicine*, které ukázaly na zvýšený výskyt infarktu myokardu a úmrtí z kardiovaskulárních příčin (zde s hraniční signifikancí) u pacientů léčených rosiglitazonem (Nissen & Wolski 2007). Po zveřejnění těchto výsledků byla v průběhu roku 2007 publikována data z předběžné analýzy studie RECORD (Rosiglitazon Evaluated for Cardiac Outcomes and Regulation of Glycemia in Diabetes) (Home et al. 2007). Tato multicentrická randomizovaná studie byla designována speciálně na sledování kardiovaskulární bezpečnosti léčby rosiglitazonem v kombinaci se sulfonylureou nebo metforminem. Průběžné ani později zveřejněné finální výsledky této analýzy nepotvrdily zvýšení rizika kardiovaskulárních příhod v důsledku terapie rosiglitazonem. Prokázaly pouze zvýšené riziko srdečního selhání v důsledku retence tekutin a také zvýšené riziko fraktur některých kostí u žen (Home et al. 2009). Při dodržování indikačních kritérií tedy pravděpodobně převažuje přínos léčby thiazolidindiony nad jejími riziky. Tato skupina léků má tak jistě své místo v moderní terapii diabetu.

Tělesná hmotnost a procento tělesného tuku významně ovlivňují endokrinní funkci tukové tkáně. Druhým cílem naší práce bylo posouzení vlivu chronické malnutrice na endokrinní funkci tukové tkáně u pacientek s mentální anorexií. Hodnotili jsme vztah mezi antropometrickými,

biochemickými a hormonálními parametry, současně jsme porovnávali koncentrace vybraných cirkulujících adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni.

HOMA index a sérové koncentrace inzulínu a triglyceridů byly mírně snižené ve skupině pacientek s MA, rozdíl však nedosáhl statistické významnosti. Nebyly nalezeny významné rozdíly v hladinách glukózy a cholesterolu mezi oběma skupinami.

Ve shodě s dříve publikovanými daty (Delporte et al. 2003; Housova et al. 2005) jsme u pacientek s MA prokázali zvýšené sérové koncentrace adiponektinu ve srovnání s kontrolní skupinou. Naproti tomu exprese mRNA pro adiponektin v subkutánní tukové tkáni byla u pacientek s MA snižena. Jedním z možných vysvětlení tohoto nesouladu mezi sérovými koncentracemi adiponektinu a expresí jeho mRNA v subkutánní tukové tkáni je zvýšená produkce adiponektinu v jiných lokalizacích, například ve viscerální tukové tkáni či ve svalu. Produkce adiponektinu byla původně připisována výhradně adipocytům (Maeda et al. 1996; Scherer et al. 1995). Výsledky pozdějších experimentálních studií na myších modelech však svědčí pro možnou tvorbu adiponektinu ve svalové tkáni (Delaigle et al. 2004; Haluzík et al. 2006). V jedné z našich prací zvyšovala chronická kalorická restrikce u myši prokazatelně expresi adiponektinu ve svalu (Haluzíková et al., nepublikovaná data). V jiné studii provedené na kuřecím modelu byla zjištěna produkce adiponektinu kromě tukové a svalové tkáně též v játrech, adenohipofýze, diencefalu, ledvinách a ováriích (Maddineni et al. 2005). Punyadeera et al. ve své studii prokázala imunohistochemickými metodami expresi adiponektinu i v lidském kosterním svalu (Punyadeera et al. 2005). Mechanismus, jakým dochází ke zvýšení produkce adiponektinu u MA, nebyl dosud zcela objasněn. Někteří autoři zvažují možnost existence negativní zpětné vazby mezi tukovou tkání a expresí adiponektinu (Delporte et al. 2003). Tuková tkáň by mohla být místem syntézy faktoru

s destabilizujícími účinky na adiponektinovou mRNA (Halleux et al. 2001). Nicméně například ve studii Bosy-Westphal nebyl vzestup hmotnosti u pacientek s MA doprovázen změnami v koncentracích adiponektinu (Bosy-Westphal et al. 2005). V několika experimentálních i klinických studiích byl popsán těsný vztah mezi sníženou hladinou adiponektinu a poklesem inzulinové senzitivity u obézních jedinců (Hotta et al. 2000; Weyer et al. 2001). Studie zaměřené na hodnocení inzulinové senzitivity u pacientů s MA však přinášejí značně protichůdné výsledky. Ve studiích využívajících hyperinzulinemického-euglykemického clampu byla inzulinová senzitivita u pacientek s MA srovnatelná (Castillo et al. 1985) či dokonce nižší než u kontrolní skupiny (Pannacciulli et al. 2003). Jiné studie, ve kterých byla inzulinová senzitivita hodnocena pomocí minimálního modelu či HOMA indexu naopak prokázaly zvýšení inzulinové senzitivity u pacientek s MA (Delporte et al. 2003; Dostálová et al. 2007; Fukushima et al. 1993; Housova et al. 2005; Misra et al. 2004). Tuto tendenci naznačují i výsledky naší práce, rozdílly však nedosáhly statistické významnosti. V experimentálních studiích byl opakovaně demonstrován inzulin-senzitizující efekt adiponektinu (Berg et al. 2001; Yamauchi et al. 2001). Z výše uvedeného je patrná souvislost mezi adiponektinemií a inzulinovou senzitivitou. Nicméně zda je zvýšená inzulinová senzitivita kauzativním faktorem pro rozvoj hyperadiponektinémie u MA či spíše jejím důsledkem nelze s určitostí zodpovědět. V regulaci sekrece adiponektinu se zřejmě uplatňuje i sympatoadrenální systém. Bylo prokázáno, že  $\beta$ -adrenergní stimulací je významně suprimována exprese genu pro adiponektin (Delporte et al. 2002; Fasshauer et al. 2001). Snížená aktivita sympatoadrenálního systému u MA se tak může uplatňovat při vzestupu jeho sérových koncentrací. Určitý podíl na rozvoji hyperadiponektinémie u nemocných s MA mohou mít též změny clearance adiponektinu.

