

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**



**Inzulinorezistence a cholesterolový metabolismus u
obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu - vliv řízené
redukce hmotnosti.**

Jana Jiráčková

**Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program Vnitřní nemoci**

Hradec Králové

2016

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu Vnitřní nemoci na Katedře interních oborů Lékařské fakulty UK v Hradci Králové

Autor: MUDr. Jana Jiráčková
III. interní gerontometabolická klinika a Ústav klinické biochemie a diagnostiky Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Školitel: Doc. MUDr. Alena Šmahelová, Ph.D
III: interní gerontometabolická klinika Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Oponenti:

Obhajoba disertační práce se bude konat před komisí pro obhajoby doktorského studijního programu Vnitřní nemoci dnehodin v učebně č.
budova č....., Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Tato práce vznikla za podpory projektu MZ ČR-RVO (FNHK 00179906) a grantu Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví České republiky (IGA MZ ČR NT/12287-5/2011).

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel.495 816 131).

Prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu vnitřní nemoci.

Obsah	3
1. SOUHRN.....	4
2. SUMMARY.....	5
3. ÚVOD DO PROBLEMATIKY.....	6
4. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	9
5. METODIKA	10
6. VÝSLEDKY	13
7. DISKUZE	22
8. ZÁVĚR	25
9. POUŽITÁ LITERATURA	26
10.PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA	29

1. Souhrn

Úvod: Diabetes mellitus 1. typu, onemocnění charakterizované absolutní inzulínovou deficiencí, je spjat se zvýšenou absorpcí cholesterolu. Obezita je provázána sníženou inzulínovou senzitivitou, pro níž je naopak charakteristické zvýšení endogenní cholesterolové syntézy a pokles absorpce cholesterolu. Obézní diabetici 1. typu představují z metabolického hlediska zajímavou podskupinu charakterizovanou kombinací relativní a absolutní inzulínové nedostatečnosti. **Cíle:** Cílem práce bylo charakterizovat vztah inzulínové rezistence a vybraných markerů cholesterolového metabolismu u obézních diabetiků 1. typu a zhodnotit jejich dynamiku v průběhu definovaného redukčního a reedukačního programu. **Metodika:** Metabolické a antropometrické parametry obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu byly vstupně porovnány s kontrolní skupinou štíhlých diabetiků 1. typu. Dynamika sledovaných parametrů podskupiny obézních byla zachycena v průběhu redukčního programu - ve Fázi I (před intervencí), Fázi II (po týdenním hladovění za hospitalizace a po 3 týdnech s dietou o 150 g sacharidů/den) a ve III. Fázi (po následujících 11 měsících s dietou o 225g sacharidů/den). Ve Fázi I-III byly stanoveny vybrané metabolické a antropometrické parametry obézních pacientů. V plazmě bylo stanoveno základní lipidové spektrum, markery absorpce a syntézy cholesterolu (skvalen a vybrané necholesterolové steroly) a omentin-1 (viscerální adipokín). Ve Fázi I-II byla stanovena inzulínová rezistence a substrátová utilizace hyperinzulinemickým euglykemickým clampem s nepřímou kalorimetrií. Data jsou prezentována jako median (percentil 25%; 75%). **Výsledky:** V I Fázi redukčního programu byla nalezena signifikantní negativní korelace celkové spotřeby glukózy a markerů endogenní syntézy cholesterolu: u obézních diabetiků 1. typu (*lathosterol* $P=0.021$, *lathosterol/cholesterol* $P=0.012$) i štíhlých diabetiků 1. typu (*lathosterol* $P=0.024$). V průběhu I-II Fáze byly plazmatické hladiny adipokínu **omentinu-1** stabilní, ve III Fázi došlo k signifikantnímu ($P<0.001$) vzestupu. Hladina omentinu-1 signifikantně korelovala s lathosterolem ($P=0.033$) a poměrem campesterol/cholesterol ($P=0.02$).

Závěr: Nově byla definována negativní korelace markerů endogenní syntézy cholesterolu a spotřeby glukózy v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu u diabetiků 1. typu. Signifikantní vzestup omentinu-1 by mohl svědčit pro zvýšení inzulínové senzitivity ve Fázi I-III byla nalezena signifikantní negativní korelace plazmatického omentinu-1 a markerů endogenní syntézy cholesterolu.

2. Summary

Insulin resistance and cholesterol metabolism in obese patients with type 1 diabetes mellitus - impact of weight reduction.

Diabetes mellitus type 1 is characterized with an absolute insulin deficiency. Deterioration of cholesterol metabolism is well known in this disease, cholesterol absorption is typically elevated. Obesity, on the other hand, is accompanied with lower insulin sensitivity, that is known to increase cholesterol synthesis and decrease cholesterol absorption. Obese type 1. diabetics thus represent, from the metabolic view, an interesting combination of absolute and relative insulin deficiency. **Aims:** The aim of this study was to characterize relation of insulin resistance and representative markers of cholesterol metabolism in obese type 1 diabetics; and to characterise their dynamics during defined weight reduction programme. **Methods:** Methabolic and antropometric parameters of obese and lean patients with diabetes mellitus type 1. were compared one time (Phase I). The dynamics of followed parameters of subgroup of obese patients was characterized during the weight reduction programme in Phase I (before intervention), Phase II (after one week of fasting + three weeks on a diet with 150g saccharides per day) and in Phase III (after one year on a diet with 225 saccharides per day). In Phase I-III, anthropometric and methabolic parameters on obese patients were characterized. Basic lipid spectrum, markers of cholesterol synthesis and absorption (squalene and non-cholesterol sterols) and omentin-1 (visceral adipokine) were measured. In Phase I-II, insulin resistance and substrate utilisation were estimated via hyperinsulinemic euglycaemic clamp with indirect calorimetry. Data are presented as median (percentile 25%; 75%). **Results:** In Phase I significant negative correlation of glucose uptake and markers of endogenous cholesterol synthesis was found: in obese type 1. diabetics (*lathosterol* $P=0.021$, *lathosterol/cholesterol* $P=0.012$) as well as in lean type 1. diabetics (*lathosterol* $P=0.024$). In Phase I-II plasma omentin-1 was stable, however during Phase III significant elevation was found ($P<0.001$). Omentin-1 correlated with *lathosterol* ($P=0.033$) and *campesterol/cholesterol* ratio ($P=0.02$). **Conclusion:** Newly, negative correlation of markers of endogenous cholesterol synthesis with glucose uptake during hyperinzulinemic euglykemic clamp in type 1 diabetics was found. Elevation of plasmatic omentin-1 during Phase I-III, could be related to increase in insulin sensitivity. Significant negative correlation of omentin-1 and markers of endogenous cholesterol synthesis was found.

3. Úvod do problematiky

Diabetes mellitus 1. typu je onemocnění způsobené majoritně autoimunitní destrukcí β buněk pankreatu. Ačkoliv se nejedná o klasické dědičné onemocnění, v patogenezi se **genetické vlivy** uplatňují asi 50 %. Dědičnost diabetes mellitus 1. typu je silně asociována především s lokusy HLA II. třídy, HLA-DQ a HLA-DR. Patogenezi DM1 ovlivňuje také škála genů mimo skupinu HLA (např. Gen pro inzulin (*INS*), gen podílející se na regulaci aktivity T lymfocytů (*CTLA4*), atd.). Síla genetické predispozice do jisté míry odpovídá době klinické manifestace diabetes mellitus 1. typu. S vyšším věkem pacientů předpokládáme významnější vliv **negenetických faktorů**. Mezi často zmiňované iniciátory autoimunitní inzulinitis patří virové infekty (etio. např. *Enteroviry*). Rizikový faktor představuje též vyšší věk matek, prvorozenost, délka kojení, míra a doba expozice alergenům v dietě (kravské mléko atd.), deficit vitamínu D a další. Výsledkem nespecifického inzultu (např. virový infek) může být aktivace HLA systému, která následně může nastartovat **autoimunitní reakci** a to jednak ve formě nedestruktivní či destruktivní. *Destruktivní inzulinitis* probíhá preferenčně u geneticky predisponovaných jedinců a může dospět do stádia klinicky manifestního diabetu. Pro vznik a rozvoj autoimunitní inzulinitis je typická **produkce autoprotilátek**, které zřejmě samy o sobě nemají zásadní destrukční vliv na β buňky. V klinické praxi jsou jako součást diagnostiky běžně stanovovány protilátky proti inzulinu (IAA), dekarboxyláze kyseliny glutamové (anti-GAD65) a tyrozinokináze (anti IA2).

Obezita u pacientů s diabetes mellitus 1. typu představuje stav se zvýšenou inzulinovou rezistencí. K původní absolutní deficienci inzulinu se dle tohoto předpokladu přidává i relativní inzulinová nedostatečnost typická především pro pacienty s diabetes mellitus 2. typu. Proto se někdy setkáváme s neoficiálním označením této kombinované endokrinologicko-metabolické poruchy jako *tzv. double diabetes*. Obezita představuje nejen **kvantitativní**, především ale **kvalitativní** změnu tukové tkáně. Z *morfologického hlediska* dochází ke zvýšení počtu a velikosti adipocytů, zvyšuje se množství tukových depozit, typická je jejich infiltrace mononukleárními buňkami. Dochází k relativnímu snížení zásobení tukové tkáně neurovaskulárními strukturami. Ty navíc ztrácejí schopnost reakce na specifické podněty (příjem stravy, lačnění, atd.) (1). Zvyšuje se apoptotická destrukce buněk tukové tkáně. Zásadně důležitými změnami tukové tkáně jsou *změny sekreční*. V současnosti je známá celá škála adipokinů, jež působí prakticky na veškeré tkáně v lidském organismu. V základní ose lze adipokiny rozdělit na proinflatorní a antiinflatorní. Součástí předkládané práce je

charakteristika dynamiky významného antiinflamatorního viscerálního adipokinu omentinu-1 v průběhu redukčního programu u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu a její vztah k cholesterolovému metabolismu a inzulínové senzitivitě. **Omentin-1** je adipokin o 313 aminokyselinách, preferenčně produkováný stromálními buňkami viscerální tukové tkáně (2). Existuje ve dvou izoformách, přičemž omentin-1 představuje majoritní cirkulující homolog. Podobně jako adiponektin je omentin-1 aktivátorem AMPK, která je významným regulátorem endogenní syntézy cholesterolu. Podílí se na zvýšení vychytávání glukózy tkáněmi. Plazmatické hladiny omentinu-1 jsou všeobecně sniženy u inzulínrezistentních pacientů a negativně asociované s proinflamatorními markery. Na jejich supresi se podílí zvýšená hladina inzulínu a glukózy v krvi (3).

