

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

DISERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. Jana Jiráčková

Hradec Králové 2016

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Doktorský studijní program

Vnitřní nemoci

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

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

MUDr. Jana Jiráčková

Školitel: doc. MUDr. Alena Šmahelová, Ph.D.

Školitel konzultant: prof. MUDr. Vladimír Bláha, CSc.

Hradec Králové 2016

Obhajoba dne:

Prohlášení autora

Prohlášení:

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

Hradec Králové 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedení III. interní gerontometabolicé kliniky FNHK a vedení Centra pro výzkum a vývoj FNHK za možnost podílet se na projektu a aktivní podporu při prezentaci studijních výstupů. Děkuji své školitelce, doc. MUDr. Aleně Šmahelové, Ph.D., za odborné vedení a další vzdělávání v oboru diabetologie, dále potom za vytváření pracovních podmínek k realizaci projektu. Prof. MUDr. Vladimíru Bláhovi, CSc. děkuji za podnětné připomínky a rady, předávání cenných osobních zkušeností, především na poli prezentace a dalšího uplatnění studijních výstupů. Velmi ráda bych také poděkovala prof. MUDr. Zdeňku Zadákovi, CSc., RNDr. Mgr. Aleně Tiché, Ph.D. a MUDr. Radomíru Hyšplerovi Ph.D. za soustavnou, laskavou a trpělivou spolupráci, záštitu laboratorní metodiky, ochotnou pomoc při zpracovávání a interpretaci výsledků výzkumu. V neposlední řadě patří můj dík dalším spolupracovníkům podílejícím se na projektu prakticky - v klinické i laboratorní části (Bc. Jitka Borkovcová, Iveta Svobodová, MUDr. F. Musil).

Tato práce vznikla za finančního přispění grantu IGA MZ ČR NT/12287-5/2011 a projektu MZ ČR-RVO (FNHK 00179906).

Obsah

1.	Úvod	7
2.	Cíl dizertační práce	9
3.	Literární vymezení práce	10
3.1.	METABOLISMUS SACHARIDŮ	10
3.1.1.	Metabolismus glukózy	11
3.1.2.	Glukoregulace	13
3.1.3.	Inzulinorezistence	18
3.1.4.	Kvantifikace inzulinové senzitivity/rezistence	21
3.2.	METABOLISMUS LIPIDŮ	27
3.2.1.	Metabolismus lipoproteinových částic	27
3.2.2.	Metabolismus cholesterolu	28
3.2.3.	Metabolismus mastných kyselin	32
3.3.	DIABETES MELLITUS 1. TYPU	35
3.3.1.	Základní charakteristika, epidemiologie	35
3.3.2.	Etiopatogeneze	36
3.3.3.	Manifestace, diagnostika a klasifikace	37
3.3.4.	Terapie diabetes mellitus 1. typu	38
3.4.	OBEZITA	42
3.4.1.	Epidemiologie obezity	42
3.4.2.	Etiopatogeneze obezity	42
3.4.3.	Diagnostika a klasifikace obezity	44
3.4.4.	Tuková tkáň a obezita	44
3.4.5.	Obezita a diabetes melitus 1. typu	51
3.4.6.	Terapie obezity pacientů s diabetes mellitus 1. typu	52
4.	Metodika	55
4.1	DESIGN STUDIE	55
4.2	AKTIVNÍ FÁZE STUDIE, NÁBOR PACIENTŮ	55
4.3	KLINICKÉ PROCEDURY	56
4.4	LABORATORNÍ TESTY	61
4.5	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ	62
5.	Výsledky	63
5.1.	FÁZE I - POROVNÁNÍ VSTUPNÍCH PARAMETRŮ OBÉZNÍCH A ŠTÍHLÝCH PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU	63
5.1.1.	Charakteristika studijních skupin	63
5.1.2.	Metabolismus cholesterolu	65
5.1.3.	Hyperinzulinemický euglykemický clamp	68
5.2.	FÁZE I – III – VÝVOJ PARAMETRŮ OBÉZNÍCH PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU V PRŮBĚHU REDUKČNÍHO PROGRAMU	72
5.2.1.	Charakteristika studijní skupiny	72
5.2.3.	Hyperinzulinemický euglykemický clamp – Fáze I. - II. (před redukcí – měsíc po zahájení redukce)	82
5.2.4.	Inzulinová rezistence a cholesterolový metabolismus	87
6.	Diskuze	92
6.1.	CHARAKTERISTIKA STUDIJNÍCH PODSKUPIN	92
6.1.1.	Fáze I	92
6.1.2.	Fáze II-III	93
6.2.	METABOLISMUS CHOLESTEROLU	94
6.2.1.	Metabolismus cholesterolu a omentin-1	96

6.3. HYPERINZULINEMICKÝ EUGLYKEMICKÝ CLAMP	98
6.3.1. Volné mastné kyseliny a inzulinová rezistence	98
6.3.2. Nepřímá kalorimetrie.....	99
6.3.3. Hyperinzulinemický euglykemický clamp	100
6.3.4. Inzulinová rezistence a cholesterolový metabolismus.....	101
6.3.5. Předpokládané limitace práce	102
7. Závěr	103
8. Literatura	105
9. Literatura – knihy a učebnice	124
10. Seznam zkratek.....	125

1. Úvod

Diabetes mellitus je heterogenní chronické onemocnění charakterizované elevací glykemie při absolutním či relativním nedostatku inzulinu. Jde o nejčastější metabolické onemocnění (celosvětově v současné době postihuje přes 347 mil. lidí) (1), jehož komplikace představují významný socioekonomický problém. Inzulinorezistence je jedním z hlavních faktorů ovlivňujících a znesnadňujících terapii diabetiků. Je součástí složitého komplexu patofyziologických změn souvisejících s metabolickým syndromem a představuje významný rizikový faktor podílející se na progresi vaskulárních komplikací diabetu. Historicky se o zvýšené inzulinorezistenci hovořilo především v souvislosti s diabetes mellitus 2. typu a obezitou pacientů s tímto typem cukrovky.

V současné době se ovšem stále početnější a terapeuticky těžko zvládnutelnou stává skupina obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu. Tato podskupina diabetiků je z metabolického hlediska velmi zajímavá kombinací relativní a absolutní inzulinové insuficience. Absolutní inzulinový deficit souvisí s destrukcí β buněk při základním autoimunitním postižení. Na jeho podkladě se dále, jak předpokládáme vzhledem k obezitě pacientů, rozvíjí relativní inzulinová insuficience. S nárůstem obezity u pacientů s diabetes mellitus 1. typu bývají v rámci zlepšení neuspokojivé kompenzace ambulantně významně navyšovány denní terapeutické dávky inzulinu, což může přispívat k dalšímu nárůstu hmotnosti diabetiků. Vzniká tak bludný kruh, který lze efektivně přerušit redukcí hmotnosti. Ambulantní zvládnutí redukce hmotnosti je u diabetiků léčených intenzifikovaným inzulinovým režimem či inzulinovou pumpou úkol velmi nesnadný. Při zpříšňování dietních i režimových opatření panuje u pacientů, jinak většinou zařazených do běžného pracovního života, pochopitelná obava především z frekventních hypoglykemií. I proto mnohdy ambulantní doporučení a edukace selhávají.

Na diabetologickém oddělení III. interní gerontometabolické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové je u rizikových pacientů s úspěchem využívána krátkodobá hospitalizace k řízené redukci hmotnosti, kompletní reedukaci a úpravě terapie. U vybraných morbidně obézních diabetiků 2. typu je běžnou součástí redukčního pobytu několikadenní hladovění, za frekventního sledování metabolických parametrů. Tento přístup je v

sooučastnosti v rámci České republiky netypický, charakteristický právě pro hradecké metaboliky. Využití redukčního programu zahrnujícího několikadenní hladovění u obézních diabetiků 1. typu je ojedinělé též ve světovém měřítku a u odborníků může budit dojem jisté nepatřičnosti či kontroverze i vzhledem k zažitému dogmatu, že diabetik 1. typu nesmí hladovět.