Další zajímavé výsledky přineslo srovnání hladin cirkulujícího rezistinu a exprese mRNA pro rezistin v subkutánní tukové tkáni. V některých klinických studiích byly popsány zvýšené sérové koncentrace rezistinu u obézních subjektů ve srovnání se štíhlými kontrolami (Degawa-Yamauchi et al. 2003; Schaffler et al. 2004; Vendrell et al. 2004) a signifikantní pokles jeho hladin po mírné redukci hmotnosti (Valsamakis et al. 2004) či po provedení gastrického bypassu (Vendrell et al. 2004). Nicméně v řadě jiných studií nebyla prokázána asociace mezi koncentrací rezistinu a BMI či inzulinovou rezistencí (Anderlová et al. 2006; Lee et al. 2003; Utzschneider et al. 2005). Podobně ve studii Housové et al. nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v sérových koncentracích rezistinu mezi skupinou pacientek s mentální anorexií a zdravými kontrolami (Housova et al. 2005). V naší studii jsme nezjistili signifikantní rozdíly v sérových koncentracích rezistinu u obou sledovaných skupin, ačkoli významně nižší hodnoty hsCRP ve skupině pacientek s mentální anorexií svědčily pro útlum systémové zánětlivé reakce organismu. Expresse mRNA pro rezistin v subkutánní tukové tkáni byla zvýšená oproti kontrolní skupině. Toto zjištění je v souladu s výsledky další studie, ve které byly stanovovány koncentrace rezistinu v intersticiální tekutině subkutánní tukové tkáně pomocí mikrodialyzační techniky (Dostálová et al. 2006). Naproti tomu exprese dalšího z prozánětlivých faktorů IL-6 v subkutánní tukové tkáni byla ve skupině pacientek s MA signifikantně nižší, přestože se jeho plazmatické koncentrace v obou skupinách nelišily. Je možné, že tuto skutečnost lze alespoň částečně vysvětlit zvýšenou produkcí IL-6 v jiných lokalizacích. Na celkové koncentraci IL-6 v plazmě se za bazálních podmínek podílí produkce v tukové tkáni cca 15-35% (Mohamed-Ali et al. 1997). Bylo prokázáno, že během fyzické zátěže významně narůstá exprese IL-6 ve svalové tkáni. Tento vzestup je akcentován poklesem zásob svalového glykogenu pod určitou hranici. Následné zvýšení plazmatické koncentrace IL-6 může být signálem

pro vzestup jaterní produkce glukózy, což napomáhá k udržení glukózové homeostázy (Keller et al. 2001; Steensberg et al. 2000). Nelze vyloučit, že u pacientek s MA, u kterých jsou nacházeny nízké zásoby glykogenu, dochází obdobným mechanismem k nárůstu exprese svalové mRNA pro IL-6.

Jak bylo uvedeno výše, tuková tkáň je tvořena rozličnými typy buněčných populací. Nakolik se na sekreci jednotlivých prozánětlivých cytokinů podílejí samotné adipocyty a nakolik stromální/vaskulární frakce a imunokompetentní buňky tukové tkáně zůstává předmětem zkoumání. Akumulace makrofágů v tukové tkáni narůstá proporcionálně k BMI a adipocytární hypertrofii (Cancello et al. 2005; Curat et al. 2004; Weisberg et al. 2003). V souladu s těmito údaji jsme v naší studii zaznamenali ve skupině pacientek s MA sníženou expresi mRNA glykoproteinu CD68, markeru mononukleární fagocytární linie, což svědčí pro nízký stupeň infiltrace tukové tkáně makrofágy. Lze tedy soudit, že rezistin je u těchto pacientek produkován ve větší míře samotnými adipocyty spíše než imunokompetentními buňkami. Je možné, že právě malnutrice je pro adipocyty určitým „stresujícím“ faktorem vyvolávajícím zvýšenou produkci rezistinu.

Závěrem lze shrnout, že změny adipocytární exprese mRNA pro adiponektin, rezistin a IL-6 se u pacientek s MA neodrazily v sérových koncentracích těchto adipokinů. Uplatnění těchto změn na systémové úrovni je jistě ovlivněno sníženým procentem tělesného tuku. Předpokládáme, že se rozdíl v lokální produkci adiponektinu a rezistinu mohou podílet na některých metabolických odchylkách u pacientek s MA.



## 5. ZÁVĚR

Obezita je jedním z hlavních rizikových faktorů pro rozvoj diabetu 2. typu, arteriální hypertenze a progresi aterosklerózy. Je doprovázena chronickým zánětlivým stavem tukové tkáně. Tuková tkáň je v současné době považována za aktivní sekreční a imunitní orgán. Zvýšením jejího objemu v důsledku dlouhodobé pozitivní energetické bilance dochází k nárůstu produkce adipokinů s prozánětlivým účinkem. Tyto hormony a cytokiny produkované adipocyty i makrofágy působí lokálně v tukové tkáni a současně vykazují systémové účinky. Mohou se tak různou měrou podílet na vzniku patofyziologických změn charakterizujících metabolický syndrom a vedoucích k rozvoji endoteliální dysfunkce a progresi aterosklerózy. Naopak nevelké množství tukové tkáně u štíhlých jedinců či výrazné snížení jejího objemu u obézních pacientů po redukci hmotnosti je spojeno s nárůstem produkce faktorů s příznivými metabolickými účinky a poklesem produkce prozánětlivých a inulinovou rezistenci indukujících faktorů.