Metabolické změny tukové tkáně provází snížení citlivosti k inzulínu. **Inzulínová senzitivita** vyjadřuje míru schopnosti inzulínindependentních tkání využít inzulín k biologickému efektu. Zvýšená inzulínová rezistence naopak všeobecně charakterizuje stav, kdy je účinek inzulínu v tkáních nedostatečný. Na inzulínorezistenci u obézních se podílí několik etiopatogenetických faktorů. *Steatóza jater* provázená lokálním zvýšením počtu populace makrofágů, je považována za jeden ze zásadních faktorů účastnících se rozvoje systémové inzulínové rezistence (4). Časná *infiltrace* bílé tukové tkáně imunokompetentními buňkami je pro obezitu typická všeobecně (5). *Lipotoxicita* představuje další kontribuující faktor vzniku inzulínové rezistence. Zvýšené množství volných mastných kyselin interferuje se signalizačními drahami inzulínu. (6,7,8). Zároveň se excesivní množství lipidových partikulí podílí na nežádoucí intracelulární akumulaci především ve svalové a jaterní tkáni (9). Na rozvoj inzulínové rezistence má též neoddiskutovatelný vliv *střevní mikroflora* a její produkty uvolňované systémově. Vzestup inzulínorezistence zapříčiňuje pokles oxidace glukózy zpomalením vstupu pyruvátu do Krebsova cyklu. V játrech je vlivem vyšší hladiny laktátu akcentovaná glukoneogeneza. Klesá tvorba glycerol-3-fosfátu glykolýzou, což zasahuje tvorbu triacylglycerolů – mastné kyseliny jsou následně ve vysoké míře vyplavovány do cirkulace. V hypertrofické viscerální tukové tkáni dochází k akcentaci lipolýzy, což zvyšuje množství mastných kyselin v portálním systému. Jaterní tkáň následně podléhá sekundárním změnám podněcujícím zpětně další rozvoj inzulínorezistence. Zlatým standardem v přesném hodnocení inzulínové rezistence je vyšetření metodou *tzv. clampu*. Clampová technika byla poprvé pro experimentální praxi popsána v 70. letech 20. století texaským lékařem Ralphem De Fronzem (10). Obecný princip metody spočívá v dosažení a udržení požadovaného rozmezí glykémie za intravenózní kontinuální aplikace glukózy a inzulínu. Titrace probíhá změnou rychlosti infuze s glukózou na základě pravidelných

frekventních měření glykemie studijního subjektu. Při dosažení ustáleného stavu tzv. hodnota M ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) (průměrná spotřeba glukózy) odpovídá množství glukózy, které je organismus schopen pojmout za podmínek udržení cílové glykemie. Nejčastěji užívanou clampovou technikou je technika hyperglykemického clampu a hyperinzulinemického euglykemického clampu. Lze však provádět např. i clampy normo- či hypoglykemické. Hyperinzulinemický euglykemický clamp bývá často kombinován s **nepřímou kalorimetrií**. Kombinace těchto dvou metod poskytuje informace o substrátové utilizaci a převažujícím oxidativním/neoxidativním zpracování glukózy.

Pacienty zatížené vzestupem inzulinové rezistence charakterizují změny **metabolismu cholesterolu**, snížená absorpce cholesterolu a akcentace endogenní syntézy (11,12). Naopak pro inzulindependentní diabetes je typické snížení endogenní cholesterolové syntézy a zvýšená absorpce cholesterolu (13). Charakteristika cholesterolové absorpce a endogenní syntézy u podskupiny obézních diabetiků 1. typu s kombinovanou poruchou ve smyslu absolutního inzulinového deficitu a inzulinorezistence nebyla dosud prezentována. Zásadní pro množství cholesterolu je endogenní syntéza. Centrem syntézy cholesterolu jsou játra, byť mimojaterní produkce (kůra nadledvin, střevo, kůže) též není zanedbatelná. Jejím hlavním regulátorem je *HMG-CoA-reduktáza*, jeden z efektorových cílových hormonů regulujících metabolismu sacharidů - inzulinu a glukagonu. Inzulin aktivuje *HMG-CoA-reduktázu* a zvyšuje endogenní syntézu cholesterolu. Glukagon působí opačně, snižuje tedy produkci cholesterolu. K charakteristice endogenní cholesterolové syntézy a absorpce je v běžné experimentální praxi často užíváno stanovení plazmatických markerů. Plazmaticky stanovované prekurzory syntézy cholesterolu a steroly rostlinného původu (fytosteroly) nazýváme necholesterolové steroly. **Markery syntézy** (lathosterol, lanosterol, 7-dehydrocholesterol) jsou z buněk uvolňovány v neesterifikované formě (pouze neesterifikovaná forma methylsteroidů představuje marker (14)) rychlostí odpovídající biosyntéze. V praxi se užívá především poměr *lathosterol/cholesterol*, který je považován za vůbec nejpřesnější marker endogenní syntézy. Plazmatická hladina lathosterolu odpovídá aktivitě HMG-CoA reduktázy (15). Fytosteroly jsou základní stavební kameny buněčné stěny rostlin. V lidském organismu se netvoří, jejich plazmatická hladina proto vypovídá o míře **absorpce z diety** (16). Mezi nejčastěji užívanými markery patří *β -sitosterol* a *campesterol*.

Terapie obezity diabetiků 1. typu se v zásadě neliší od postupů užívaných u pacientů s diabetes mellitus 2. typu. V běžné ambulantní praxi je z hlediska dlouhodobé spolupráce a motivace pacienta příznivá jeho orientace na *komplexní zdravotní tematiku*, prevenci či zpomalení progresu komplikací s obezitou spojených, zlepšení celkové kondice fyzické i

psychosociální, zlepšení kvality života. Od pacienta vyžadujeme maximální snahu o *pravidelný denní režim* stejně jako schopnost *flexibilní úpravy inzulínu* v závislosti na fyzické a dietní zátěži. V ambulantní praxi se však nezdá se setkávat s neúspěchem a limitujícími rezervami především v dietním režimu. V rámci specializovaných pracovišť jsou proto s úspěchem plánované 7-14 denní hospitalizace obézních pacientů k reedukaci a iniciaci redukce při lékařem zvolené redukční dietě. Jako součást redukční terapie jinak obtížně řešitelných morbidně obézních diabetiků 2. typu může být také využito krátkodobého hladovění pacientů. Tento terapeutický postup byl hojně uplatňován především v minulých letech (17, 18), některá pracoviště jej využívají dodnes, byť jeho terapeutická aplikace bývá zdrojem jisté kontroverze. Souhrnem, data o terapeutickém využití krátkodobého hladovění prezentují zlepšení inzulínové senzitivity (19), zvýšení stresové kapacity organismu cestou rozvoje adaptačních mechanismů (20) a snížení kardiovaskulárního rizika (18). Odpůrci hladovění jako terapeutického postupu poukazují především na rozvoj akutní stresové reakce, fixovanou adaptací těla na nízký příjem potravy s charakteristicky prohloubenou tendencí k ukládání substrátů po ukončení hladovění. Z hlediska klinické praxe představuje hladovka nevýhodu v limitaci fyzické aktivity pacientů, je časově omezeným východiskem a sama o sobě přináší minimální edukační přínos. Její aplikace proto vyžaduje individuální přístup a pečlivé uvážení indikace, která je klíčová pro výsledný poměr benefit/riziko. Ačkoliv je v diabetologii intermitentní hladovění doménou u pacientů s diabetem 2. typu a experimentálně bylo s úspěchem aplikováno také u animálních modelů diabetu 1. typu (21, 22), u pacientů s inzulín-dependentním diabetem dosud nebyla tato metodika terapeuticky ani experimentálně uplatněna.

4. Cíle disertační práce

- 1/ Charakterizovat inzulínovou rezistenci a vybrané markery cholesterolového metabolismu u obézních diabetiků 1. typu a porovnat je s parametry podskupiny štíhlých diabetiků 1. typu.
- 2/ Charakterizovat dynamiku změn inzulínové senzitivity a vybraných markerů cholesterolového metabolismu obézních diabetiků 1. typu v průběhu redukčního programu.

3/ Charakterizovat vztah inzulinové senzitivity a vybraných markerů cholesterolového metabolismu u obézních a štíhlých diabetiků 1. typu.

4/ Charakterizovat dynamiku adipokunu omentinu-1 u obézních diabetiků 1. typu v průběhu redukčního programu.

5/ Charakterizovat vztah omentinu-1 k cholesterolovému metabolismu u obézních diabetiků 1. typu.

6/ Zhodnotit efektivitu definovaného designu redukčního programu (především ve vztahu k možnosti využití kontrolovaného minimalizovaného perorálního příjmu) pro obézní diabetiky 1. typu.

5. Metodika

Studie byla schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice Hradec Králové. Proběhla v souladu se správnou klinickou praxí a Helsinskou deklarací. Jednalo se o monocentrickou prospektivní intervenční studii, jejímž cílem bylo charakterizovat změny v inzulinorezistenci a cholesterolovém metabolismu obézních diabetiků 1. typu v průběhu definovaného redukčního programu. Studie probíhala v Diabetologickém centru III. Interní gerontometabolické kliniky FNHK, z jejíhož registru byli pacienti rekrutováni. Zahrnovala celkem 28 studijních subjektů rozdělených do dvou skupin (14 subjektů k intervenci x 14 kontrolních subjektů):

1. Obézní pacienti s diabetes mellitus 1. typu (n=14, BMI > 30kg/m², věk 29-62 let, muži/ženy~ 9/5)
2. Štíhlí pacienti s diabetes mellitus 1. typu (n=13, BMI < 25, věk 21–57 let, muži/ženy~ 8/5)

Obě skupiny subjektů byly komparované v průběhu Fáze I. redukčního programu. Podskupina obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu byla dále intervenována redukčním programem a sledována v průběhu Fází II-III, v celkové délce 12 měsíců. Podpis informovaného souhlasu proběhl před zahájením veškerých studijních procedur. Po podpisu informovaného souhlasu byli pacienti plánovaně přijati k hospitalizaci.