Práce charakterizuje vybrané krátkodobé a dlouhodobé metabolické změny, především změny v inzulínové senzitivitě a cholesterolovém metabolismu, u vybrané skupiny obézních diabetiků 1. typu na pozadí dietou vymezeného redukčního programu s krátkodobým minimalizovaným perorálním příjmem. Upozorňuje na specifickou, mnohdy opomíjenou problematiku managementu terapie obézních diabetiků 1. typu.

2. Cíl dizertační práce

- 1/ Charakterizovat inzulinovou rezistenci a vybrané markery cholesterolového metabolismu u obézních diabetiků 1. typu a porovnat je s parametry podkupiny štíhlých diabetiků 1. typu.
- 2/ Charakterizovat dynamiku změn inzulinové 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.

3. Literární vymezení práce

3.1. METABOLISMUS SACHARIDŮ

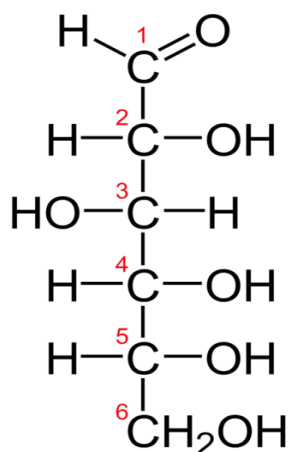
Hladina cukru v krvi je za normálních okolností udržována v relativně úzkém rozmezí 3-8 mmol/l četnými autoregulačními mechanismy. Přísun glukózy do krevního oběhu je zajištěn dietou, v podmínkách nalačno je potom glykemie udržována tkáněmi schopnými zajistit produkci glukózy. Jedná se především o játra, v nichž probíhá glykogenolýza a glukoneogeneze a kůru ledvin přispívající glukoneogenezi.

Sacharidy přijaté dietou jsou iniciálně štěpeny v ústní dutině, enzymem obsaženým ve slinách – *ptyalinem*. Přeměna sacharidů na disacharid maltózu dále pokračuje v tenkém střevě za přispění enzymů pankreatické šťávy. Zde se na trávení zásadně podílí *sacharáza* a *laktáza*. Vzniklé jednoduché cukry se vstřebávají do krve, odkud je odsun glukózy do tkání zajišťován integrálními membránovými proteiny-glukózovými transportéry (GLUT). Jejich aktivita je stimulována řadou podnětů (hyperglykemie, pokles adenosintrifosfátu (ATP), atd.). V současné době známe 13 typů glukózových transportérů. Mezi nejvýznamnější z nich patří přenašeče GLUT 1-4 (*Tbl. 1*). GLUT-4 je výjimečný svou závislostí na inzulinu, aktivuje se tedy především postprandiálně. Hlavními tkáněmi, kde probíhá inzulin-dependentní transport, jsou svalová a tuková tkáň, v menší míře také v játrech a střevě.

Název přenašeče	Zastoupení ve tkáních
GLUT-1	Fetální tkáň, erythrocyty, endotelové buňky, centrální nervový systém
GLUT-2	Tubuly v ledvinách, tenké střevo, hepatocyty, β buňky pankreatu
GLUT-3	Neurony, placenta, varlata
GLUT-4	Tuková tkáň, svaly, játra, střevo

Tabulka 1. Základní glukózové přenašeče a jejich majoritní zastoupení ve tkáních (10, 11)

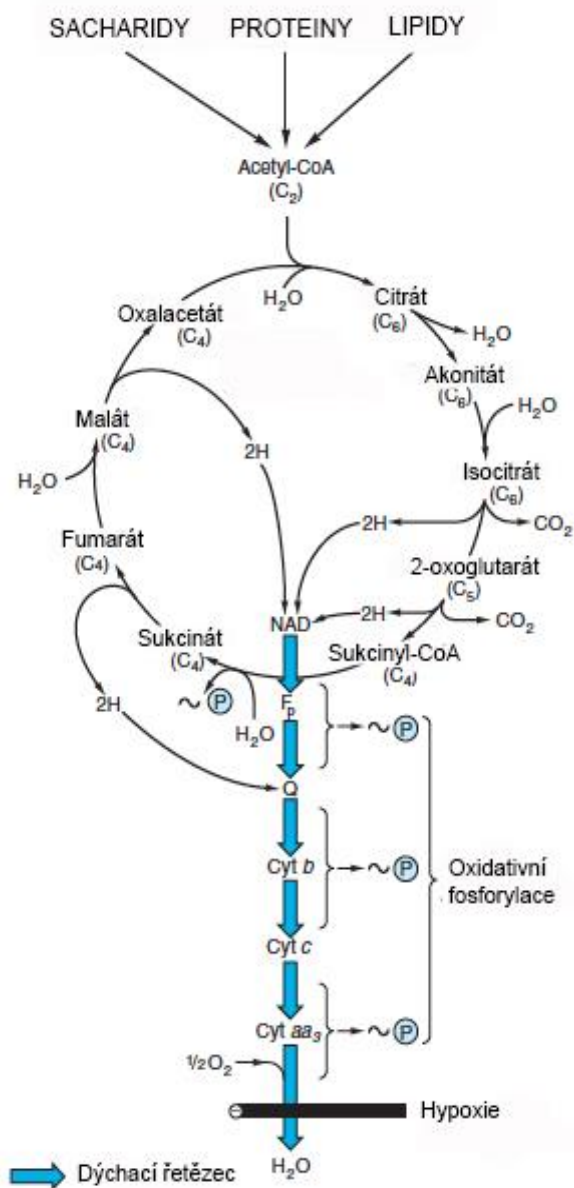
3.1.1. Metabolismus glukózy



Glukóza (*Obr. 1*) je monosacharid ze skupiny aldohexóz, redukujících sacharidů. Existuje ve dvou enantiomerech (L a D), které jsou v přírodě nezaměnitelné vzhledem k tomu, že pouze D-glukóza může být fosforylována *hexokinázou* a vstoupit do metabolismu cukrů živých organismů. Metabolismus glukózy může probíhat **anaerobně** či **aerobně**.

Obrázek 1. Aldehydická forma glukózy (ve Fischerově projekci)

Anaerobní metabolismus glukózy (glykolýza) probíhá v cytoplazmě. Z jedné molekuly glukózy při glykolýze v průběhu 10ti enzymy katalyzovaných reakcí vzniknou 2 molekuly pyruvátu. V přítomnosti kyslíku navazuje na anaerobní metabolické děje **aerobní metabolismus**. Molekuly pyruvátu jsou oxidovány na acetyl-CoA, jenž vstupuje do tzv. Krebsova (citrátového) cyklu (*Obr. 2*). Krebsův cyklus představuje společnou metabolickou dráhu pro oxidaci sacharidů, lipidů i proteinů. U člověka probíhá v mitochondriální matrix. Acetyl-CoA po vstupu do cyklu zkondenzuje s oxalacetátem na citrát. Postupná dekarboxylace a oxidace kyseliny citrónové uvolňuje redukční ekvivalenty použité následně při **oxidativní fosforylaci** k syntéze ATP. Odpadní molekulou je oxid uhličitý. Konečný produkt – oxalacetát – následně znovu vstupuje do dalšího metabolického cyklu.



Krebsův cyklus není jen součástí oxidativních pochodů. Účastní se též významně syntetických drah. Oxalacetát může být přeměněn na pyruvát, který je dále využit v **glukoneogenezi**. Substrátem bývají tříuhlíkaté prekurzory, produkty štěpení svalového glykogenu (pyruvát, laktát), proteinu (alanin, glutamin) i tukové tkáně (glycerol). V rámci kompartmentu buňky je počátek glukoneogeneze situován do mitochondrií či cytoplasmy (v závislosti na výchozím substrátu). Metabolická cesta je katalyzována 11ti enzymatickými reakcemi a představuje ve své podstatě proces zrcadlící výše zmíněný katabolismus glukózy.