Endoteliální dysfunkce a zánět jsou důležitými markery aterogenního procesu a zhoršené prognózy u pacientů s metabolickým syndromem a diabetem 2. typu. Detekce endoteliální dysfunkce je užitečným nástrojem pro výzkum mechanismů aterosklerózy, screening z hlediska budoucího kardiovaskulárního rizika a sledování odpovědi na terapeutické zásahy. V současné době je značná pozornost věnována úloze PPAR- $\gamma$  agonistů – thiazolidindionů v ovlivnění endoteliální dysfunkce a snížení kardiovaskulární morbidity a mortality. Thiazolidindiony regulují expresi genů hrajících klíčovou roli v glukózovém a lipidovém metabolismu. Kromě přímého vlivu na inzulinovou senzitivitu může vst aktivace PPAR- $\gamma$  ke zlepšení vaskulárních funkcí a zmírnění zánětu. Cílem naší studie bylo zhodnocení vlivu terapie PPAR- $\gamma$  agonistou rosiglitazonem na hladiny cirkulujících markerů endoteliální dysfunkce u pacientů s diabetem 2. typu a posouzení role změn endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu.

5měsíční podávání rosiglitazonu vedlo kromě zlepšení kompenzace diabetu k signifikantnímu zvýšení koncentrace adiponektinu (aniž by byla ovlivněna koncentrace rezistinu) a k poklesu hladin cirkulujících markerů endoteliální dysfunkce sVCAM-1, PAI-1 a E-selektinu. Současně byl zaznamenán pokles MMP-9, výsledek však nedosáhl statistické významnosti. Pozitivní vliv rosiglitazonu na endoteliální dysfunkci tak lze nejspíše vysvětlit kombinací poklesu glykémie a vzestupu koncentrace antiaterogenně působícího adiponektinu.

V současné době je všeobecně akceptována souvislost mezi zvýšenou produkcí určitých faktorů v tukové tkáni a rozvojem metabolických a kardiovaskulárních komplikací obezity. Na druhou stranu i výrazně redukováné množství tukové tkáně je doprovázeno četnými metabolickými a endokrinními abnormalitami. V několika studiích byly demonstrovány snížené koncentrace leptinu a zvýšené koncentrace adiponektinu u pacientek s mentální anorexií. V naší druhé práci jsme testovali hypotézu, že dlouhodobá kalorická restrikce vede u pacientek s mentální anorexií ke zvýšení exprese adiponektinu a poklesu exprese prozánětlivých adipokinů v subkutánní tukové tkáni. Přestože koncentrace cirkulujícího adiponektinu byly ve skupině pacientek s mentální anorexií signifikantně vyšší ve srovnání s kontrolní skupinou, exprese adiponektinové mRNA v subkutánní tkáni byla výrazně nižší. Tento náleží lze zřejmě vysvětlit zvýšenou produkcí adiponektinu v jiných lokalizacích, například ve viscerální tukové tkáni či ve svalové tkáni. Nebyl nalezen rozdíl v koncentracích rezistinu mezi oběma sledovanými skupinami. Velmi zajímavým zjištěním však je, že exprese rezistinu v subkutánní tukové tkáni byla u pacientek s mentální anorexií výrazně vyšší, ačkoli exprese dalšího faktoru s prozánětlivými účinky IL-6 byla nižší ve srovnání s kontrolními subjekty. Předpokládáme, že se změny v lokální produkci určitých adipokinů mohou podílet na rozvoji některých

metabolických odchylek v subkutánní tukové tkáni u pacientů s mentální anorexií.

Ačkoli experimentální i klinický výzkum v této oblasti přináší stále nové informace, přesná úloha jednotlivých adipokinů zůstává z velké části neobjasněná. Pochopení endokrinní funkce tukové tkáně by nám mělo výrazně napomoci v hledání efektivních přístupů v terapii patologických stavů spojených s její nadměrnou akumulací či naopak úbytkem. Zkoumání vlastností tukové tkáně a její úloha při rozvoji metabolického syndromu a komplikací s ním spojených bude i do budoucna jedním z hlavních cílů naší práce.

## 6. SUMMARY

The metabolic effects of obesity have made this disease one of the most common risk factors for diabetes, hypertension, and atherosclerosis. Adipose tissue is now recognized as an active secretory and immune organ. Chronic inflammation is a common feature of the obesity, and inflammatory signals may originate within visceral adipose tissue as this fat depot expands in response to chronic positive energy balance. Both adipocytes and macrophages within fat secrete numerous hormones and cytokines that have local effects on WAT physiology but also systemic effects on other organs and may markedly contribute to the development of pathophysiological disorders associated with metabolic syndrome. On the contrary, leanness as well as significant weight reduction in obese patients increases production and circulating levels of metabolically beneficial factors and decreases production of proinflammatory and insulin resistance-inducing factors.

Endothelial dysfunction and inflammation are important signs of vascular risk and worsened prognosis in patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes. Measures of endothelial function remain invaluable for research into disease mechanism and response to new therapies. An interesting area of ongoing investigation is the role of thiazolidinediones in improving endothelial function in patients with type 2 diabetes. Thiazolidinediones regulate the expression of numerous genes with key roles in glucose and lipid metabolism and thus are able to exert direct beneficial effect on insulin resistance. In addition, activation of PPARs could improve vascular function and inflammatory processes resulting in additional vascular effects. The aim of our study was to evaluate the effect of 5-months treatment with PPAR- $\gamma$  agonist rosiglitazone on the circulating markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes and to evaluate the role of changes in endocrine function of adipose tissue in this process. We showed

similarly to previously published studies that activation of PPAR- $\gamma$  by rosiglitazone improved diabetes compensation, markedly increased circulating adiponectin levels (whereas resistin levels were not affected) and decreased circulating markers of endothelial dysfunction sVCAM-1, PAI-1 and E-selectin. It also tended to decrease circulating levels of matrix metalloproteinase-9. The beneficial effect on endothelial dysfunction is very likely explainable by the combination of glucose-lowering effect of rosiglitazone and by increased circulating levels of anti-atherogenic hormone adiponectin.