FÁZE I: V den přijetí bylo od 18:00 zahájeno kompletní lačnění. Pacientům byly ponechány dávky bazálního inzulinu, za frekventních kontrol glykemie a ketonemie (4x denně). Následující den ráno (7:00-7:30 hod) bylo provedeno měření hmotnosti a výšky, obvodu pasu,

měření složení tělesné kompozice a nepřímá kalorimetrie. Následně byl proveden iniciální krevní odběr a zavedeny dvě flexily pro potřeby hyperinzulinového euglykemického clampu zahájeného v čase 7:30-8.00 hod. **BMI** bylo vypočteno jako hmotnost (kg)/výška (m^2). **Měření tělesné kompozice** probíhalo pomocí přístroje BCM (Body composition monitor, Fresenius Medical Care, Německo). Energetický výdej (EV) byl stanoven metodou **nepřímé kalorimetrie**. K měření byl využit počítačem řízený metabolický monitor vybavený modulem pro měření výměny plynů, spirometrický snímač, trubice s konektory a ventilovaná kanopa (VMAX, Sensormedics, Anaheim, USA). Doba jednotlivých měření byla 20 minut. Měření nepřímé kalorimetrie probíhala v čase 0, 120 a v 360té minutě hyperinzulinemického euglykemického clampu. **Hyperinzulinemický euglykemický dvoustupňový clamp** byl prováděn po dobu 6ti hodin ve dvou fázích (0-120 min, 120-360 min). V časných ranních hodinách byly pacientům zavedeny 2 flexily na nedominantní končetině. K rychlému navození požadované hyperinzulinemie ($75 \mu U \cdot ml^{-1}$) byla v průběhu prvních 10 minut aplikována dávka $2 mU \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ inzulínu, následně byla dávka snížena na udržovacích $1 mU \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ (0-120 minut). V průběhu 2. stupně clampu (120-360 min) bylo aplikováno $10 mU \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$, opět s úvodní (10 min) dvojnásobnou dávkou. *Kontinuální infuze glukózy* byla zahájena ve 4. minutě klampu rychlostí $2 mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ (10, 23). *Krevní odběry* v průběhu hyperinzulinového euglykemického clampu byly prováděny á 10 minut z kanyly umístěné na dorzu ruky. Glykemie byly stanoveny glukózooxidázovou reakcí glukometrem Precision Pcx (AbbottLaboratoires, Illinois, USA). *Hodnota M* (spotřeba glukózy) byla stanovena v 80-120 a 320-360 minutě. Pro kalkulaci substrátové utilizace byly stanoveny ztráty urey do moči. Sběr moči probíhal v algoritmu: bazální perioda: -120-0 min, perioda I: 0-120 min, perioda II: 120-360 min (24,25). Po ukončení clampu bylo pokračováno v aplikaci výchozí dávky glukózy po dobu 20 minut. Dále byla rychlost infuze snížena na polovinu a ponechána ještě přibližně 2 hodiny – dle vývoje glykemií. Pacienti zahájili standardní perorální příjem.

FÁZE II: V průběhu následujících sedmi dní hospitalizace byl perorální příjem pacientů minimalizován. Pacienti nadále lačnili za aplikace bazálních dávek inzulínu. Po tuto dobu byl pacientům podáván denně hypotonický nápoj POWERline (Isoline, Česká republika) 1 litr/den; B-komplex (Zentiva, Česká republika) 1 tableta denně; Celaskon (Zentiva, Česká republika) 1 tableta denně; Anacid (TEVA, Česká republika) 3 suspenze denně. Glykemie byly denně kontrolovány 4x (ráno, v poledne, večer, před spaním), ketolátky 2x denně (ráno, večer). Současně probíhala dietní reedukace pacientů pro domácí režim diabetické diety se

150 g sacharidů/den (1200 kcal, 75 g bílkovin, 40 g tuku). Po sedmi dnech minimalizovaného perorálního příjmu byli pacienti pro zpětnou adaptaci a úpravu inzulinoterapie převedeni na redukční diabetickou dietu se 150 g sacharidů/den. Následně byli dimisováni do domácích podmínek (celková délka hospitalizace 9-12 dní). S odstupem 4 týdnů byla zopakována krátkodobá hospitalizace k provedení kontrolních vyšetření. Ve shodném algoritmu bylo provedeno antropometrické měření, měření BCM, nepřímá kalorimetrie, hyperinzulinemický euglykemický clamp i krevní odběry. Pacienti byli reedukováni a převedeni na diabetickou dietu s 225 g sacharidů/den (1650 kcal, 75 g bílkovin, 50 g tuku).

FÁZE III: V průběhu 11 měsíců od dimise, byli pacienti sledováni studijním lékařem ambulantně. Pravidelné kontroly probíhaly á 10 ± 1 týdnů. Pacienti byli nadále motivováni k dodržování dietních a racionálních režimových doporučení. Po 12 měsících od počátku programu bylo provedeno kontrolní antropometrické měření, měření BCM a laboratorní testy.

1/ Odběry prováděné nalačno ve fázi I, II, III: Základní biochemické vyšetření /mineralogram, renální a jaterní soubor, CRP/: Vzorby byly analyzovány na přístroji (Modular Analytics, Roche, Basel, Switzerland). Odběr a analýza pro vyšetření glykovaného hemoglobinu: Vzorby byly analyzovány metodou HPLC (Variant II Turbo, Bio-Rad, Laboratoires GmbH, California, USA). Odběr a analýza pro vyšetření celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu a TAG: Vzorby byly analyzovány na přístroji Modular Analytics (Roche, Basilej, Švýcarsko). Odběr k analýze sterolů: Vzorby byly analyzovány metodou plynové chromatografie na přístroji GC 8000 series FISON Instruments - IPSWICH (Velká Británie). Stanovení plazmatických hladin omentinu-1: Plazmatické hladiny omentinu-1 byly stanoveny u podskupiny obézních metodou ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, BioVendor, Heidelberg).

2/ Krevní vzorky odebírané v průběhu hyperinzulinového euglykemického klampu (I. a II. fáze á 60 minut): Imunoreaktivní inzulin byl stanoven metodou RIA (Radioimunoassay, Insulin IRMA kit, Immunotech, Praha, ČR) á 60 minut

Data byla statisticky zpracována softwarem Sigma Stat (systat software, USA). Data byla testována dle distribuce. Data byla zpracována T-testem/One way ANOVA, při abnormální distribuci dat byl použit Mann Whitneyův test (ANOVA). Podobně, s ohledem na charakter dat, bylo provedeno testování korelace (Spearmanův test). Data jsou prezentována jako median (25 %; 75 %). Grafy byly tvořeny v programu SIGMASTAT a Excel.

6. Výsledky

Všichni pacienti zahrnutí do studijního hodnocení dokončili studijní program. Během redukčního programu nebyla zaznamenána žádná závažná zdravotní komplikace.

FÁZE I - Charakteristika studijních skupin

Vstupní charakteristika podskupiny diabetiků 1. typu obézních (n=14, BMI > 30 kg/m², věk 29-62 let, muži/ženy ~ 9/5) a štíhlých (n=13, BMI < 24, věk 21–57 let, muži/ženy ~ 8/5) byla porovnána (Tab. 1). Ze vstupních dat jsou patrné signifikantní ($P < 0.001$) odlišnosti především v tělesné kompozici, v ostatních porovnávaných parametrech (kompenzace diabetu, terapeutická dávka inzulínu) jsou podskupiny srovnatelné (Tab. 1).

	Štíhlí	Obézní – Fáze I	Signifikance
Věk (roky)	36 (23; 47)	43 (36; 46)	NS
Trvání diabetu (roky)	10 (7; 15)	19 (10; 26)	NS
BMI (kg/m²)	22.5 (20.8; 23.8)	33.2 (32.4; 33.6)	* $P \leq 0.001$
Obvod pasu (cm)	84 (78; 90)	108 (105; 110)	* $P \leq 0.001$
HbA1c (% IFCC)	7.5 (5.7; 8.1)	5.8 (5.5; 6.6)	NS
Množství inzulínu za den (IU)	46.0 (40.0; 58.0)	50.0 (39.3; 54.0)	NS
Lean tissue mass (kg)	52.4 (39.8; 59.9)	49.0 (39.1; 57.0)	NS
Relativní množství LTM (%)	71.8 (60.9; 82.3)	49.4 (43.1; 58.9)	* $P \leq 0.001$
Lean tissue index (kg/m²)	16.1 (14.3; 19.3)	16.5 (13.1; 18.0)	NS
Fat tissue mass (kg)	13.6 (9; 17.4)	35.8 (33.4; 40.4)	* $P \leq 0.001$
Relativní množství FTM (%)	20.9 (12.8; 26.4)	36.5 (33.4; 41.4)	* $P \leq 0.001$
Fat tissue index (kg/m²)	5.9 (3.7; 9.2)	16.1 (14.8; 16.9)	* $P \leq 0.001$
Adipose tissue mass (kg)	18.6 (12.3; 23.6)	48.7 (45.3; 54.9)	* $P \leq 0.001$

Tabulka 1. Vstupní charakteristika skupiny obézních a štíhlých diabetiků 1. typu

Legenda: BMI – body mass index, HbA1c – glykovaný hemoglobin (%), IFCC – International federation of clinical chemistry ; NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance

FÁZE I - Metabolismus cholesterolu

U obou studijních podskupin pacientů s diabetes mellitus 1. typu bylo vstupně stanoveno lipidové spektrum a vybrané markery cholesterolového metabolismu (Tab. 2). U podskupiny obézních pacientů byly zaznamenány signifikantně vyšší ($P < 0.05$) hladiny *campesterolu* a poměru *campesterol/cholesterol*.

	Štíhlí	Obézní – Fáze I	Signifikance
Celkový cholesterol (mmol/l)	5.2 (4.5; 5.5)	4.9 (4.4; 5.6)	NS
High-density lipoprotein cholesterol (mmol/l)	1.6 (1.3; 1.6)	1.3 (0.97; 1.6)	NS
Low-density lipoprotein cholesterol (mmol/l)	2.9 (2.6; 3.5)	3.4 (2.3; 3.7)	NS
Triacylglyceroly (mmol/l)	1.2 (1.0; 1.3)	1.3 (1.0; 1.6)	NS
Skvalen (μmol/l)	2.1 (1.9; 2.5)	2.1 (1.2; 2.4)	NS
Lathosterol (μmol/l)	6.6 (3.1; 8.9)	8.2 (6.5; 10.3)	NS
Campesterol (μmol/l)	9.5 (5.5; 11.3)	13.5 (7.9; 16.5)	* $P < 0.05$
Sitosterol (μmol/l)	9.2 (7.6; 11.9)	8.1 (6.9; 11.8)	NS
Lathosterol/cholesterol (μmol/mmol)	1.3 (0.6; 2.2)	1.5 (1.3; 2.3)	NS
Campesterol/cholesterol (μmol/mmol)	1.8 (1.3; 2.4)	2.5 (1.6; 3.5)	* $P = 0.032$
Sitosterol/ cholesterol (μmol/mmol)	1.9 (1.5; 2.2)	1.8 (1.0; 2.1)	NS

Tabulka 2 Vstupní charakteristika vybraných markerů cholesterolového metabolismu obézních a štíhlých diabetiků 1. typu. Legenda: NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance

FÁZE I - Hyperinzulinemický euglykemický clamp

Nepřímá kalorimetrie byla provedena v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu v čase 0, 120 min a 360 min. Respirační kvocient podskupiny obézních na konci 1. stupně clampu byl signifikantně nižší ($p = 0.043$) v porovnání se skupinou štíhlých diabetiků 1. typu. Signifikantní vzestup RQ byl zachycen v čase 0-360 min, pro podskupinu štíhlých ($P = 0.007$) i obézních ($P = 0.001$) pacientů s diabetes mellitus 1. typu. Nebyl nalezen signifikantní rozdíl ve velikosti vzestupu RQ obou podskupin.