Obrázek 2. Citrátový cyklus v souvislostech

(Zdroj: <http://d11.cuni.cz/mod/page/view.php?id=179366>)

3.1.2. Glukoregulace

Na udržení homeostázy glukózy v těle se podílejí vlivy hormonální, autoregulační a nervové.

■ **Autoregulační pochody** zahrnují ovlivnění metabolismu glukózy na lokální úrovni, nezávisle na glukoregulačních hormonech. Probíhají především v jaterních buňkách (2). Zásadní úlohu v těchto dějích hraje *glukokináza*, respektive poměr *glukokináza/glukóza-6-fosfatáza*. *Glukokináza* je zásadním enzymem zahajujícím glykolýzu fosforylací glukózy na glukozo-6-fosfát, *glukóza-6-fosfatáza* naopak důležitým katalyzátorem glukoneogeneze. Jejich exprese je v jaterních buňkách regulována především inzulinem(3), zároveň ovšem i samotnou hyperglykemií, která zvyšuje aktivitu glukokinázy a naopak. Poměr *glukokináza/glukóza-6-fosfatáza* je tak jedním ze zásadních regulačních mechanismů přispívajícím k adaptaci organismu na změnu v substrátovém zatížení (hladovění ↔ dieta)(4).

■ **Nervová regulace** probíhá cestou vegetativního systému. Jeho vlákna poskytují centrálnímu nervovému systému informaci o koncentraci glukózy v periferních tkáních i orgánech. Hypotalamická centra následně zprostředkují aktivaci parasymptiku (hypoglykemizující účinky) či sympatiku (hyperglykemizující účinky).

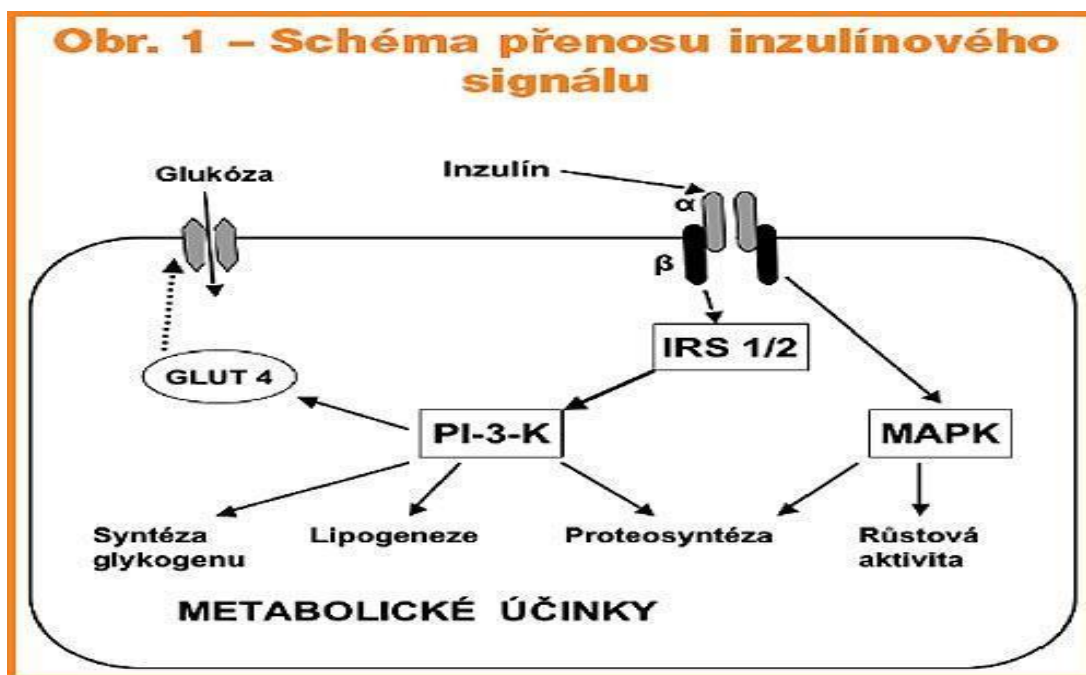
■ **Hormonální regulace** představuje nejvýznamnější systém glukoregulace. V jeho středu stojí dva antagonistické hormony – inzulin a glukagon.

INZULIN

Inzulin je hormon produkovaný β -buňkami pankreatických ostrůvků. Jeho primární translační produkt, kódovaný na 11. chromozomu, se nazývá **preproinzulin**. Z řetězce preproinzulinu o 115 aminokyselinách (AMK) štěpením v endoplazmatickém retikulu vzniká **proinzulin**, který následně v Golgiho aparátu maturuje v aktivní inzulin. Konečnou částí maturace v sekrečních granulích je oddělení tzv. **connecting peptidu (C – peptid)**, látky využívané v běžné klinické praxi k posouzení endogenní syntézy inzulinu. Zralý účinný inzulin je molekulou dvou řetězců (A-21 AMK, B-30 AMK) spojených dvěma disulfidovými vazbami. Celý proces biosyntézy inzulinu trvá 30-120 minut v závislosti na přítomnosti stimulačních podnětů.

Pankreas zdravého jedince obsahuje za klidových podmínek fyziologicky přibližně 15 mg inzulinu (1 mg = 25 IU). Denní produkce inzulinu představuje 20-40 IU. Přibližně 50 % produkce připadá na pokrytí *bazální sekrece*, kdy je inzulin do krevního oběhu uvolňován trvale pulzně, á 5-15 minut, v množství 0,25-1,5 IU za hodinu. Druhá polovina inzulinové

produkce připadá na *stimulovanou sekreci*, která pokrývá prandiální potřebu inzulínu. Degradace inzulínu následně probíhá cestou proteolýzy v játrech.



Obrázek 3. Inzulínový receptor

Zdroj:<http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni.medicina/etiologie-a-patogeneze-diabetes-mellitus-168304>.

Účinek inzulínu je zprostředkován glykoproteinovým receptorem (Obr. 3), jenž je přítomný na povrchu prakticky všech tělních buněk. Receptor se skládá ze dvou α -podjednotek, které představují samotná vazebná místa, dále ze dvou β -podjednotek disponujících *tyrozinkinázovou* aktivitou. Ta iniciuje řadu fosforylačně-defosforylačních reakcí, jež zahrnují početný (více než 150 členný) soubor intracelulárních signálních proteinů (cAMP, G-proteiny, proteinkináza C, fosfolipáza C, atd.).

Základní cesty inzulínové signalizační kaskády vedou přes *fosfatidylinozitol-3-kinázu* a *Ras*. Jejich výsledkem je stimulace přenašeče GLUT4, dále četné mitogenní a enzymatické procesy.

Inzulín má širokou škálu **biologických účinků**. Majoritní vliv má na **energetický metabolismus**. Zasahuje nejen do metabolismu sacharidů, tuků i bílkovin. Jeho dílčí efekty lze rozdělit na aktivační a inhibiční (Tab. 2).