There is considerable evidence of links between increased production of some adipocyte factors and the metabolic and cardiovascular complications of obesity. On the contrary, previous studies in AN patients showed numerous metabolic and endocrine abnormalities including the perturbations of endocrine function of adipose tissue such as decreased circulating leptin levels and increased adiponectin levels. In our second study we tested the hypothesis that chronically decreased calory intake in anorexia nervosa patients enhances the mRNA expression of adiponectin and decreases expression of proinflammatory adipokines in subcutaneous adipose tissue. Surprisingly, we found significantly decreased subcutaneous fat adiponectin mRNA expression with simultaneous increase of its circulating levels. We suppose that increased production of adiponectin in other tissues such as visceral adipose tissue or the muscle tissue could be responsible for this dissociation. Another interesting finding of the study was dissociation between unchanged circulating resistin levels in anorexia nervosa patients and its markedly up-regulated mRNA expression in subcutaneous adipose tissue, although mRNA expression of other proinflammatory factor interleukin-6 was significantly decreased relative to in the control group. We suppose that altered local adipokine production may contribute to the

development of some metabolic alterations in subcutaneous adipose tissue of patients with anorexia nervosa.

Both experimental and clinical research bring new information and shed more light on this fascinating field. However, the exact role of endocrine function of adipose tissue in humans remains to be elucidated. Understanding the endocrine function of adipose tissue will likely permit more rational approaches to treatment of the metabolic consequences of excess and deficiency of adipose tissue. The evaluation of adipose tissue and particularly its endocrine function remains an essential component of our investigations.

## 7. POUŽITÁ LITERATURA

- Anderlová K, Křemen J, Doležalová R, Housová J, Haluzíková D, Kunešová M, Haluzík M. The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women. *Physiol Res* 2006. 55:277-83
- Bahia L, Aguiar LG, Villela N, Bottino D, Godoy-Matos AF, Geloneze B, Tambascia M, Bouskela E. Adiponectin is associated with improvement of endothelial function after rosiglitazone treatment in non-diabetic individuals with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2007. 195:138-46
- Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 2001. 7:947-53
- Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002. 13:84-9
- Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005. 174:5789-95
- Bosy-Westphal A, Brabant G, Haas V, Onur S, Paul T, Nutzinger D, Klein H, Hauer M, Muller MJ. Determinants of plasma adiponectin levels in patients with anorexia nervosa examined before and after weight gain. *Eur J Nutr* 2005. 44:355-9
- Buras J, Reenstra WR, Orlow D, Horton ES, Veves A. Troglitazone-induced changes in adiponectin do not affect endothelial function in diabetes. *Obes Res* 2005. 13:1167-74
- Caballero AE, Saouaf R, Lim SC, Hamdy O, Abou-Elenin K, O'Connor C, Logerfo FW, Horton ES, Veves A. The effects of troglitazone, an insulin-sensitizing agent, on the endothelial function in early and late type 2 diabetes: a placebo-controlled randomized clinical trial. *Metabolism* 2003. 52:173-80
- Cancello R, Henegar C, Viguerie N, Taleb S, Poitou C, Rouault C, Coupaye M, Pelloux V, Hugol D, Bouillot JL, Bouloumie A, Barbatelli G, Cinti S, Svensson PA, Barsh GS, Zucker JD, Basdevant A, Langin D, Clement K. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. *Diabetes* 2005. 54:2277-86
- Cao Y, Tao L, Yuan Y, Jiao X, Lau WB, Wang Y, Christopher T, Lopez B, Chan L, Goldstein B, Ma XL. Endothelial dysfunction in adiponectin deficiency and its mechanisms involved. *J Mol Cell Cardiol* 2009. 46:413-9
- Castillo M, Scheen A, Lefebvre PJ, Luyckx AS. Insulin-stimulated glucose disposal is not increased in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1985. 60:311-4
- Combs TP, Wagner JA, Berger J, Doebber T, Wang WJ, Zhang BB, Tanen M, Berg AH, O'Rahilly S, Savage DB, Chatterjee K, Weiss S, Larson PJ, Gottesdiener KM, Gertz BJ, Charron MJ, Scherer PE, Moller DE. Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPARgamma agonists: a potential mechanism of insulin sensitization. *Endocrinology* 2002. 143:998-1007
- Curat CA, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R, Bouloumie A. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes* 2004. 53:1285-92
- Dandona P, Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Bandyopadhyay A, Chaudhuri A. Insulin suppresses plasma concentration of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9. *Diabetes Care* 2003. 26:3310-4
- Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Juliar BE, Watson W, Kerr K, Jones R, Zhu Q, Considine RV. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003. 88:5452-5
- Delaigne AM, Jonas JC, Bauche IB, Cornu O, Brichard SM. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology* 2004. 145:5589-97
- Delporte ML, Brichard SM, Hermans MP, Beguin C, Lambert M. Hyperadiponectinaemia in anorexia nervosa. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003. 58:22-9