Dvoustupňový hyperinzulinemický euglykemický clamp byl proveden v průběhu 360 minut. Výstupní data byla zaznamenána na konci prvního (80-120 minut) a druhého stupně clampu (320-360 minut) (Tab. 3).

	Štíhlí	Obézní – Fáze I	Signifikance
Spotřeba glukózy ($M; mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	6.9 (5.8; 7.1)	5.0 (4.0; 6.0)	P<0.05
Oxidativní spotřeba glukózy ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	2.5 (2.2; 3.0)	1.4 (1.3; 1.8)	P<0.05
Neoxidativní spotřeba glukózy ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	3.8 (3.4; 4.5)	3.3 (2.8; 4.0)	NS
Spotřeba glukózy ($M; mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	12.1 (11.0; 13.1)	9.5 (9.1; 10.2)	P<0.05
Oxidativní spotřeba glukózy ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	2.9 (2.7; 4.3)	2.7 (2.6; 3.3)	NS
Neoxidativní spotřeba glukózy ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	8.3 (7.4; 9.3)	6.5 (5.9; 7.4)	P<0.05

Tabulka 3. Výstupní data dvoustupňového hyperinzulinemického euglykemického clampu obézních a štíhlých diabetiků I. typu v čase 120 a 360 minut. Legenda: rozlišení času kalorimetrie charakterizují barevně odstupňovaná pásma – světle zelená /čas 0/, jasně zelená /čas 120 min/, tmavě zelená /čas 360 min/; NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance.

V obou stupních hyperinzulinemického euglykemického clampu byla u podskupiny obézních pacientů zaznamenána signifikantně nižší spotřeba glukózy v porovnání s kontrolní podskupinou štíhlých diabetiků I. typu. V 1. stupni obézní pacienty charakterizovala signifikantně nižší oxidativní spotřeba glukózy, ve 2. stupni potom nižší neoxidativní spotřeba glukózy v porovnání se štíhlými.

FÁZE I – III Charakteristika studijní skupiny

Podskupina obézních diabetiků I. typu byla charakterizována v průběhu 3 fází redukčního programu (Tab. 4). Ve II Fázi programu došlo k signifikantnímu poklesu BMI i obvodu pasu pacientů. Signifikantní rozdíl v porovnání se vstupními parametry zůstal zachován do konce Fáze III, nebyly však zaznamenány statisticky významné změny v tělesné kompozici. V průběhu programu bylo dále zaznamenáno signifikantní snížení denní terapeutické dávky inzulínu (v průměru o 20 %). Glykovaný hemoglobin ve III Fázi významně vzrostl v porovnání s Fází I.

	Obézní – Fáze I	Obézní – Fáze II	Obézní – Fáze III	Sig. I vs II	Sig. I vs III
Věk (roky)	43 (36; 46)	-	-	-	-
Trvání diabetu (roky)	19 (10; 26)	-	-	-	-
BMI (kg/m ²)	33.2 (32.4; 33.6)	31.5 (30.4; 32.2)	32.7 (31.6; 32.9)	*P≤0.001	*P≤0.001
Obvod pasu (cm)	108 (105; 110)	103 (94; 106)	105 (92; 110)	*P≤0.001	*P<0.05
HbA1c (% IFCC)	5.8 (5.5; 6.6)	5.7 (5.1; 6.2)	6.6 (6.1; 6.9)	NS	*P<0.05
Množství inzulínu za den (IU)	50.0 (39.3; 54.0)	37.5 (32.0; 40.3)	42.0 (39.3; 51.0)	*P≤0.001	*P≤0.001
Lean tissue mass (kg)	49.0 (39.1; 57.0)	49.5 (41.0; 51.0)	46.6 (37.9; 49.5)	NS	NS
Relativní množství LTM (%)	49.4 (43.1; 58.9)	53.8 (49.3; 56.0)	51.5 (42.9; 53.8)	NS	NS
Lean tissue index (kg/m ²)	16.5 (13.1; 18.0)	16.7 (13.6; 17.6)	16.6 (14.0; 17.8)	NS	NS
Fat tissue mass (kg)	35.8 (33.4; 40.4)	32.5 (29.2; 35.3)	34.4 (30.8; 40.2)	NS	NS
Relativní množství FTM (%)	36.5 (33.4; 41.4)	34.4 (32.2; 37.2)	34.4 (34.2; 40.9)	NS	NS
Fat tissue index (kg/m ²)	16.1 (14.8; 16.9)	14.4 (13.5; 15.7)	15.3 (14.1; 17.8)	*P<0.05	NS
Adipose tissue mass (kg)	48.7 (45.3; 54.9)	44.2 (39.7; 48.0)	46.8 (41.9; 54.7)	NS	NS

Tabulka 4. Charakteristika podskupiny obézních diabetiků I. typu v průběhu redukčního programu (Fáze I, II, III). Legenda: BMI – body mass index, HbA1c – glykovaný hemoglobin (%), IFCC – International federation of clinical chemistry; NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance

FÁZE I – III Metabolismus cholesterolu a omentin-1

V průběhu redukčního programu bylo charakterizováno lipidové spektrum a vybrané markery cholesterolového metabolismu. V I-II Fázi programu došlo ke snížení celkového cholesterolu a LDL-cholesterolu, v I-III Fázi stoupla signifikantně hladina HDL-cholesterolu. V průběhu I-III Fáze bylo dále zaznamenáno významné snížení lathosterolu, poměru lathosterol/cholesterol, campesterolu a poměru campesterol/cholesterol (Tab. 5).

V průběhu I-II Fáze byly plazmatické hladiny adipokinu **omentinu-1** stabilní ((5.31 (3.72; 6.49) - 5.05 (3.91; 7.32) ng/ml), ve III Fázi došlo k signifikantnímu (P<0.001) vzestupu (9.74 (9.11; 10.98) ng/ml). Nebyla prokázána statisticky významná asociace plazmatických hladin omentinu-1 s BMI, HbA1c ani s parametry tělesné kompozice. Hladina omentinu-1 signifikantně korelovala s FFA, plazmatickým HDL-cholesterolem, triacylglyceroly a vybranými markery cholesterolového metabolismu: markery syntézy (lathosterol, lathosterol/cholesterol) a absorpčními markery (campesterol) (Tab. 6).

	Obézní pacienti – Fáze I	Obézní – Fáze II	Obézní – Fáze III	Sig. I vs II	Sig. I vs III
Celkový cholesterol (mmol/l)	4.95 (4.39; 5.57)	4.10 (3.88; 5.03)	4.91 (4.28; 5.47)	*P<0.05	NS
High-density lipoprotein cholesterol (mmol/l)	1.30 (0.97; 1.59)	1.14 (1.03; 1.39)	1.49 (1.15; 2.01)	NS	*P<0.05
Low-density lipoprotein cholesterol (mmol/l)	3.35 (2.30; 3.70)	2.45 (2.02; 3.23)	2.71 (2.24; 3.11)	*P<0.05	NS
Triacylglyceroly (mmol/l)	1.28 (1.03; 1.59)	1.04 (0.91; 1.68)	0.83 (0.63; 1.41)	NS	NS
Squalen (μmol/l)	2.05 (1.23; 2.41)	2.09 (1.80; 2.51)	1.49 (0.60; 2.84)	NS	NS
Lathosterol (μmol/l)	8.15 (6.46; 10.25)	9.37 (7.55; 9.80)	5.44 (2.44; 6.09)	NS	*P≤0.001
Campesterol (μmol/l)	13.53 (7.96; 16.46)	8.46 (6.22; 11.76)	5.68 (4.15; 7.53)	*P<0.05	*P<0.05
Sitosterol (μmol/l)	8.08 (6.87; 11.76)	5.66 (4.61; 9.51)	7.42 (4.24; 8.70)	*P<0.05	NS
Lathosterol/cholesterol (μmol/mmol)	1.45 (1.28; 2.25)	1.82 (1.41; 2.37)	0.99 (0.53; 1.36)	*P<0.05	*P<0.05
Campesterol/cholesterol (μmol/mmol)	2.48 (1.56; 3.49)	1.88 (1.75; 2.89)	1.10 (0.95; 1.37)	*P=0.032	*P≤0.001
β-sitosterol/ cholesterol (μmol/mmol)	1.77 (1.01; 2.12)	1.48 (0.98; 1.75)	1.46 (0.87; 1.97)	NS	NS

Tabulka 5. Charakteristika lipidového spektra a vybraných markerů cholesterolového metabolismu podskupiny obézních diabetiků I. typu v průběhu redukčního programu (Fáze I, II, III). NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance.

Omentin (ng/ml)	Spearmanův test	
	r	P-hodnota
Celkový cholesterol (mmol/l)	0.081	0.62
HDL cholesterol (mmol/l)	0.44	0.005
LDL cholesterol (mmol/l)	- 0.20	0.231
Triacylglyceroly (mmol/l)	-0.41	0.011
Skvalen (μmol/l)	-0.073	0.66
Lathosterol (μmol/l)	-0.34	0.033
Campesterol (μmol/l)	-0.32	0.05
Sitosterol (μmol/l)	-0.23	0.17
Lathosterol/cholesterol(μmol/mmol)	-0.32	0.05
Campesterol/cholesterol (μmol/mmol)	-0.37	0.02
Sitosterol/cholesterol (μmol/mmol)	-0.18	0.28
Skvalen/cholesterol (μmol/mmol)	-0.13	0.42
Volné mastné kyseliny (mmol/l)	-0.34	0.041

Tabulka 6. Parametry korelace plazmatických hladin omentinu-1 a vybraných markerů cholesterolového metabolismu u obézních diabetiků I. typu. Legenda: P- p-hodnota, signifikance; r - korelační koeficient.