Aktivační efekt inzulinu	Inhibiční efekt inzulinu
Inzulindependentní vstup glukózy do tkání Fosforylace glukózy (<i>hexokináza, glukokináza</i>) Glykolýza (<i>fruktóza-2,6-bisfosfát</i>) Oxidace glukózy (<i>pyruvátdehydrogenáza</i>) Syntéza glykogenu (<i>glykogensyntáza</i>)	Glykogenolýza Glukoneogeneze
Syntéza mastných kyselin (<i>acetyl-CoA-karboxyláza, malonyl-CoA</i>) Desaturace mastných kyselin (<i>desaturáza</i>) Odsun triglyceridů z plazmy (<i>lipoproteinová lipáza</i>) Lipogeneze v tukové tkáni	Lipolýza v tukové tkáni (<i>hormon- senzitivní lipáza</i>)
Vstup aminokyselin do buněk Proteosyntéza	Proteolýza
Na ⁺ /K ⁺ -ATPáza	

Tabulka 2. Aktivační a inhibiční efekt inzulinu na energetický metabolismus (2, 12)

Celkově lze účinek inzulinu na organismus shrnout tak, že podporuje anabolické a potlačuje katabolické pochody. Nejvýznamněji ovlivňuje jaterní, tukovou a svalovou tkáň. V **játrech** není vstup glukózy do hepatocytu podmíněn inzulinem. Jeho účinkem však dojde k aktivaci glykolýzy, urychlení oxidace glukózy, aktivaci syntézy glykogenu a mastných kyselin. Zároveň je inhibována glukoneogeneza, lipolýza a proteolýza. V **tukové tkáni**, jež je k inzulinu nejcitlivější, inzulin urychluje vstup glukózy do adipocytu a následně i její katabolismus. Aktivuje *lipoproteinovou lipázu*, která zajišťuje odsun TAG z plazmy, štěpí je na mastné kyseliny a glycerol. Mastné kyseliny následně vstupují do adipocytů a účastní se lipogeneze, jejíž optimální průběh je zajištěn inhibicí *hormon senzitivní lipázy* inzulinem. **Svalovina** reaguje na inzulin zrychlením vstupu glukózy, mastných kyselin a aminokyselin do

myocytů. Dochází k aktivaci glykolýzy, glykogensyntézy, proteosyntézy a esterifikaci mastných kyselin. Stoupá příjem a utilizace ketolátek.

Aktivací Na^+/K^+ ATPázy se inzulín též podílí na udržování intra-/extracelulárního gradientu. Reabsorpce sodíku v distálním tubulu ledvin je spojena s **retencí sodíku a vody**. Známé jsou též **vazodilatační účinky** inzulínu, zprostředkované aktivací NO syntázy. V neposlední řadě má inzulín na buňky účinky **proliferační a antiapoptotické**.

Regulace inzulínové sekrece má v organismu zásadní význam.

1. Základním regulátorem je samotná **hladina glukózy** v plasmě, jejíž elevace produkci inzulínu zvyšuje. Obdobný vliv na inzulínovou sekreci mají i aminokyseliny a vápenaté ionty.

Postprandiální sekreci inzulínu je chronologicky ovlivněna fázemi:

a/ *Cefalická* - stimulace při pohledu či pomyšlení na jídlo

b/ *Gastrointestinální* - stimulace rozepětím stěny žaludku a proximálního duodena, sekrece mediátorů enteroinzulární osy

c/ *Substrátová* - stimulace vzestupem koncentrace nutrientů v plazmě

Postprandiální sekrece v časně fázi (30 minut) odpovídá vyplavení zásobního inzulínu, v pozdní fázi (délka dle přetrvávající hyperglykemie) již je dále vyplavován nově syntetizovaný inzulín.

2. Mezi další důležité **stimulátory** inzulínové produkce patří β -adrenergní hormony, kortisol, estrogeny, růstový hormon, glukagon, dále hormony enteroinzulární osy. Významnými představiteli poslední jmenované skupiny jsou inkretiny (GLP-1, GIP). **Inhibiční efekt** mají působky s α -adrenergní aktivitou.
3. V neposlední řadě je sekrece inzulínu ovlivněna některými **farmaky**. Cíleně hladinu inzulínu ovlivňujeme *antidiabetiky typu sekretagog* (deriváty sulfonylurey, glinidy...) dále terapeutiky *inkretinového typu*. Mezi další stimulátory sekrece inzulínu patří nesteroidní antirevmatika a α -sympatolytika. Terapie *beta-blokátory*, především neselektivními preparáty, se může podílet na snížení sekrece inzulínu a zvýšení inzulínové rezistence. Stejně tak snižují sekreci inzulínu široce užívané *glukokortikoidy, diuretika, ethanol a diazoxid*.

GLUKAGON

Glukagon je hormon tvořený α -buňkami Langerhansových ostrůvků. Molekula preproglukagonu, exprimovaná také v L buňkách střeva a hypotalamu, je též prekurzorem GLP-1 a GLP-2. Z molekuly proglukagonu o 179 aminokyselinách se v průběhu zrání odstěpí N a C koncový segment a vznikne tak funkční molekula glukagonu o 29 aminokyselinách.

Mechanismus účinku glukagonu je zprostředkován specifickými receptory cílových tkání. Účinek glukagonu je omezen krátkou dobou působnosti (poločas 5 minut), jeho efektorovými tkáněmi jsou především játra a tuková tkáň, metabolismus svalů ovlivňuje v omezené míře. Jeho metabolické účinky lze charakterizovat jako antagonistické k inzulínu (Tab. 3).

Aktivační efekt glukagonu	Inhibiční efekt glukagonu
Glykolýza Glykogenolýza Glukoneogeneze (z aminokyselin a laktátu)	Syntéza glykogenu
Lipolýza	Syntéza mastných kyselin, TAG a cholesterolu

Tabulka 3. Aktivační a inhibiční efekt inzulínu na energetický metabolismus (2, 12)

Produkce glukagonu je, podobně jako u inzulínu, regulována na několika úrovních.

1. Základní regulátor představuje opět **aktuální glykemie**. Snížená hladina glukózy v krvi sekreci glukagonu stimuluje, zvýšená glykemie ji potlačuje – přímo či prostřednictvím inzulínu. Obdobně působí i přítomnost mastných kyselin a glukogenních aminokyselin. Důležitým regulátorem s ohledem na ketogenní efekt glukagonu je ketonemie, jež produkci tohoto působku inhibuje.
2. Tvorbu glukagonu dále podněcují katecholaminy, prostaglandiny, růstový hormon a gastrin. Tlumí ji naopak inzulín, somatostatin, sekretin a estrogény.
3. Některá **farmaka** mohou též ovlivňovat hladinu glukagonu. Z běžně užívaných jsou to především: furosemid a L-dopa ve smyslu stimulace, dále betablokátory, ibuprofen a diazepam ve smyslu inhibice.

4. V neposlední řadě hladinu glukagonu ovlivňují *specifické stavy*, v nichž se pacient nachází. Hladovění, cvičení a stres tak hladinu glukagonu zvyšují, těhotenství má naopak tlumící efekt.

DALŠÍ KLINICKY VÝZNAMNÉ HORMONÁLNÍ REGULÁTORY GLYKEMIE

Inkretiny představují skupinu polypeptidů produkovaných střevní sliznicí v odpověď na perorální příjem potravy (inkretinový efekt). Patří k hormonům tzv. enteroinzulární osy. GLP-1 (glucagon like peptid) a GIP (glukózodependentní inzulintropní polypeptid) jsou nejvýznamnějšími regulátory glykemie. Stimulují uvolnění inzulínu postprandiálně, syntézu inzulínu de novo, i expresi GLUT2. Zároveň mají pozitivní vliv na β -buňky pankreatu ve smyslu stimulace proliferace a inhibice apoptózy. K dalším klinicky významným efektům patří zpomalené vyprazdňování žaludku, navození pocitu sytosti a protektivní vliv na kardiovaskulární systém.

Kortikoidy se v rámci zvýšené endogenní produkce či exogenního terapeutického podávání často podílejí na poruchách glukózového metabolismu. Diabetogenní účinek je dán snížením utilizace glukózy, zvýšením glukoneogeneze a prohloubením inzulínové rezistence na receptorové i postreceptorové úrovni. Dále je jimi ovlivněna většina glukoregulačních hormonů.

Nadměrná produkce **růstového hormonu** působícího prostřednictvím IGF-1 (insulin growth factor-1) negativně zasahuje do glukózového metabolismu. Vlivem nárůstu inzulínové rezistence je asi 60 % pacientů s nadměrnou produkcí růstového hormonu postiženo sníženou glukózovou tolerancí, 20 % pacientů splňuje již kritéria diagnózy diabetes mellitus.