- Delporte ML, Funahashi T, Takahashi M, Matsuzawa Y, Brichard SM. Pre- and post-translational negative effect of beta-adrenoceptor agonists on adiponectin secretion: in vitro and in vivo studies. *Biochem J* 2002. 367:677-85
- Dostálová I, Kunešová M, Dušková J, Papežová H, Nedvídková J. Adipose tissue resistin levels in patients with anorexia nervosa. *Nutrition* 2006. 22:977-83
- Dostálová I, Smitka K, Papežová H, Kvasnickova H, Nedvídková J. Increased insulin sensitivity in patients with anorexia nervosa: the role of adipocytokines. *Physiol Res* 2007. 56:587-94
- Esposito K, Ciotola M, Carleo D, Schisano B, Saccomanno F, Sasso FC, Cozzolino D, Assaloni R, Merante D, Ceriello A, Giugliano D. Effect of rosiglitazone on endothelial function and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2006. 29:1071-6
- Fargnoli JL, Sun Q, Olenczuk D, Qi L, Zhu Y, Hu FB, Mantzoros CS. Resistin is associated with biomarkers of inflammation while total and high-molecular weight adiponectin are associated with biomarkers of inflammation, insulin resistance, and endothelial function. *Eur J Endocrinol* 2009. 162:281-8
- Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Adiponectin gene expression is inhibited by beta-adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001. 507:142-6
- Festa A, D'Agostino R, Jr., Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000. 102:42-7
- Fukushima M, Nakai Y, Taniguchi A, Imura H, Nagata I, Tokuyama K. Insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose effectiveness in anorexia nervosa: a minimal model analysis. *Metabolism* 1993. 42:1164-8
- Gerber M, Boettner A, Seidel B, Lammert A, Bar J, Schuster E, Thiery J, Kiess W, Kratzsch J. Serum resistin levels of obese and lean children and adolescents: biochemical analysis and clinical relevance. *J Clin Endocrinol Metab* 2005. 90:4503-9
- Goldberg RB, Kendall DM, Deeg MA, Buse JB, Zagar AJ, Pinaire JA, Tan MH, Khan MA, Perez AT, Jacober SJ. A comparison of lipid and glycemic effects of pioglitazone and rosiglitazone in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care* 2005. 28:1547-54
- Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, Freed MI. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2002. 106:679-84
- Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998. 339:229-34
- Halleux CM, Takahashi M, Delporte ML, Detry R, Funahashi T, Matsuzawa Y, Brichard SM. Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2001. 288:1102-7
- Haluzík M, Haluzíková D. The role of resistin in obesity-induced insulin resistance. *Curr Opin Investig Drugs* 2006. 7:306-11
- Haluzík M, Pařízková J, Haluzík MM. Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. *Physiol Res* 2004. 53:123-9
- Haluzík MM, Lacinová Z, Dolinková M, Haluzíková D, Housa D, Hořínek A, Vernerová Z, Kumstýřová T, Haluzík M. Improvement of insulin sensitivity after peroxisome proliferator-activated receptor-alpha agonist treatment is accompanied by paradoxical increase of circulating resistin levels. *Endocrinology* 2006. 147:4517-24
- Home PD, Jones NP, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, Gomis R, Hanefeld M, Komajda M, Curtis P. Rosiglitazone RECORD study: glucose control outcomes at 18 months. *Diabet Med* 2007. 24:626-34
- Home PD, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, Curtis PS, Gomis R, Hanefeld M, Jones NP, Komajda M, McMurray JJ. Rosiglitazone evaluated for cardiovascular outcomes in oral agent



- combination therapy for type 2 diabetes (RECORD): a multicentre, randomised, open-label trial. *Lancet* 2009. 373:2125-35
- Hoo RL, Chow WS, Yau MH, Xu A, Tso AW, Tse HF, Fong CH, Tam S, Chan L, Lam KS. Adiponectin mediates the suppressive effect of rosiglitazone on plasminogen activator inhibitor-1 production. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007. 27:2777-82
- Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000. 20:1595-9
- Housova J, Anderlova K, Krizova J, Haluzikova D, Kremen J, Kumstyrova T, Papezova H, Haluzik M. Serum adiponectin and resistin concentrations in patients with restrictive and binge/purge form of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2005. 90:1366-70
- Howard G, O'Leary DH, Zaccaro D, Haffner S, Rewers M, Hamman R, Selby JV, Saad MF, Savage P, Bergman R. Insulin sensitivity and atherosclerosis. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) Investigators. *Circulation* 1996. 93:1809-17
- Chen Z, Ishibashi S, Perrey S, Osuga J, Gotoda T, Kitamine T, Tamura Y, Okazaki H, Yahagi N, Iizuka Y, Shionoiri F, Ohashi K, Harada K, Shimano H, Nagai R, Yamada N. Troglitazone inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice: pleiotropic effects on CD36 expression and HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001. 21:372-7
- Kawanami D, Maemura K, Takeda N, Harada T, Nojiri T, Imai Y, Manabe I, Utsunomiya K, Nagai R. Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. *Biochem Biophys Res Commun* 2004. 314:415-9
- Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada T, Saltin B, Pedersen BK, Neufer PD. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *Faseb J* 2001. 15:2748-50
- Konrad A, Lehrke M, Schachinger V, Seibold F, Stark R, Ochsenkuhn T, Parhofer KG, Goke B, Broedl UC. Resistin is an inflammatory marker of inflammatory bowel disease in humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007. 19:1070-4
- Křemen J, Dolinková M, Krajíčková J, Bláha J, Anderlová K, Lacinová Z, Haluzíková D, Bošanská L, Vokurka M, Svačina S, Haluzík M. Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role in postoperative insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006. 91:4620-7
- Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J, Eto K, Yamashita T, Kamon J, Satoh H, Yano W, Froguel P, Nagai R, Kimura S, Kadowaki T, Noda T. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem* 2002. 277:25863-6
- Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, Arita Y, Okamoto Y, Shimomura I, Hiraoka H, Nakamura T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003. 23:85-9
- Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Estrada E, Seip R, Orlova C, Mantzoros CS. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003. 88:4848-56
- Lehrke M, Reilly MP, Millington SC, Iqbal N, Rader DJ, Lazar MA. An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans. *PLoS Med* 2004. 1:e45
- Li AC, Brown KK, Silvestre MJ, Willson TM, Palinski W, Glass CK. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest* 2000. 106:523-31