FÁZE I – III Hyperinzulinemický euglykemický clamp

Nepřímá kalorimetrie byla u podskupiny obézních diabetiků 1. typu provedena v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu v čase 0, 120 min a 360 min pro Fázi I a II redukčního programu (Tab. 14). Respirační kvocient pro II Fázi v čase 0 byl signifikantně ($P = 0.019$) nižší v porovnání s Fází I. Nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v ostatních výstupních parametrech nepřímě kalorimetrie. V obou sledovaných fázích došlo k signifikantnímu vzestupu RQ v průběhu clampu v minutě 0-360. Pro Fází I ($P = 0.001$) a II ($P = 0.001$). Vzestup RQ v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu ve II Fází byl signifikantně ($P = 0.045$) vyšší v porovnání ze vzestupem RQ v I Fází redukčního programu.

Dvoustupňový hyperinzulinemický euglykemický clamp byl proveden v průběhu 360 minut. Výstupní data byla zaznamenána na konci 1. (80-120 minut) a 2. stupně clampu (320-360 minut) (Tab.7). V 1. stupni clampu byl zaznamenán signifikantní pokles oxidativní spotřeby glukózy u obézních pacientů v II Fází redukčního programu.

	Obézní pacienti – I	Obézní pacienti – II	Signifikance
Spotřeba glukózy ($M; mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	5.0 (4.0; 6.0)	4.6 (4.5; 5.0)	NS
Oxidativní spotřeba glukózy ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	1.4 (1.3; 1.8)	1.1 (0.84; 1.4)	* $P < 0.05$
Neoxidativní spotřeba glukózy ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	3.3 (2.8; 4.0)	3.6 (3.2; 3.8)	NS
Spotřeba glukózy ($M; mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	9.5 (9.1; 10.2)	9.3 (8.6; 10.0)	NS
Oxidativní spotřeba glukózy ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	2.7 (2.6; 3.3)	2.9 (2.2; 3.2)	NS
Neoxidativní spotřeba glukózy ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	6.5 (5.9; 7.4)	6.3 (5.7; 7.0)	NS

Tabulka 7. Výstupní data dvoustupňového hyperinzulinemického euglykemického clampu v čase 120 a 360 minut u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu - Fáze I a II. Legenda: Stupně clampu charakterizují barevně odstupňovaná pásma; NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance.

FÁZE I – III Inzulinová rezistence a cholesterolový metabolismus

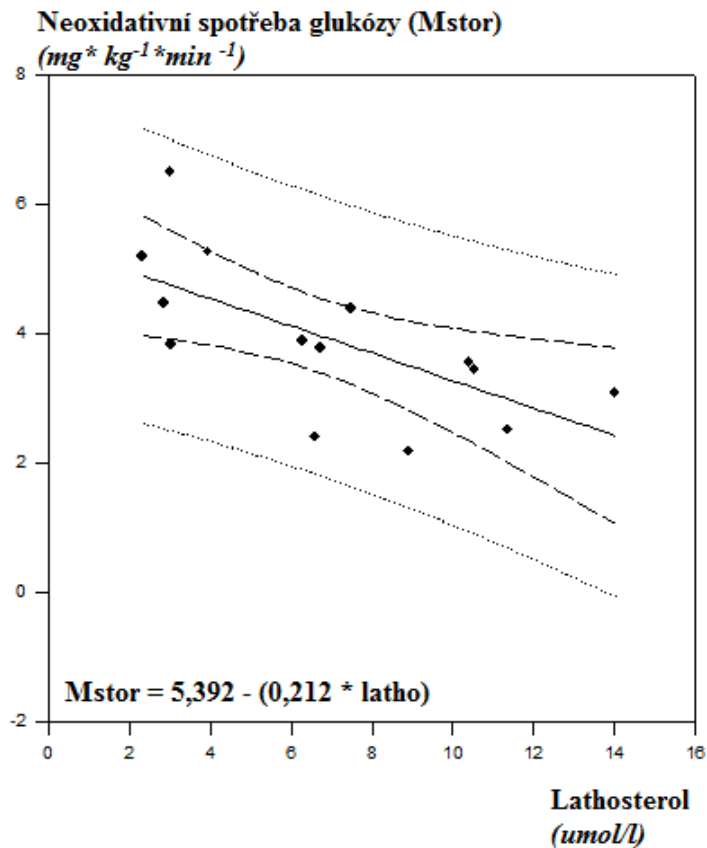
V I. fázi redukčního programu byl definován vztah lipidového spektra a vybraných markerů cholesterolového metabolismu k výstupním hodnotám spotřeby glukózy ve 120 minutě (1. stupeň) hyperinzulinemického euglykemického clampu (Tab.8).

	Spearmanův test			
	M (obézní)		M (štíhlí)	
	r	P hodnota	r	P hodnota
Celkový cholesterol (mmol/l)	-0.18	0.53	0.611	0.25
HDL - cholesterol (mmol/l)	0.27	0.35	0.13	0.66
LDL - cholesterol (mmol/l)	-0.26	0.37	0.59	0.089
Triacylglyceroly (mmol/l)	-0.14	0.63	0.14	0.63
Lathosterol (μmol/l)	-0.60	0.021	-0.62	0.024
Campesterol (μmol/l)	0.24	0.39	0.066	0.82
Sitosterol (μmol/l)	0.26	0.36	0.18	0.54
Lathosterol/cholesterol	-0.65	0.012	-0.54	0.054
Campesterol/cholesterol	0.20	0.48	-0.09	0.75
Sitosterol/cholesterol	0.28	0.32	0.30	0.30
Skvalen (μmol/l)	-0.037	0.892	-0.56	0.046

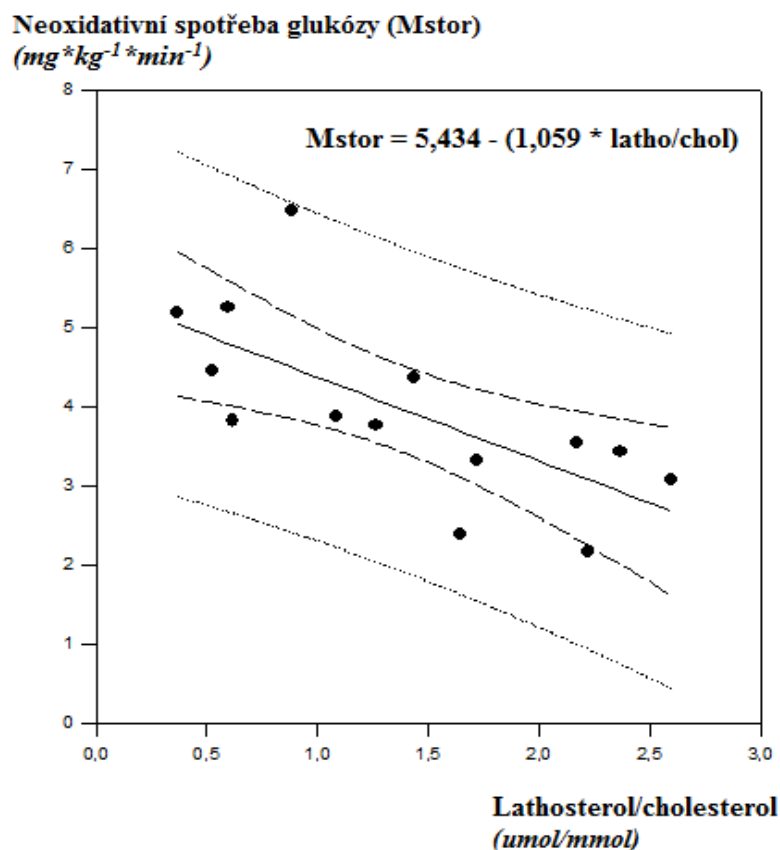
Tabulka 8. Parametry korelace plazmatických markerů cholesterolového metabolismu a lipidového spektra s výstupní hodnotou M (spotřeba glukózy) v 1. stupni hyperinzulinemického euglykemického clampu ve Fázi I u obézních a štíhlých diabetiků 1. typu. Legenda: r – korelační koeficient.

V I Fázi redukčního programu byla nalezena signifikantní negativní korelace celkové spotřeby glukózy (M) a markerů endogenní syntézy cholesterolu: u skupiny obézních diabetiků 1. typu - lathosterol ($r = -0.60$, $P = 0.021$), lathosterol/cholesterol ($r = -0.012$, $P = 0.012$) i podskupiny štíhlých diabetiků 1. typu - lathosterol ($r = -0.62$, $P = 0.024$). U obou studijních podskupin byla nalezena signifikantní korelace markerů endogenní syntézy cholesterolu s neoxidativní spotřebou glukózy na konci 1. stupně clampového vyšetření. Vztah poměru lathosterol/cholesterol a neoxidativní spotřeby glukózy byl charakterizován lineární regresí (Obr. 2-5).

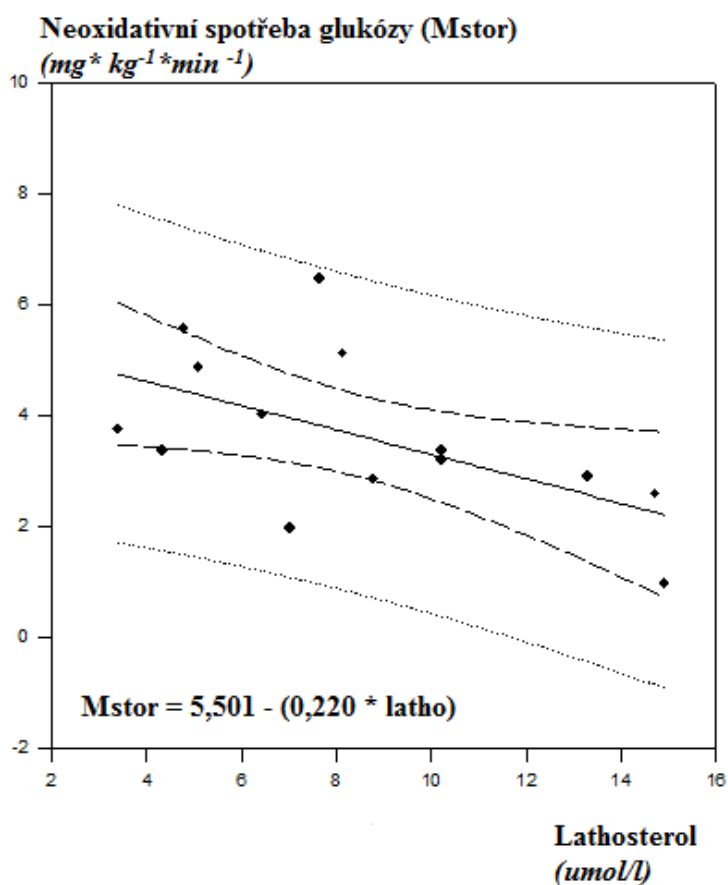
Všichni pacienti tolerovali sedmidenní periodu hladovění za hospitalizace dobře, nebyla zaznamenána závažná komplikace.