Nemoci štítné žlázy patří v naší populaci k velmi frekventovaným. Změny v hladinách **hormonů štítné žlázy** jsou spojeny s alterací utilizace glukózy a sekrece inzulínu, jsou proto provázeny poruchami glukózového metabolismu .

3.1.3. Inzulínorezistence

Inzulínová senzitivita vyjadřuje míru schopnosti inzulínependentních tkání využít inzulínu k biologickému (především metabolickému) efektu. Zvýšená inzulínová rezistence tedy naopak všeobecně charakterizuje stav, kdy je účinek inzulínu v tkáních nedostatečný.

Stavy spojené se zvýšenou inzulinorezistencí zahrnují:

1. Poruchu struktury inzulínu

– porucha přeměny proinzulinu, abnormální molekula inzulínu

2. Patologii cílové tkáně

a) *Primární porucha*

- mutace genu pro inzulínový receptor, tyrozinkinázu, signální proteinovou kaskádu, glukózové transportéry, glukokinázu atd.

b) *Sekundární porucha*

- prozánětlivý stav
- elevace kontraregulačních hormonů
- hyperinzulinismus
- metabolické příčiny (hyperglykemie, acidóza, alkalóza, elevace volných mastných kyselin, oxidační stres atd)
- stoupající věk, obezita, těhotenství
- protilátky proti inzulínu či jeho receptoru
- neadekvátní aktivita vegetativního nervstva či CNS
- některá farmaka (rifampicin, progesteron, kortikoidy, atd.).

Vybrané aspekty etiopatogeneze inzulinorezistence

Etiopatogeneze abnormální inzulínové rezistence zahrnuje složitý, dosud ne plně ozřejmený, soubor metabolických procesů. Pokles inzulínové senzitivity je dlouhodobě dáván do souvislosti s poklesem oxidačně fosforylační **funkce mitochondrií** (až o 40 %), jež přispívá ke zvýšené akumulaci lipidů ve svalové tkáni, následně i ke vzestupu inzulinorezistence (5). Pokles funkce tvorby ATP v mitochondriích byl zaznamenán i u dětí pacientů s diabetes mellitus 2. typu (přibližně o 30 %) (6). Recentně je ovšem tato teorie přehodnocována vzhledem k faktům vyplývajícím z novějších studií: 1/ počet mitochondrií se nemění se zlepšením inzulínové rezistence (7), 2/ inzulín sám je stimulatorem tvorby mitochondrií (8), 3/ některé animální studie i studie s lidskými subjekty poukazují na zhoršení inzulinorezistence provázející zlepšení metabolické funkce mitochondrií (9, 10, 11). Navíc mnohé z inzulinsenzitizujících medikamentů tvorbu ATP mitochondrií naopak inhibují (metformin, thiazolidindiony) (12). O změně funkce mitochondrií v souvislosti s inzulinorezistencí proto nyní uvažujeme spíše jako o důsledku než příčině tohoto stavu.

Elevace plazmatických hladin volných mastných kyselin (FFA) je považována za další důležitý faktor zapříčiňující zhoršení inzulínové senzitivity. Zvýšení FFA, často provázené elevací TAG, je typické pro diabetiky 2. typu (13), stejně jako bylo zaznamenáno u jejich potomků v porovnání dětmi nediabetiků (14). Nadměrné množství volných mastných kyselin přispívá k inhibici inzulín-dependentního transportu inhibicí IRS-1 (inzulín-receptor substrate) (15) mechanismem zasažení funkce *fosfatidylinositol (PI)-3-kinázy*, jež hraje zásadní úlohu v aktivaci GLUT4 (16). Někteří autoři zmiňují možnost nadměrné aktivace mitochondriální β -oxidace mastnými kyselinami, což má za následek excesivní produkci ATP a acetyl-CoA. Nadbytek ATP by se mohl podílet na inhibici AMPK (*5' AMP-activated protein kinase*) – enzymu zásadního pro buněčnou energetickou homeostázu - což následně vede k vzestupu inzulínorezistence (17, 18). Nadměrná oxidace FFA či glukózy se může podílet na vzniku inadekvátního množství kyslíkových radikálů.

Oxidativní stres hraje roli především u starších pacientů či dlouhodobě špatně kompenzovaných diabetiků prvního typu (19, 20). Kyslíkové radikály se podílejí na rozvoji inzulínorezistence zvláště cestou aktivace inflamatorních kaskád (19). Reakce **imunitního systému** na chronický inzult je jedním ze zásadních mechanismů přispívajících ke snížené inzulínové senzitivě. V souvislosti s inzulínorezistencí je zmiňováno především zvýšení aktivity JNK (c-JUN N-terminální kinázy) zahrnuté v procesu inhibice IRS-1 (insulin receptor substrate-1) fosforylace. IRS-1 protein představuje jeden z klíčových proteinů inzulínové signalizační kaskády. JNK je aktivována inflamatorními působky (IL-6, IL-10, TNF α atd.) (21). Kromě inhibice IRS-1 tímto prostřednictvím dochází též k inhibici PPAR γ (*peroxisome proliferator-activated receptors*), nukleárních receptorů ovlivňujících především metabolismus mastných kyselin a sacharidů, stimulují adipogenezu a intracelulární ukládání tuků (22).

Za zásadní pro vznik a rozvoj inzulínové rezistence je dnes považovaná **kumulace tuku v jaterní tkáni** (NAFLD – non-alcoholic fatty liver disease), související především s dlouhodobým příjmem energeticky inadekvátní diety. Animální modely potvrzují, že hepatální známky inzulínorezistence v takovém případě předcházejí periferní projevy především inzulínorezistence v kosterním svalu (23, 24, 25). Při snížené aktivitě IRS-1 a IRS-2, typické pro hepatální inzulínorezistenci, klesá tvorba glykogenu, naopak je akcentována tvorba glukózy. Chronická hyperglykemie vede k vzestupu produkce inzulínu pankreatem. **Hyperinzulinemie** však inzulínovou rezistencí nejen fixuje, ale též dále prohlubuje. Nadměrný účinek inzulínu může ovšem stát i u zrodu inzulínové rezistence (26, 27).

3.1.4. Kvantifikace inzulínové senzitivity/rezistence

Hodnocení inzulínové rezistence v běžné praxi nemá větší význam, orientačně posuzujeme míru inzulínorezistence dle lačné glykemie. Pro studijní účely se ovšem s hodnocením inzulínové rezistence setkáme velmi často, nejen v oboru diabetologie.

Nejčastěji využívané indexy inzulínové senzitivity:

1/ HOMA - Homeostasis model assessment

- vyjadřuje míru inzulínové senzitivity, o zvýšené inzulínorezistenci hovoříme v případě hodnot vyšších než 2.68.

(G_0 – glykemie nalačno v mmol/l; IRI_0 – koncentrace imunoreaktivního inzulínu nalačno $\mu U/ml$)

$$HOMA = (G_0 \times IRI_0) / 22.5$$

2/QUICKI - Quantitative Sensitivity Check Index

$$QUICKI = 1 / (\log IRI_0 + \log G_0)$$

3/ Ostatní méně užívané indexy (Invertovaná inzulínie nalačno, Raynaudův index, Belfioreův index, index lačné glykemie, atd.)

Indexy celkově nejsou vhodné u diabetiků s významnou poruchou endogenní produkce inzulínu. Jsou vhodné u nediabetiků a diabetiků 2. typu s mírnou poruchou inzulínové sekrece.

Zlatým standardem v přesném hodnocení inzulínové rezistence je vyšetření metodou **tzv. clampu**. Clampová technika byla poprvé popsána v 70. letech 20. století texaským lékařem Ralphem De Fronzem (28). Obecný princip metody spočívá v dosažení a udržení požadovaného rozmezí glykemie 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 užívanými clampovými technikami je technika hyperglykemického clampu a hyperinzulinemického euglykemického clampu. Lze však provádět např. i clampy normo- či hypoglykemické.