- Maddineni S, Metzger S, Ocon O, Hendricks G, 3rd, Ramachandran R. Adiponectin gene is expressed in multiple tissues in the chicken: food deprivation influences adiponectin messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology* 2005. 146:4250-6
- Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996. 221:286-9
- Majuri A, Santaniemi M, Rautio K, Kunnari A, Vartiainen J, Ruokonen A, Kesaniemi YA, Tapanainen JS, Ukkola O, Morin-Papunen L. Rosiglitazone treatment increases plasma levels of adiponectin and decreases levels of resistin in overweight women with PCOS: a randomized placebo-controlled study. *Eur J Endocrinol* 2007. 156:263-9
- Misra M, Miller KK, Almazan C, Ramaswamy K, Aggarwal A, Herzog DB, Neubauer G, Breu J, Klibanski A. Hormonal and body composition predictors of soluble leptin receptor, leptin, and free leptin index in adolescent girls with anorexia nervosa and controls and relation to insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004. 89:3486-95
- Miyazaki Y, Mahankali A, Wajsborg E, Bajaj M, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Effect of pioglitazone on circulating adipocytokine levels and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004. 89:4312-9
- Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppel SW. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997. 82:4196-200
- Nissen SE, Wolski K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2007. 356:2457-71
- Nolan JJ, Ludvik B, Beerdsen P, Joyce M, Olefsky J. Improvement in glucose tolerance and insulin resistance in obese subjects treated with troglitazone. *N Engl J Med* 1994. 331:1188-93
- Olefsky JM. Treatment of insulin resistance with peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Clin Invest* 2000. 106:467-72
- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol* 2003. 14:561-6
- Pannaciuoli N, Vettor R, Milan G, Granzotto M, Catucci A, Federspil G, De Giacomo P, Giorgino R, De Pergola G. Anorexia nervosa is characterized by increased adiponectin plasma levels and reduced nonoxidative glucose metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2003. 88:1748-52
- Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia* 1998. 41:1241-8
- Pischon T, Bamberger CM, Kratzsch J, Zyriax BC, Algenstaedt P, Boeing H, Windler E. Association of plasma resistin levels with coronary heart disease in women. *Obes Res* 2005. 13:1764-71
- Punyadeera C, Zorenc AH, Koopman R, McAinch AJ, Smit E, Manders R, Keizer HA, Cameron-Smith D, van Loon LJ. The effects of exercise and adipose tissue lipolysis on plasma adiponectin concentration and adiponectin receptor expression in human skeletal muscle. *Eur J Endocrinol* 2005. 152:427-36
- Rader DJ. Inflammatory markers of coronary risk. *N Engl J Med* 2000. 343:1179-82
- Ravussin E, Smith SR. Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 2002. 967:363-78
- Reaven G. Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation* 2002. 106:286-8
- Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988. 37:1595-607
- Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005. 111:932-9
- Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006. 64:355-65

- Saltiel AR, Olefsky JM. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes* 1996. 45:1661-9
- Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, O'Rahilly S. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes* 2001. 50:2199-202
- Shimada K, Miyazaki T, Daida H. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta* 2004. 344:1-12
- Schaffler A, Buchler C, Muller-Ladner U, Herfarth H, Ehling A, Paul G, Scholmerich J, Zietz B. Identification of variables influencing resistin serum levels in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 2004. 36:702-7
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995. 270:26746-9
- Steensberg A, van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Klarlund Pedersen B. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol* 2000. 529 Pt 1:237-42
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001. 409:307-12
- Sunden-Cullberg J, Nystrom T, Lee ML, Mullins GE, Tokics L, Andersson J, Norrby-Teglund A, Treutiger CJ. Pronounced elevation of resistin correlates with severity of disease in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2007. 35:1536-42
- Svačina Š. *Hypertenze při obezitě a diabetu* 2007. Praha: Triton
- Szapary PO, Bloedon LT, Samaha FF, Duffy D, Wolfe ML, Soffer D, Reilly MP, Chittams J, Rader DJ. Effects of pioglitazone on lipoproteins, inflammatory markers, and adipokines in nondiabetic patients with metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006. 26:182-8
- Utzschneider KM, Carr DB, Tong J, Wallace TM, Hull RL, Zraika S, Xiao Q, Mistry JS, Retzlaff BM, Knopp RH, Kahn SE. Resistin is not associated with insulin sensitivity or the metabolic syndrome in humans. *Diabetologia* 2005. 48:2330-3
- Valsamakis G, McTernan PG, Chetty R, Al Daghri N, Field A, Hanif W, Barnett AH, Kumar S. Modest weight loss and reduction in waist circumference after medical treatment are associated with favorable changes in serum adipocytokines. *Metabolism* 2004. 53:430-4
- Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, Molina A, Gomez JM, Gutierrez C, Simon I, Soler J, Richart C. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res* 2004. 12:962-71
- Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003. 112:1796-808
- Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001. 86:1930-5
- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001. 7:941-6

## 8. SEZNAM VLASTNÍCH PUBLIKACÍ

### Původní práce publikované v impaktovaných časopisech:

#### Práce které jsou podkladem dizertace:

Doležalová R., Haluzík M., Bošanská L., Lacinová Z., Štulc T., Haluzík M.: **Effect of PPAR-gama agonist treatment on markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus.** *Physiol. Res.* 2007; 56: 741-748. (IF 2,093), dosud citováno 3 x dle ISI Web of Knowledge

Doležalová R., Lacinová Z., Dolinková M., Kleiblová P., Haluzíková D., Housa D., Papežová H, Haluzík M.: **Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: comparison of circulating levels versus subcutaneous mRNA expression.** *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007 Nov; 67(5): 674-8. (IF 3.358), dosud citováno 7 x dle ISI Web of Knowledge

Celkový počet citací autorky: 37

#### Další původní práce v impaktovaných časopisech:

Anderlová K., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Haluzíková D., Kunešová M., Haluzík M.: **The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women.** *Physiol Res.* 2006; 55(3):277-83 (IF 2,093)

Anderlová K., Doležalová R., Housová J., Bošanská L., Haluzíková D., Křemen J., Škrha J., Haluzík M.: **The influence of ppar- alfa agonist fenofibrate on insulin sensitivity and selected adipose tissue-derived hormones in obese women with type 2 diabetes.** *Physiol Res.* 2007; 56(5):579-86 (IF 2,093)

Haluzík MM., Anderlová K., Doležalová R., Adamíková A., Haluzíková D., Housová J., Svačina Š., Haluzík M. **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):93-9 (IF 2,093)

Chytilová E., Malík J., Kasalová Z., Doležalová R., Štulc T, Češka R. **Lower wall shear rate of the common carotid artery in treated type 2 diabetes mellitus with metabolic syndrome.** *Physiol Res.* 2009; 58(2):185-91 (IF 2,093)

Křížová J., Dolinková M., Lacinová Z., Sulek Š., Doležalová R., Housová J., Krajičková J., Haluzíková D., Bošanská L., Papežová H., Haluzík M.: **Adiponectin and resistin gene polymorphisms in patients with anorexia nervosa and obesity and its influence on metabolic phenotype.** *Physiol Res.* 2008;57(4):539-46 (IF 2,093)