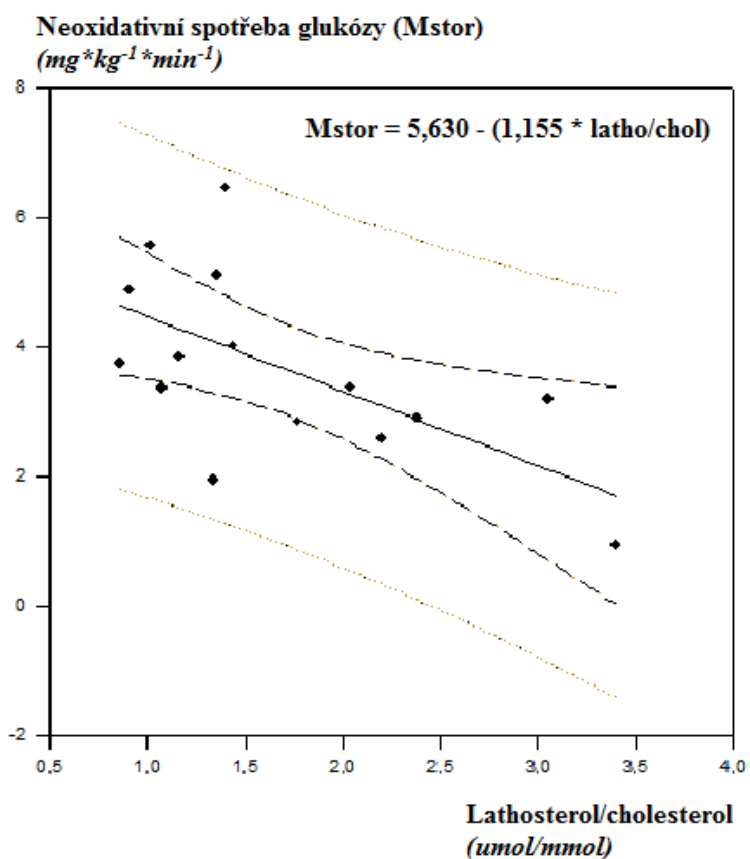
Obrázek 2. Negativní signifikantní ($P = 0.018$, $r^2 = 0.41$) lineární regrese lathosterolu a neoxidativní spotřeby glukózy na konci 1. stupně hyperinzulinemického euglykemického clampu štíhlých pacientů s diabetes mellitus 1. typu. Legenda: r – korelační koeficient, P – p hodnota signifikance



Obrázek 3. Negativní signifikantní ($P = 0.009$, $r^2 = 0.48$) lineární regrese poměru lathosterol/cholesterol a neoxidativní spotřeby glukózy na konci 1. stupně hyperinzulinemického euglykemického clampu štíhlých pacientů s diabetes mellitus 1. typu. Legenda: r – korelační koeficient, P – p hodnota signifikance.



Obrázek 4. Negativní signifikantní ($P = 0.036$, $r^2 = 0.32$) lineární regrese poměru lathosterol/cholesterol a neoxidativní spotřeby glukózy na konci 1. stupně hyperinzulinemického euglykemického clampu obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu ve fázi I redukčního programu. Legenda: r – korelační koeficient, P – p hodnota signifikance.



Obrázek 5. Negativní signifikantní ($P < 0.001$, $r^2 = 0.38$) lineární regrese poměru lathosterol/cholesterol a neoxidativní spotřeby glukózy na konci 1. stupně hyperinzulinemického euglykemického clampu obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu ve fázi I redukčního programu. Legenda: r – korelační koeficient, P – p hodnota signifikance.

7. Diskuze

Cílem prezentovaného klinického hodnocení bylo charakterizovat inzulinovou senzitivitu a cholesterolový metabolismus obézních a štíhlých pacientů s diabetes mellitus 1. typu. Dále bylo cílem zhodnotit u intervenované podskupiny obézních diabetiků dynamiku sledovaných parametrů ve fázi rychlého úbytku hmotnosti a dlouhodobých dietních a režimových změn za ambulantní dispenzarizace.

Charakteristika studijních podskupin

V **I Fázi** protokolu byli komparováni štíhlí a obézní diabetici 1. typu. Studijní podskupiny se signifikantně nelišily v základních vstupních charakteristikách (věk, zastoupení pohlaví, délka trvání diabetu, terapeutická dávka inzulinu a kompenzace diabetu). Významný rozdíl v denní terapeutické dávce inzulinu mezi podskupinami nebyl zaznamenán (*Tab. 1*), což není zcela v souladu s původním předpokladem vyšší terapeutické dávky inzulinu u podskupiny obézních pacientů vzhledem k více vyjádřené inzulinové rezistenci. Jedním z nabízejících se vysvětlení by mohlo být snížení inzulinové clearance v játrech a ledvinách ve vztahu k obezitě jako takové (26). Tuková tkáň ve svém absolutním, relativním i indexovaném hmotnostním parametru byla signifikantně zvýšena u podskupiny obézních intervenovaných pacientů. Relativní netuková tělesná hmota byla u obézních pacientů naopak významně nižší v porovnání s podskupinou štíhlých (*Tab. 6*). Štíhlí diabetici 1. typu (s ohledem na věkové rozmezí a zastoupení obou pohlaví) se množstvím tukové a netukové hmoty nelišili od parametrů běžné nediabetické populace.

Ve **II Fázi** došlo k signifikantnímu poklesu BMI a obvodu pasu (*Tab. 4*), který přetrvával v obou parametrech dále v průběhu **Fáze III**. Nebyly nalezeny dlouhodobé signifikantní změny v tělesné kompozici v průběhu redukčního programu. Je pravděpodobné, že dietní a především režimové změny, k nimž byli pacienti ambulantně vedeni, nebyly dlouhodobě dostačující k dosažení významných změn tělesné kompozice detekovatelných přístrojem BCM (body composition monitor). Denní terapeutická dávka inzulinu byla v průběhu redukčního programu u podskupiny obézních významně snížena. Na redukci denního inzulinu se částečně podíleli samotní pacienti, v obavě z hypoglykemie v domácích podmínkách. To považujeme za přispívající faktor signifikantního vzestupu glykovaného hemoglobinu ve **Fázi**

I-III (*Tab. 4*). V průběhu programu, za ambulantního sledování, nicméně nebyla zaznamenána zvýšená frekvence epizod hypoglykemie. Nelze pominout ani zhoršení kompenzace diabetu při neudržení optimální compliance některých pacientů v průběhu redukčního programu, porovnáme-li ji s jejich compliance v prvních týdnech a měsících.

Metabolismus cholesterolu a omentin-1

Nebyly zaznamenány signifikantní rozdíly v lipidovém spektru mezi podskupinou obézních a štíhlých diabetiků 1. typu (*Tab. 2*). Ze **vstupních dat** charakterizujících cholesterolový metabolismus jsou zřejmé signifikantně vyšší hladiny markerů absorpce cholesterolu u obézních diabetiků vůči štíhlým pacientům s diabetes mellitus 1. typu, což pravděpodobně odpovídá celkově vyššímu dietnímu příjmu těchto tuků. V rámci našeho sledování nebyly nalezeny signifikantní rozdíly v markerech endogenní syntézy cholesterolu u skupiny obézních a štíhlých diabetiků 1. typu (*Tab. 2*).

V průběhu **II Fáze** programu byl zaznamenán u podskupiny obézních diabetiků 1. typu signifikantní pokles LDL-cholesterolu, celkového cholesterolu a markerů absorpce; endogenní syntéza naopak v trendu vzrostla. Výše zmíněná data jsou v souladu s námi doporučeným nízkokalorickým příjmem. Ve **III Fázi** programu došlo k signifikantnímu vzestupu HDL-cholesterolu, což souvisí pravděpodobně s režimovými změnami ve smyslu navýšení pohybových aktivit, které anamnesticky uváděly především ženy. Ve III Fázi byl dale pozorován signifikantní pokles campesterolu, lathosterolu a poměru lathosterol/cholesterol (*Tab. 5*). Hallikainen a spol. (27) v souladu s naším pozorováním zaznamenává u skupiny obézních se spánkovou apnoí po redukci hmotnosti pokles endogenní syntézy cholesterolu. Některými autory prezentovaný vzestup markerů absorpce cholesterolu související s poklesem hmotnosti (27) v rámci našeho sledování nepotvrzujeme. Lze předpokládat, že signifikantní pokles markerů endogenní cholesterolové syntézy může souviset se změnou inzulínové senzitivity.

Plazmatické hladiny **omentinu-1** byly všeobecně nižší (2-3x) při srovnání s daty klinických studií hodnotících obézní pacienty s nebo bez diabetes mellitus 2. typu (28,29). Domníváme se, že kombinace absolutní a relativní inzulínové deficiencie, tzv. “double diabetes”, zahrnující obézní diabetiky 1. typu, může být důvodem detekce velmi nízké vstupní hladiny plazmatického omentinu-1. V rámci našeho klinického hodnocení byly u

obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu plazmatické hladiny omentinu-1 v průběhu **Fáze I-II** stabilní, ačkoliv tělesná hmotnost signifikantně poklesla, stejně jako v trendu kleslo množství tukové tkáně (FTM) intervenovaných pacientů. Dynamika plazmatického omentinu tedy nekorespondovala s krátkodobými (několik týdnů trvajících) změnami v BMI nebo FTM (*Tab. 4*). Signifikantní vzestup plazmatických hladin omentinu-1 byl zaznamenán ve **Fázi III**. Dle našich dat plazmatický omentin-1 nekopíruje simplicítně tělesnou hmotnost či množství tělesné hmoty, změny v jeho expresi spíše odpovídají celkové reorganizaci a změně kvality tukové tkáně způsobené dlouhodobými dietními a režimovými změnami. V souladu s dostupnými klinickými daty byl vztah omentinu-1 a plazmatického HDL-cholesterolu charakterizován signifikantní pozitivní korelací. Vztah omentinu-1 k TAG byl vyjádřen negativní asociací (30). Dle dostupných zdrojů naše studie jako první poskytuje data charakterizující vztah omentinu-1 k vybraným markerům cholesterolového metabolismu. Byla nalezena statisticky významná negativní korelace plazmatického omentinu-1 s markery endogenní cholesterolové syntézy – lathosterolem a poměrem lathosterol/cholesterol (*Tab.6*).