Hyperglykemický clamp

Užívá se především ke zhodnocení sekrece inzulínu a kvantifikaci míry tolerance glukózy. Hyperglykémii lze navodit dle původního De Fronzova modelu kontinuální infuzí v průběhu prvních 15ti minut /elevace o ~7 mmol/l v porovnání s lačnou glykemií; v dávce 1.768 →238 mg/m², změna á 1 min/ (28), či jednorázovou bolusovou dávkou většinou 40% glukózy:

$$\text{Bolus} = \frac{(G_{\text{pož}} - G_{\text{akt}}) \times 18 \times 10 \times 0.19 \times m}{c_{\text{glu}} \times f}$$

Bolus (ml), $G_{\text{pož}}$ – požadovaná glykemie (mmol/l), G_{akt} - aktuální glykemie (mmol/l), m – hmotnost pacienta (kg), f – korekční factor (1.35), c_{glu} – koncentrace glukózy (mg/ml) (181).

Obvykle se cílová hyperglykemie pohybuje kolem 12 mmol/l, všeobecně lze však míru hyperglykemie zvolit libovolně v rozmezí 10-20 mmol/l. Rychlost infuze glukózy (většinou 15%) stabilizující glykémii, jež je titrována na základě pravidelných odběrů venózní krve (á 5 minut), bývá v praxi titrována empiricky, orientačně ji lze vypočíst dle tohoto vztahu:

$$V_{\text{glu}2} = v_{\text{glu}1} + ((G_{t_1} - G_{t_2}) \times 18 \times 10 \times 0.19 / (t_1 - t_2)) \times (m \times 60 / c_{\text{glu}})$$

$V_{\text{glu}2}$ - nová rychlost infuze glukózy (ml/hod), $G_{t_1,2}$ jsou hodnoty glykemie (mmol/l) v časech t_1 , t_2 (min), m je hmotnost pacienta (kg), c_{glu} je koncentrace glukózy v roztoku (mg/ml) (181).

V průběhu hyperglykemického clampu jsou prováděny krevní odběry ke stanovení IRI (imunoreaktivní inzulin). Vzhledem k vystupňované endogenní produkci inzulinu v průběhu clampu, může být pacient po ukončení měření ohrožen hypoglykemií, je proto třeba jej zajistit perorálním příjmem sacharidů a monitorovat glykémii minimálně 2 hodiny po přerušení intravenózní infuze glukózy.

Hypoglykemický clamp

Představuje zlatý standard pro charakteristiku reakce kontraregulačních hormonů v odpovědi na hypoglykémii. Fyziologicky reaguje nejprve glukagon a adrenalin (20-40 minuta), pozdější nástup má kortizol a růstový hormon (50 - 70 minuta).

Infuze inzulinu bývá zahájena rychlostí $1-2 \text{ mU} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, bez nutnosti úvozející dávky. Po dosažení cílové glykémie udržujeme její hladinu infuzí glukózy (15%) obdobně jako u předchozích typu clampu. Počáteční rychlost infuze glukózy lze zjistit vzhledem k předpokladu, že metabolická clearance glukózy (MCR_{glu} , $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) je v obou periodách konstantní.

$$\text{MCR}_{\text{glu}1} = \text{MCR}_{\text{glu}2}$$

$$v_{\text{glu}1}/Gt_1 = v_{\text{glu}2}/Gt_2$$

$$v_{\text{glu}2} = (Gt_1 - Gt_2) \times 18 \times 10 \times 0.19 / (t_1 - t_2) \times (m \times 60 / c_{\text{glu}}) \times Gt_2 / Gt_1$$

$v_{\text{glu}2}$ - nová rychlost infuze glukózy (ml/hod), $Gt_{1,2}$ jsou hodnoty glykémie (mmol/l) v časech t_1, t_2 (min), m je hmotnost pacienta (kg), c_{glu} je koncentrace glukózy v roztoku (mg/ml (181)).

Alternativním postupem při iniciaci hypoglykemického clampu je stabilizace při lačné glykémii (cca 20-30 minut), za aplikace inzulinu a infuze glukózy. Po stabilizaci glykémie provedeme odběr kontraregulačních hormonů, následně přerušíme infuzi glukózy do dosažení požadované glykémie. Poté opět spustíme infuzi glukózy. V rámci cca 30 minut trvající stabilizované hypoglykémie odebíráme hladiny kontraregulačních hormonů.

Hyperinzulinemický - euglykemický clamp

Užívá se ke zhodnocení inzulínové sensitivity, umožňuje kvantifikovat schopnost utilizace glukózy. Cílové glykemie při euglykemickém clampu se pohybují v rozmezí 4.5-5 mmol/l, odpovídají tedy lačným normoglykemiím zdravého jedince.

Hyperinzulinemii lze navodit v průběhu prvních 10 minut kontinuální infuzí krátce působícího inzulínu /navýšení plazmatické koncentrace inzulínu o 100 uU/ml; v dávce 127.6 →45 mU/m², změna á 1 min/, či 10 minutovou aplikací dvojnásobné udržovací dávky inzulínu. Udržovací dávka inzulínu dle původního De Fronzova schematu je 40 mU*m⁻²*min⁻¹. V praxi je často užíván přepočít na hmotnost pacienta (např. 1 mUI * kg⁻¹*min⁻¹ vedoucí k hyperinzulinemii cca 75µU/ml (28,181), ačkoliv u obézních jedinců (BMI ≤ 30 kg/m²) je vhodnější přepočít na tělesný povrch.

Dávka glukózy je titrována obdobně jako při hyperglykemickém clampu, cílové jsou hodnoty lačné normoglykemie. Počáteční rychlost glukózy, jež začínáme podávat ve 4. minutě clampu, obvykle bývá 2 mg/kg⁻¹ min⁻¹, dále je dávka titrována většinou empiricky, lze ovšem opět využít následujícího vzorce:

$$V_{glu2} = v_{glu1} + ((G_{t1}-G_{t2}) \times 18 \times 10 \times 0.19 / (t_1 - t_2)) \times (m \times 60 / c_{glu})$$

V_{glu2} - nová rychlost infuze glukózy (ml/hod), $G_{t1,2}$ jsou hodnoty glykemie (mmol/l) v časech t_1, t_2 (min), m je hmotnost pacienta (kg), c_{glu} je koncentrace glukózy v roztoku (mg/ml (181)).

Základní výstupní hodnotou hyperinzulinemického euglykemického clampu je **M** ($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$), **spotřeba glukózy** v průběhu stabilní periody, v posledních 30-40 minutách clampu. Poskytuje charakteristiku účinku inzulínu.

$$M = v_{glupr\ddot{u}m} / K_{glu}$$

$$K_{glu} = m \times 60 / c_{glu}$$

kde $v_{glupr\ddot{u}m}$ představuje průměrnou rychlost infuze glukózy v dané periodě (ml/hod), K_{glu} je konstanta, c_{glu} je koncentrace glukózy v roztoku (mg/ml).

Při ztrátách glukózy močí či při odlišné hodnotě vstupní a výstupní glykemie monitorované periody je třeba hodnotu M korigovat, vzhledem ke změnám obsahu glukózy v distribučním prostoru.

$$M_{korig} = (v_{glupr\ddot{u}m} / K_{glu}) + (G_{t_1} - G_{t_2}) \times 18 \times 10 \times 0.19 / (t_1 - t_2)$$

kde $G_{t_{1,2}}$ jsou hodnoty glykemie ($mmol/l$) v časech hodnocené periody t_1, t_2 (min).

Dalším důležitým parametrem je **MCR - metabolická clearance glukózy** ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$): jde o parametr odklánějící vliv non-inzulíndependentního transportu a rozdílné glykemie, na rozdíl od M hodnoty, která je výše uvedenými modalitami významně ovlivněna.

$$MCR = M_{korig} / G_{pr\ddot{u}m} \times 100/18$$

Obě dvě výše zmíněné výstupní hodnoty bývají uváděny v indexech (**M/I; MCR/I**) s průměrnou hodnotou plazmatické hladiny imunoreaktivního inzulínu v průběhu stabilní periody (mU/ml).