Štulc T., Kasalová Z., Krejčí H., Doležalová R., Česka R.: **Effect of rosiglitazone on homocysteine and creatinine levels in patients with type 2 diabetes.** Letter to Editor, *Atherosclerosis* 183 (2005) 367-368 (IF 3,777)

#### **Ostatní původní práce:**

Dolinková M., Křížová J., Lacinová Z., Doležalová R., Housová J., Krajičková J., Bošanská L., Papežová H., Haluzík M.: **Polymorphisms of adiponectin and resistin genes in patients with obesity and anorexia nervosa.** *Čas. Lék. čes.*, 2006, 145, p. 562–566

#### **Přehledné články:**

Doležalová R., Haluzík M.: **Metabolický syndrom a fyzická aktivita.** *Trendy soudobé diabetologie.* 2005, svazek 10

Doležalová R., Haluzík M.: **Metabolický syndrom a fyzická aktivita.** *DMEV* 2006, 2:63-68

Anderlová K., Doležalová R., Haluzík M.: **PPAR- $\alpha$  a inzulinová rezistence.** *DMEV* 2006 1:15-20

#### **Abstrakta:**

Doležalová R.: **Vliv VLCD na tukovou tkáň.** XII. kongres ČIS Praha, 10/2005

Doležalová R., Housová J., Anderlová K., Křížová J., Haluzíková D., Křemen J., Papežová H., Haluzík M.: **Serum adiponectin and resistin concentrations in patients with obesity and anorexia nervosa: relationship to nutritional status.** V. mezinárodní a mezioborová konference o poruchách příjmu potravy, Praha, 03/2005

Doležalová R., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na markery endoteliální dysfunkce u obézních žen a úloha endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu.** 7. SVK, Praha, 5/2006

Doležalová R., Anderlová K., Housová J., Bošanská L., Haluzíková D., Křemen J., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na markery endoteliální dysfunkce u obézních žen: možný podíl endokrinní funkce tukové tkáně.** 42. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2006

Doležalová R., Anderlová K., Housová J., Bošanská L., Škrha J., Haluzík M.: **The influence of PPAR- $\alpha$  agonist treatment on insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes: the role of resistin and adiponectin.** 42nd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Kodaň/Malmö, Dánsko/Švédsko, 9/2006

Doležalová R., Anderlová K., Housová J., Bošanská L., Kaválková P., Haluzíková D., Křemen J., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na markery endoteliální dysfunkce u obézních žen: možná úloha endokrinní funkce tukové tkáně.** Celostátní konference se zahraniční účastí Obezitologie, Brno, 11/2006

Doležalová R., Lacinová Z., Dolinková M., Kleiblová P., Haluzíková D., Mráz M., Housa D., Housová J., Papežová H., Haluzík M.: **Vliv chronické malnutrice u pacientek s mentální anorexií na endokrinní funkci tukové tkáně: disociace sérových koncentrací adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni.** VI. mezinárodní a mezioborová konference o poruchách příjmu potravy, Praha, 3/2007

Doležalová R., Lacinová Z., Dolinková M., Kleiblová P., Haluzíková D., Mráz M., Housa D., Housová J., Papežová H., Haluzík M.: **Vliv chronické malnutrice u pacientek s mentální anorexií na endokrinní funkci tukové tkáně: disociace sérových koncentrací adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni.** 43. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2007

Doležalová R., Lacinová Z., Dolinková M., Kleiblová P., Haluzíková D., Mráz M., Housa D., Housová J., Papežová H., Haluzík M.: **Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: dissociation of circulating adipokine levels vs. subcutaneous mRNA expression.** 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Amsterdam, Nizozemí, 9/2007

Anderlová K., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Haluzíková D., Kunešová M., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace leptinu, adiponectinu a rezistinu u obézních žen.** 41. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2005

Anderlová K., Křemen J., Doležalová R., Housová J, Haluzíková D, Kunešová M., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace leptinu, adiponectinu a rezistinu u obézních žen.** Dny mladých internistů, Olomouc, 05/2005

Anderlová K., Doležalová R., Housová R., Bošanská L., Jahodová J., Pavlovičová R., Houdek Z., Škrha J., Haluzík M.: **Vliv PPAR- $\alpha$  agonistů na inzulinovou senzitivitu.** 42. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2006

Antošová M., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Límanová Z., Kotrlíková E., Jiskra J.: **Nepoznaná primární hyperparatyreóza jako příčina chronické pankreatitidy.** 3. hradecký postgraduální kurz v endokrinologii, 5/2006

Bošanská L., Anderlová K, Doležalová R., Housová J., Jahodová J., Pavlovičová R., Škrha J., Haluzík M.: **Vliv PPAR- $\alpha$  agonistů na inzulinovou senzitivitu.** XXV. Dny mladých internistů, Martin, 5/2006

Bošanská L., Anderlová K., Doležalová R., Housová J., Jahodová J., Pavlovičová R., Škrha J., Haluzík M.: **Vliv PPAR- $\alpha$  agonistů na inzulinovou senzitivitu.** 7. SVK, Praha, 5/2006

Bošanská L., Lacinová Z., Doležalová R., Dolinková M., Mráz M., Roubíček T., Křemen M., Haluzíková D., Matoulek M., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhesivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.** XXVI. Dny mladých internistů, Olomouc, 5/2007

Bošanská L., Lacinová Z., Doležalová R., Jahodová J., Pavlovičová R., Čechová M., Haluzík M.: **Změny exprese cytoadhezivních molekul ve viscerální a subkutánní tukové tkáni obézních žen.** 43. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2007

Bošanská L., Lacinová Z., Doležalová R., Dolinková M., Mráz M., Roubíček T., Křemen M., Haluzíková D., Matoulek M., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhesivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.** 8. SVK Praha, 5/2007