Hyperinzulinemický euglykemický clamp

Vyšetření obézních a štíhlých diabetiků 1. typu *nepřímou kalorimetrií* neprokázalo signifikantní rozdíly v hodnotě RQ či REE za bazálních lačných podmínek, což není plně v souladu s hypotézou snížené metabolické flexibility u obézních pacientů. Původním předpokladem bylo snížení schopnosti utilizace tuků v průběhu lačnění, tedy vyšší RQ, u obézních pacientů. Nejpravděpodobnějším vysvětlením nesignifikantního rozdílu RQ mezi podskupinou štíhlých a obézních diabetiků 1. typu, je významná míra intraindividuální variability parametru RQ. Ve **II Fázi** redukčního programu byl u podskupiny obézních zaznamenán signifikantně nižší RQ v čase 0 clampového vyšetření v porovnání s **Fází I**. To může nasvědčovat posunu v metabolické flexibilitě ve smyslu jejího zlepšení po redukci ve **II Fázi** programu.

Dle dostupných literárních zdrojů dosud nejsou k dispozici data hodnotící inzulinovou rezistenci metodou *dvoustupňového hyperinzulinemického euglykemického clampu* u obézních diabetiků 1. typu v průběhu redukčního programu. Při porovnání podskupiny štíhlých a obézních diabetiků 1. typu byla celková spotřeba glukózy signifikantně vyšší v obou stupních clampu u podskupiny štíhlých pacientů (*Tab.3*), což lze vysvětlit vyšší inzulinovou senzitivitou u neobézních pacientů. Ve 2. stupni clampu byla vyšší celková

spotřeba glukózy u štíhlých pacientů zapříčiněna signifikantně vyšší neoxidativní spotřebou glukózy. Zvýšená hodnota neoxidativní spotřeby glukózy je spjata s efektivnější funkcí transportních mechanismů a efektivnějším vychytáváním glukózy v periferních tkáních, především v kosterním svalstvu; dále je spojována se zvýšením inzulínové senzitivity a je považována za důležitý protektivní prvek při zatížení metabolickým stresem (10, 31,32). Při charakteristice vývoje parametrů spotřeby glukózy v průběhu redukčního programu nebyly zachyceny statisticky významné rozdíly v celkové spotřebě glukózy pro podskupinu obézních diabetiků 1. typu (Fáze I-II) (Tab.7). Pozorovaná dynamika pravděpodobně souvisí spíše s adaptací organismu na týdenní minimální perorální příjem pacientů v úvodu II Fáze redukčního programu, provázený dříve prezentovaným přechodným statisticky významným vzestupem inzulínové rezistence (33), a následný nízkokalorický příjem s redukcí sacharidů v dietě (150/den) po 3 týdny.

V I Fázi redukčního programu 1. stupni clampového vyšetření byla u skupiny štíhlých i obézních diabetiků 1. typu nalezena negativní signifikantní korelace celkové spotřeby glukózy s markery endogenní syntézy cholesterolu (*lathosterol, poměr lathosterol/cholesterol*) (Tab.8), což podporuje původní předpoklad úzkého vztahu snížené inzulínové senzitivity a zvýšené endogenní syntézy cholesterolu. Vztah markerů endogenní cholesterolové syntézy a neoxidativní spotřeby glukózy byl charakterizován negativní signifikantní lineární regresí (Obr. 1-4). Námi zjištěná data tedy nově pro diabetiky 1. typu podporují charakteristiku neoxidativní spotřeby glukózy, jako parametru spjatého s lepší metabolickou flexibilitou, vyšší inzulínovou senzitivitou (34) i ve vztahu k parametrům cholesterolové syntézy.

8 Závěr

Prezentovaná práce se v širším měřítku zabývá charakteristikou inzulínové senzitivity diabetiků 1. typu v souvislosti s vybranými markery metabolismu cholesterolu. V I Fázi jsou porovnávány vybrané parametry podskupiny štíhlých a obézních diabetiků 1. typu, ve II-III Fázi je charakterizován vývoj výše zmíněných charakteristik v průběhu dietou vymezeného redukčního a reedukačního programu. Dle dostupných literárních zdrojů nebyl dosud k redukci obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu využit krátkodobý minimalizovaný perorální příjem „ hladovění“. Na základě našich zkušeností, lze za podmínek hospitalizace na specializovaném oddělení ve vybraných případech rezistentní významné obezity u diabetiků 1. typu využít periodu 7 denního minimalizovaného perorálního příjmu k iniciaci

redukce hmotnosti. Nezbytnou součástí využití této metody je výběr vhodného pacienta, jeho důsledná příprava před redukcí i zajištění následné odborné dispenzarizace v ambulantních podmínkách. Nutná je současná edukace pacienta.

Dosud nejsou dostupná data charakterizující vztah markerů metabolismu cholesterolu k inzulinové rezistenci (hodnocené metodou hyperinzulinemického euglykemického clampu) u obézních diabetiků 1. typu. Vztah markerů absorpce cholesterolu k parametrům inzulinové senzitivity nebyl prokázán. Nově byla definována statisticky významná negativní korelace markerů endogenní syntézy cholesterolu a spotřeby glukózy v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu u diabetiků 1. typu (Fáze I-II). Vztah neoxidativní spotřeby glukózy k markerům endogenní syntézy cholesterolu (*lathosterol*, *lathosterol/cholesterol*) byl nově charakterizován vztahem negativní lineární regrese. Ve Fázi I-III byla charakterizována dynamika viscerálního adipokinu omentinu-1. V průběhu III Fáze došlo k významnému vzestupu plazmatické hladiny omentinu-1, což může souviset se zlepšením inzulinové senzitivity na konci redukčního programu. Nově byl charakterizován vztah omentinu-1 k cholesterolovému metabolismu. Byla nalezena významná negativní korelace plazmatického omentinu-1 a markerů endogenní syntézy cholesterolu (*lathosterol*, *lathosterol/cholesterol*). Vztah byl charakterizován lineární regresí.

9. Použitá literatura

1. Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nature Medicine*, 2013; 19: 1252-1263.
2. Kim JY, van de Wall E, Laplante M, Azzara A, Trujillo ME, Hofmann SM et al.. Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 2007;117:2621-2637.
3. Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Chen J, Lehnert H, Randeve HS. Metformin treatment may increase omentin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes*, 2010;59(12):3023-31.
4. Summers LK, Samra JS, Frayn. Impaired postprandial tissue regulation of blood flow in insulin resistance: a determinant of cardiovascular risk? *Atherosclerosis*. 1999;147(1): 11-15.
5. Obstfeld AE, Sugaru E, Thearle M, Francisco AM, Gayet C, Ginsberg HN, Ables EV, Ferrante AW. C-C chemokine receptor 2 (CCR2) regulates the hepatic recruitment of

- myeloid cells that promote obesity-induced hepatic steatosis. *Diabetes*, 2010; (59) 916–925.
6. Talukdar S, Bandyopadhyay G, Li D, Xu J, McNelis J, Lu M, Li P, Yan Q, Zhu Y, *et al.* Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nat. Med.* 2012;18: 1407–1412.
 7. Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab.*, 2012;15:635-645.
 8. Jornayvaz FR, Shulman GI. Diacylglycerol activation of protein kinase C ϵ and hepatic insulin resistance. *Cell Metab.* 2012; 15:574-584.
 9. Lee JY, Sohn KH, Rhee SH, Hwang D. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J. Biol. Chem.* 2001;276: 16683-16689.
 10. DeFronzo RA, Tobin JD, Anders R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237(3):E214-23.
 11. Miettinen TA, Gylling H, Tuominen J, Simonen P, Koivisto V. Low synthesis and high absorption of cholesterol characterize type 1 diabetes. *Diabetes care.* 2004; 27:53-58.
 12. SIMONEN P, GYLLING H, HOWARD A, MIETTINEN TA: Introducing a new component of the metabolic syndrome: low cholesterol absorption. *Am J Clin Nutr* . 2000; 72: 82-88.
 13. Bergendahl M, Vance ML, Iranmanesh A, Thorner MO, Veldhuis JD. Fasting as a metabolic stress paradigm selectively amplifies cortisol secretory burst mass and delays the time of maximal nyctohemeral cortisol concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metabol* 1996;81(2):692-9.
 14. Kuksis A. Plasma non-cholesterol sterols. *Journal of Chromatography* 2001; 935:203-236.
 15. Beylot M. Use of stable isotopes to evaluate the functional effects of nutrients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006; 9(6):734-739.
 16. Miettinen TA, Tilvis RS, Kesämiemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am. J. Epidemiol.* 1990;13: 20–31.
 17. Nishio H, Kuwabara H, Mori H, Suzuki K. Repeated fasting stress causes activation of mitogen- activated protein kinase (ERK/JNK) in rat liver. *Hepatology* 2002; 36(1):72-80.

18. P.R. Kerndt, J.L. Naughton, C.E. Driscoll, D.A. Loxterkamp. Fasting: the history, pathophysiology and complications. *West J Med*, 137 (1982), pp. 379–399.
19. Halberg N, Henriksen M, Soderhamn N, Stallknecht B, Ploug T, Schjerling P, Dela F. Effect of intermittent fasting and refeeding on insulin action in healthy men *Journal of Applied Physiology*. 2005; 99(6):2128-2136.
20. R. Wan, S. Camandola, M.P. Mattson. Intermittent fasting and dietary supplementation with 2-deoxy-D-glucose improve functional and metabolic cardiovascular risk factors in rats. *FASEB J*, 20 (2006), pp. 631–637.
21. Belkacemi L, Selsele-Attou G, Hupkens E, Nguidjoe E, Louchami K, Sener A, Malaisse WJ. Intermittent fasting modulation of the diabetic syndrome in streptozocine- injected rats. *International Journal of Endocrinology*. 2012;ID 962012.
22. Tikoo K, Tripathi DN, Kabra DG, Sharma V, Gaikwad AB. Intermittent fasting prevents the progression of type I diabetic nephropathy in rats and changes the expression of Sir2 and p53. *FEBS Lett*. 2007;581(5):1071-8.
23. Pelikánová T. Glykemický clamp- praktické provedení a využití. *DMEV*. 2001;4(3):172-182.
24. Wohl P, Pelikánová T, Skibová J. Cirkadiální variabilita vylučování urey do moči a hodnocení utilizace živin pomocí nepřímé kalorimetrie v kombinaci s hyperinsulinovým neuglykemickým vlampem u zdravých jedinců. *Klin. Biochem . Metab*. 2001; 30(9): 114-118.
25. Tappy L, Owen OE, Boden G. Effect of hyperinsulinemia on urea pool size and substrate oxidation rates. *Diabetes*. 1988; 37(9):1212-6.
26. Valera Mora ME, Scarfone A, Calvni M, Greco AV, Mingrone GG: Insulin clearance in obesity. *J Am Coll Nutr*. 2003; 22: 487-493.
27. Hallikainen M, Tuomilehto H, Martikainen T, Vanninen E, Seppa J, Kokkarinen J, Randell J, Gylling H. Cholesterol metabolism and weight reduction in subjects with mild obstructive sleep apnoea: a randomised, controlled study. *Cholesterol*. 2013;2013:769457.
28. Auget T, Quintero Y, Riesco D, Morancho B, Terra X, Crescenti A, Broch M, Aguilar C, Olona M, Porrás JA, Hernandez M, Sabench F, Castillo D, Richart C. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Medical Genetics* 2011; 12:60.
29. Pan HY, Guo L, Li Q. Changes in serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated

- type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice* 2010; 88: 29-33.
30. Auget T, Quintero Y, Riesco D, Morancho B, Terra X, Crescenti A, Broch M, Aguilar C, Olona M, Porrás JA, Hernández M, Sabench F, Castillo D, Richart C. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Medical Genetics* 2011; 12:60.
31. Phielix E, Meex R, Ouwens DM, Sparks L, Hoeks J, Schaart G, Moonen-Kornips E, Hesselink MK, Schrauwen P. High oxidative capacity due to chronic exercise training attenuates lipid- induced insulin resistance. *Diabetes*. 2012;61 (10): 2472-8.
32. Dube JJ, Coen PM, Di Stefano G, CHacon AC, Helbing NL, Desimone ME, Stafanovic- Racic M, Hames KC, Despines AA, Toledo FG, Goodpaster BH. Effects of acute lipid overload on skeletal muscle insulin resistance, metabolic flexibility, and mitochondrial performance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014. 307 (12); 1117-24.
33. Musil F, Šmahelová A, Bláha V, Hyšpler R, Tichá A, Lesná J, Zadák Z, Sobotka. Effect of low calorie diet and controlled fasting on insulin sensitivity and glucose metabolism in obese patients with type 1 diabetes mellitus. *Physiol Res*. 2013;62: 267-276.
34. DeFronzo RA, Jacot E, Jequier E, Maeder E, Wahren J, Felber JP (1981): The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose, results from indirect calorimetry and hepatic and femoral catheterization. *Diabetes* 30:1000-1007 .

10. Přehled publikační činnosti autora

10.1. Původní vědecké publikace v časopisech s IF

- **Lesná J**, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Bláha V, Sobotka L, Zadák Z, Šmahelová A. Omentin-1 plasma levels and cholesterol metabolism in obese patients with diabetes mellitus type 1. : impact of weight reduction. *Nutrition and diabetes*. 2015;5: 1-6.
- Musil F, Šmahelová A, Bláha V, Hyšpler R., Tichá A., **Lesná J.**, Zadák Z., Sobotka L.. Effect of low calorie diet and controlled fasting on insulin sensitivity and glucose metabolism in obese patients with type 1 diabetes mellitus. *Physiol Res*. 2013; 62(3):267-76.
- Bláha V., Musil F., Šmahelová A., Tichá A., Hyšpler R., Haluzík M., **Lesná J.**,

Sobotka L. Effects of body fat reduction on plasma adipocyte fatty acid-binding protein concentration in obese patients with type 1 diabetes mellitus. *Neuro Endocrinol.* 2012;33 (2):6-12.

- Musil F., Bláha V., Tichá A., Hyšpler R., Haluzík M., **Lesná J.**, Šmahelová A., Sobotka L. Effects of body weight reduction on plasma leptin and adiponectin/leptin ratio in obese patients with type 1 diabetes mellitus. *Physiol. Res.* 2015;64(2):221-8.

10.2 Původní vědecké práce v časopisech bez IF

- **Lesná J.**, Tichá A, Hyšpler R, Svobodová I, Musil F, Bláha V, Sobotka L, Zadák Z, Šmahelová A. Metabolismus cholesterolu u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. Typu – vliv redukce hmotnosti. *Klinická biochemie a metabolismus* 2015; 23(44):60-66.
- **Lesná J.**, Lášticová M, Musil F, Borkovcová J, Šmahelová A. Vliv kyseliny thioktové na bolestivé projevy diabetické polyneuropatie. *Kazuistiky v diabetologii.* 2011; 9(3):13-15.

10.3 Ostatní publikace v časopisech bez IF

- **Lesná J.**, Šmahelová A. Od inzulínoterapie k inkretinové léčbě - regulace obezity u diabetiků 2. typu. *Kazuistiky v diabetologii* 2012; 10, msupl.1:26-27.
- **Lesná J.**, Šmahelová A. Od gliptinů k GLP-1 analogům. *Kazuistiky v diabetologii* 2012; 10, msupl.1:26-27.
- **Lesná J.**, Šmahelová A. Efekt inkretinové terapie na beta buňky pankreatu. *Diazpravodaj, Leden-únor* 2012.
- **Lesná J.**, Šmahelová A, Bláha V, Víšek J, Musil F, Lášticová M, Sobotka L. Endotelová dysfunkce a diabetes mellitus 1. typu. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa.* 2010; 13 (4): 165 – 172.

10.4 Abstrakta ve sbornících

- **Lesná J.**, Musil F, Tichá A, Hyšpler R, Bláha V, Sobotka L, Šmahelová A. Cholesterol metabolism in patients with diabetes mellitus type 1 and the impact

of weight reduction. Nutrition (Elsevier) 2011; 27(1):127.

- **Lesná J**, Musil F, Tichá A, Hyšpler R, Bláha V, Sobotka L, Šmahelová A. Cholesterol metabolism in patients with diabetes mellitus type 1 - impact of weight reduction (new results). Nutrition, 2012, 28 (1) 106.
- **Lesná J**, Tichá A, Hyspler R, Borkovcová J, Šimková Š, Bláha Vm, Sobotka L, Zadák Z, Šmahelová A. Effect of MCT oil on free fatty acid plasma levels in morbid obese patients with type 2. diabetes mellitus. Clinical nutrition, 2013; 32(1):209-210.
- Tichá A, **Lesná J**, Hyšpler R, Borkovcová J, Svobodová I, Šmahelová A, Zadák Z. Utilizace triacylglycerolů se středně dlouhým řetězcem u morbidně obézních diabetiků 2. typu. Klinická biochemie a metabolismus. 2013/3.

10.5 Přednášky a posterová sdělení na odborných setkáních

- **Lesná J**, Bláha V, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Sobotka L, Šmahelová A. Vliv redukce váhy na cholesterolový metabolismus diabetiků 1. typu – nové výsledky, XXVII mezinárodní kongres SKVIMP, 17.-19.2.2011, *posterové sdělení*
- **Lesná J**, Bláha V, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Sobotka L, Šmahelová A. Vliv redukce váhy na cholesterolový metabolismus diabetiků 1. typu, 47 Diabetologické dny v Luhačovicích, 14.-16.4.2011, *přednáška*
- **Lesná J**, Chmelíková Š, Šmahelová A. Terapie liraglutidem u obézních pacientů s diabetes mellitus 2. typu – klinické zkušenosti, 47 Diabetologické dny v Luhačovicích, 14.-16.4.2011, *přednáška*
- **Lesná J**, Bláha V, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Sobotka L, Šmahelová A. Cholesterol Metabolism in patients with diabetes mellitus type 1 – impact of weight reduction, Atherosclerosis Congress EAS, Gothenburg, 26.-29.6.2011, *posterové sdělení*.
- **Lesná J**. Inzulinová terapie a inkretiny v praxi, Diabetologické symposium (Diabetes, inzulinová terapie a její optimalizace), Rychnov nad Kněžnou, 13.-14.1. 2012, *přednáška*.
- **Lesná J**, Bláha V, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Sobotka L, Šmahelová A. Vliv redukce hmotnosti na plasmatickou hladinu omentinu-1 u obézních diabetiků 1. typu, XXVIII mezinárodní kongres SKVIMP, Hradec Králové, 1.-3.3.2012, *posterové sdělení*
- **Lesná J**, Bláha V, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Sobotka L, Šmahelová A.

Plasma omentin levels in obese patients with diabetes mellitus type 1 – impact of weight reduction, Atherosclerosis Congress EAS, Milano, 25.-28.5.2012, *posterové sdělení*

- **Lesná J, Bláha V, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Sobotka L, Šmahelová A.** Plazmatické hladiny omentinu-1 u obézních diabetiků 1. typu – vliv redukce hmotnosti, Šobrův den (XXVI. konference o hyperlipoproteinemiích), Praha, 6.6.2012, *přednáška*.
- **Lesná J, Bláha V, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Sobotka L, Šmahelová A.** Plasma omentin levels in obese patients with diabetes mellitus type 1 – impact of weight reduction, ESPEN Congress, Barcelona, 8-11.9.2012, *posterové sdělení*.
- **Lesná J,** Inzulínoterapie a hypoglykemie, Diabetologické symposium - Život s diabetem, (Rychnov nad Kněžnou) 19-20.10.2012, *přednáška*.
- **Lesná J, Bláha V, Tichá A, Hyšpler R, Musil F, Sobotka L, Šmahelová A.** Plasma omentin levels in obese patients with diabetes mellitus type 1 – impact of weight reduction, 8. fakultní konference studentů doktorského studia, Hradec Králové, 22.10.2012, *přednáška*.
- **Lesná J.** Metabolický syndrom a játra. Hepin“ Summer“ School č.4. Hradec Králové. 21.6.2013. *přednáška*.
- **Lesná J, Tichá A, Hyšpler R, Borkovcová J, Šimková Š, Bláha Vm, Sobotka L, Zadák Z, Šmahelová A.** Effect of MCT oil on free fatty acid plasma levels in morbid obese patients with type 2. diabetes mellitus. 35th ESPEN congress on clinical nutrition and metabolism, Leipzig, 31.8.-3.9.2013, *posterové sdělení*
- **Lesná J, Tichá A, Hyšpler R, Bláha V, Sobotka L, Borkovcová J, Chmelíková Š, Šmahelová A.** Charakteristika metabolické flexibility s využitím perorální aplikace MCT oleje u morbidně obézních diabetiků 2. Typu. 5-7.12.2013, 17. Kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, *posterové sdělení*.
- **Lesná J, Čáp J.** Akromegalie z pohledu osteologa. VI Hradecký postgraduální kurz v endokrinologii, 15-17.5.2014, Hradec Králové, *přednáška*.
- **Lesná J.** Klinické zkušenosti s liraglutidem. Kazuistické sdělení. Praha, Majestic Plaza. 8.10.2014. *přednáška*.
- **Lesná J.** Klinické zkušenosti s GLP-1 analogy. Kazuistické sdělení. IV pracovní Diabetologické dny s odbornou garancí Centra a subkatedry diabetologie a III. Interní gerontometabolické kliniky FN a LF UK Hradec Králové. 24-25.10.2014. *přednáška*.

- **Lesná J.** Moderní terapie osteoporózy. Cyklus seminářů interního lékařství, Svitavy, 30.10.2014, *přednáška*.