Clampové techniky, především hyperinzulinemický euglykemický clamp (HEC), jsou od svého zavedení široce užívané i modifikované pro potřeby in vivo experimentů (29-33). Podrobnější charakteristiku inzulínové senzitivity může poskytnout tzv. víceúrovňový (většinou dvouúrovňový) clamp (30), při němž je dále navyšována dávka aplikovaného inzulínu (např. 1, 5, 10 mU* kg⁻¹ * min.⁻¹). Každý další stupeň clampu je třeba zahájit novou úvodní dávkou (184).

Diskutovaný vliv hyperinzulinemie na vazodilataci (34), tedy na rychlost vychytání glukózy v tkáních, byl předmětem mnoha studií. Vazodilatace navozená intravenózní aplikací inzulínu vyžaduje řádově hodiny, zatímco akceleraci uptake glukózy je možno detekovat v průběhu minut (35). Vychytávání glukózy (10x nárůst) v porovnání s mírou vazodilatace (2x nárůst průtoku) tak vykazuje disproporcionalitu. Navíc jiné medikamenty zvyšující krevní průtok nemají účinkem samotné vazodilatace vliv na glukózový uptake (36). Navýšení glukózového uptake při aplikaci vysokých dávek inzulínu se tedy jeví být spíše s vazodilatací nesouvisejícím efektem NO, aditivním k efektu inzulínu (37, 38, 39).

Hyperinzulinemický euglykemický clamp bývá pro studijní účely často kombinován s **nepřímou kalorimetrií**. Kombinace těchto dvou metod poskytuje informace o substrátové utilizaci a převažujícím oxidativním/neoxidativním zpracování glukózy. Nepřímá kalorimetrie bývá prováděna před samotným clampovým vyšetřením a v jeho průběhu. Součástí správné kalkulace takového vyšetření je měření odpadu dusíku urey do moči. K tomuto účelu se zdá nejvhodnější sběr moči před clampem a v průběhu clampového vyšetření. Nezbytná je korekce na změny v distribučním prostoru urey (183, 185).

Clampové techniky nacházejí ve výzkumné praxi nejčastěji využití v měření inzulínové rezistence u diabetiků a obézních pacientů podléhajících intervenci (diety, cvičení), dále u pacientů užívajících medikaci interferující s inzulínovou senzitivitou.

3.2. METABOLISMUS LIPIDŮ

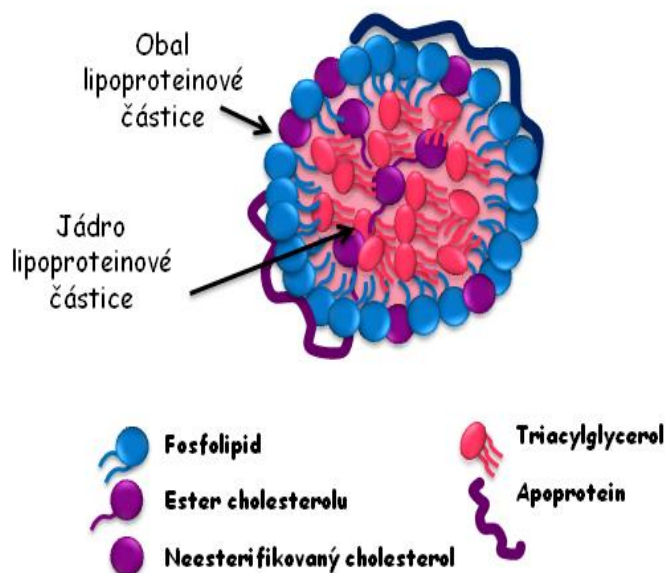
Lipidy a steroidy hrají důležitou roli ve stavbě a metabolismu buněk, ať již jako triacylglyceroly, energetická zásobárna buněk, nebo coby fosfolipidy, glykolipidy či cholesterol - integrální součásti biomembrán.

Trávení lipidů a cholesterolu přijatých dietou iniciuje linguální a žaludeční lipáza. Vzhledem k nerozpustné povaze lipidů je k dostatečně efektivnímu trávení třeba přítomnost žlučových kyselin, aktivních emulzifikátorů. Žlučové kyseliny se též zásadně podílejí na aktivaci pankreatických enzymů. V duodenu a jejunu dochází ke štěpení vlivem pankreatické lipázy, cholesterolesterázy, fosfolipáz a dalších enzymů. Natrávená směs lipidů se ve formě tzv. "směsné micely" dostává k povrchu střevních buněk, kde se bezprostředně před transportem rozpadá a její složky pasivně procházejí membránou enterocytu.

3.2.1. *Metabolismus lipoproteinových částic*

Po absorpci do enterocytu jsou lipidy dále štěpené a zpracované v závislosti na délce řetězce mastných kyselin. Kratší mastné kyseliny a glycerol se portální žilou dostávají přímo

do jater. Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem jsou po vazbě na FABP (*fatty acid binding protein*) obratem reesterifikovány a v podobě chylomikronů jsou transportovány do ductus thoracicus. Součástí tvorby chylomikronů a jiných lipoproteinových částic (Obr. 4, Tab. 3.) je vazba na apoproteiny, důležité signalizační molekuly aktivující následně příslušné enzymové komplexy.



Obrázek 4. Struktura lipoproteinové částice

(Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/U%C5%Beivatel:Lfial>)

Typ lipoproteinových částic	Základní charakteristika
Chylomikrony	Apoprotein B ₄₈ , E, C-I-III; tvorba v enterocytech
VLDL	Apoprotein B ₁₀₀ , E, CI-III; tvorba v játrech a enterocytech
IDL	Zdrojem jsou VLDL
LDL	Apoprotein B ₁₀₀ , zdrojem je VLDL a IDL
HDL	Apoprotein A-I, II; C-I-III; D; E; tvorba v hepatocytech a enterocytech

Tabulka 3 Charakteristika základních skupin lipoproteinů

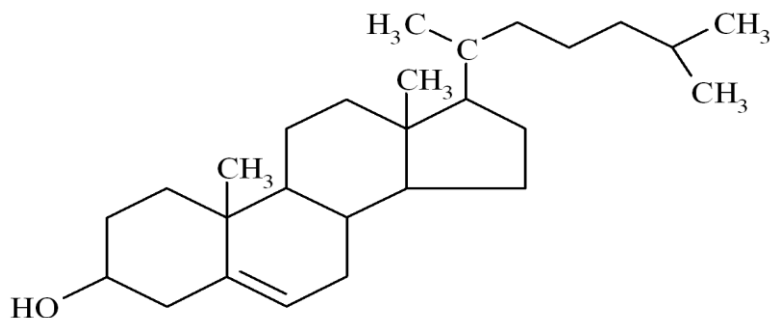
Chylomikrony a VLDL jsou z ductus thoracicus vyplaveny do krevního oběhu, kde jsou degradovány lipoproteinovou lipázou (LPL), aktivovanou apoproteinem C II. Na endotelu kapilár se z nich uvolňují řetězce mastných kyselin, probíhá výměna partikulí mezi jednotlivými částicemi. Postupně tak vznikají chylomikronové zbytky obohacené o cholesterolové estery. Jejich degradace probíhá v játrech. Zde zároveň z chylomikronových remnant a nově syntetizovaného cholesterolu po navázání na apoproteiny vznikají VLDL. V krevním oběhu vznikají z VLDL činností lipoproteinové lipázy lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL), jež se vychytávají na tkáňových LDL receptorech. Za účasti apoE a apoB₁₀₀ je zde cholesterol přijímán tzv. receptorovou endocytózou, LDL tak představují hlavního donora cholesterolu do tkání. HDL částice naopak z tkání cholesterol efektivně odčerpávají (reverzní cholesterolový transport) za přispění funkční vazby s apoproteinem A-I (40), který aktivuje lecithin-cholesterolacyltransferázu (LCAT) zajišťující esterifikaci cholesterolu. Částice přejímá TAG a volný cholesterol, odevzdává naopak esterifikovaný cholesterol spolu s apoproteinay C a E. Stává se tak zakulacenější a objemnější. Podtyp HDL₂ je následně vychytán v játrech, kde je obnovena funkční kapacita částice.