Bošanská L., Lacinová Z., Doležalová R., Čechová M., Haluzík M.: **Changes of adhesion molecules plasma concentrations and their expression in adipose tissue in obese women.** 6th Congress European Federation of Internal Medicine - EFIM, Lisabon, Portugalsko, 2007

Dobiášová M., Vrablík M., Štulc T., Doležalová R., Kasalová Z., Zlatohlávek L., Češka R.: **Rosiglitazone and fenofibrate improve HDL metabolism assessed by FERHDL.** 77th Congress of the European Atherosclerosis Society, Istanbul, Turecko, 4/2008

Haluzík M., Doležalová R., Kleiblová P., Anderlová K., Křemen J., Haluzíková D., Papežová H., Lacinová Z.: **Vliv morbidní obezity a mentální anorexie na sérové koncentrace a genovou expresi adiponektinu a jeho receptoru.** XXVIII. Endokrinologické dny, Olomouc, 10/2005

Haluzík M., Anderlová K., Haluzíková D., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Kunešová M., Lacinová Z.: **The influence of very-low-caloric-diet on serum adiponectin and resistin levels in obese women.** 3rd World Congress on Insulin Resistance Syndrome. San Francisco, USA, 11/2005

Haluzík M., Bošanská L., Haluzíková D., Doležalová R., Roubíček T., Mráz M., Dolinková M., Matoulek M., Lacinová Z.: **The influence of very low calorie diet on serum concentrations and subcutaneous mRNA expression of endothelial cell adhesion molecules in obese, insulin-resistant women.** 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Amsterdam, Nizozemí, 9/2007

Haluzíková D., Doležalová R., Haluzík M., Bošanská L., Dolinková M., Lacinová Z., Štulc T.: **Effect of PPAR-gamma agonist treatment on markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus.** Diabetes and Vascular Disease Research, Velká Británie, 1479-1641. 2006, 3, s. 1130-1130. 4th Annual World Congress on Insulin Resistance Syndrome, Las Vegas, USA, 10/2006

Housová J., Doležalová R., Křížová J., Anderlová K., Křemen J., Haluzíková D., Papežová H., Jahodová J., Kleiblová P., Haluzík M.: **Expres hormonů tukové tkáně u morbidně obézních pacientek a pacientek s mentální anorexií.** 41. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2005

Chytilová E., Malík J., Kasalová Z., Doležalová R., Štulc T.: **Diabetes mellitus 2. typu je spojen s nižší hodnotou smykové rychlosti ve společné karotidě.** X. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2006



Chytilová E., Malík J., Kasalová Z., Doležalová R., Štulc T., Tuka V.:  
**Elastické vlastnosti stěny společných karotid u diabetiků.** X. kongres o  
ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2006

Chytilová E., Kasalová Z., Malík J., Doležalová R., Štulc T., Češka R.:  
**Adequately treated type 2 diabetes is associated with lower wall shear  
rate of the common carotid artery.** Arteriosclerosis, Thrombosis and  
Vascular Biology Annual Conference, Chicago, USA, 4/2007

Chytilová E., Malík J., Kasalová Z., Doležalová R., Housová J., Štulc T.:  
**Adequately treated type 2 diabetes is associated with lower wall shear  
rate of the common carotid artery.** 76 th Congress of the European  
Atherosclerosis Society, Helsinki, Finsko, 6/2007

Jiskra J., Antošová M., Křemen J., Doležalová R., Kotrlíková E.:  
**Myxedémové koma.** 3. hradecký postgraduální kurz v endokrinologii,  
5/2006

Jiskra J., Kotrlíková E., Křemen J., Doležalová R., Antošová M., Límanová  
Z.: **Myxedémové kóma – víme jak ho správně diagnostikovat a léčit?**  
XXIII. kongres SKVIMP, Hradec Králové, 3/2007

Kasalová Z., Štulc T., Krejčí H., Doležalová R., Perušičová J., Češka R.: **Vliv  
rosiglitazonu na hladinu homocysteinu a kreatininu u pacientů s diabetes  
mellitus 2.typu.** 41. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2005

Kasalová Z., Prázný M., Doležalová R., Krejčí H., Perušičová J., Malík J.,  
Štulc T., Vopálková L.: **Účinek rosiglitazonu na mikrovaskulární  
reaktivitu u diabetes mellitus 2.typu.** 41. diabetologické dny, Luhačovice,  
4/2005

Křemen J., Bláha J., Ellmerer M., Lindner J., Pieber T.R., Kopecký P.,  
Bošanská L., Suppan M., Kotrlíková E., Jiskra J., Doležalová R., Svačina Š.,  
Bodenlenz M., Mader J., Haluzík M.: **Srovnání arteriálních a  
intersticiálních koncentrací glukózy u pacientů v kritickém stavu.** XXIII.  
kongres SKVIMP, Hradec Králové, 3/2007

Malík J., Kasalová Z., Štulc T., Doležalová R., Šimek J., Housová J., Škrha  
J.: **Autonomní dysfunkce u diabetiků 2. typu a vliv rosiglitazonu.** IX.  
kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2005

Svobodová H., Štulc T., Kasalová Z., Doležalová R., Krejčí H., Marinov I., Češka R.: **Vliv rosiglitazonu na leukocytární expresi prozánětlivých a protrombogenních molekul u diabetiků.** IX. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2005

Svobodová H., Štulc T., Kasalová Z., Doležalová R., Krejčí H., Marinov I., Češka R.: **Effect of rosiglitazone on leukocyte expression of proinflammatory and prothrombotic molecules in patients with type 2 diabetes.** 76 th Congress of the European Atherosclerosis Society, Helsinki, Finsko, 6/2007

Štulc T., Kasalová Z., Doležalová R., Krejčí H., Melenovský V., Malík J., Kožich V., Češka R.: **Receptory PPAR, homocystein a renální funkce.** IX. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2005

**Ostatní:**

Doležalová R., Křemen J., Svačina Š., Haluzík M.: **Our Experience With 6th EU Framework Projects CLINICIP and HEALTH+ in Obesity Research and Treatment.** CEC-IDF Meeting, Belgrade, Serbia, 11/2006