3.2.2. *Metabolismus cholesterolu*

Cholesterol (*Obr. 5*) je látka zásadní pro veškeré tkáně organismu, je důležitou součástí biomembrán ovlivňuje jejich propustnost a metabolickou aktivitu. Stojí na počátku syntézy steroidů. Fyziologická hladina cholesterolu v plasmě se pohybuje v rozmezí 3.5-5.5 mmol/l.

Nalézáme jej tu (stejně jako ostatní steroly) ve formě esterů mastných kyselin (hlavně kyseliny linolové a olejové), dále ve formě volné, neesterifikované.

Zdrojem cholesterolu je jednak dieta (viz výše), jednak endogenní syntéza. **Dietou** lze hladinu cholesterolu ovlivnit jen omezeně, denně se vstřebá cca 250-500 mg cholesterolu. Důležitým faktorem modifikujícím množství vstřebaného cholesterolu je přítomnost transportního proteinu v kartáčovém lemu enterocytů tzv. Niemann-Pick C1 like 1 proteinu – NPC1L1 (41).



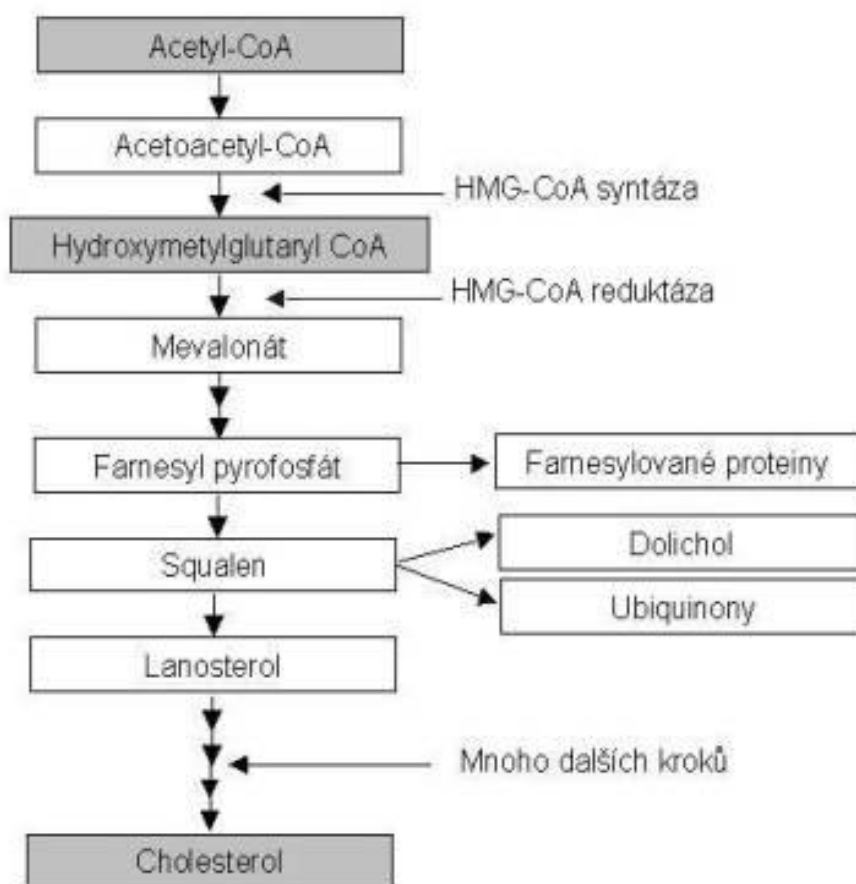
Obr.5 Molekula cholesterolu

Zásadní pro množství cholesterolu je **endogenní syntéza** (Obr. 6). Lidský organismus denně vytvoří asi 1 g cholesterolu. Centrem syntézy cholesterolu jsou játra, byť mimojaterní produkce (kůra nadledvin, střevo, kůže) též není zanedbatelná. Syntéza probíhá v cytosolu buňky ze dvou molekul acetátu, které se sloučí v acetoacetyl-CoA. *HMG-CoA syntáza* následně katalyzuje vznik β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA (HMG-CoA). Dalším krokem je vznik mevalonátu za účasti **HMG-CoA- reductázy**. Tento enzym je hlavním kontrolním místem syntézy cholesterolu. Jeho aktivita je negativně zpětnovazebně regulována samotnou molekulou cholesterolu. Vliv na HMG-CoA- reductázu mají i hormony zásadní pro regulaci metabolismu sacharidů - inzulin a glukagon. Inzulin snižuje cAMP, čímž aktivuje *HMG-CoA- reductázu* a zvyšuje endogenní syntézu cholesterolu. Glukagon působí opačně, snižuje tedy produkci cholesterolu. *HMG-CoA- reductáza* je též místo terapeutického zásahu statiny, které cestou zvýšení koncentrace cAMP snižují *aktivitu HMG-CoA- reductázy*. Mevalonát je následně převeden na **izoprenové jednotky**, které kondenzují a *skvalensyntázou* se spojují v 30-uhlíkatý **skvalen**. Ten se mění na lanosterol, vybavený již steroidním jádrem. Syntéza dále probíhá přes další významné meziprodukty až k výsledné molekule cholesterolu.

Rychlost tvorby cholesterolu je celkově regulována především:

- 1/ aktivitou HMG-CoA- reduktázy
- 2/ rychlostí esterifikace cholesterolu
- 3/ syntézou LDL receptorů (akcelerováno např. ↑ hormonů štítné žlázy)

Molekula cholesterolu se zabudovává do lipoproteinů (viz výše) a do buněčných membrán. Část (80-90 % dietou přijatého cholesterolu) podléhá esterifikaci, jež je katalyzována LCAT. Většina nově syntetizovaného cholesterolu (až 75 %) se převážně hydroxylacemi mění na žlučové kyseliny. Cholesterol syntetizovaný v kůži se v malém množství mění na prekurzor vitamínu D – 7-dehydrocholesterol. V neposlední řadě stojí cholesterol na počátku syntézy steroidních hormonů (42).



Obrázek 6. Syntéza cholesterolu (Zdroj:<http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/A/SVAAP.htm>)

Stanovení cholesterolové syntézy a absorpce

Nejčastěji užívanou metodiku stanovení endogenní syntézy cholesterolu představuje MIDA (mass isotopomer distribution analysis), využívající inkorporaci ^{13}C značeného acetátu do syntetizovaného cholesterolu (43). Podobně lze využít i inkorporaci deuterium oxidu (44). Míru absorpce cholesterolu lze na experimentální úrovni stanovit značením metabolitu cholesterolu, tzv. „double tracer“ metoda (45). K posouzení metabolismu cholesterolu je též frekventně využíváno stanovení prekurzorů cholesterolové syntézy a fytosteroly. Detekce je možná ve vydechovaném vzduchu (izopren) (46), v moči, plazmě či žluči (47, 48).

Plazmaticky stanovované prekurzory syntézy cholesterolu s hydroxylovou skupinou na 3C steroidního jádra a steroly rostlinného původu (fytoosteroly) nazýváme **necholesterolové steroly**. **Markery syntézy** (lathosterol, lanosterol, 7-dehydrocholesterol) jsou z buněk uvolňovány v neesterifikované formě (pouze neesterifikovaná forma methylsteroidů představuje marker (49)) rychlostí odpovídající biosyntéze.

Skvalen, prekurzor cholesterolové syntézy, představuje 30C uhlovodík bez steroidního jádra. V přírodě je nejvýznamněji zastoupený v tuku z jater žraloka (80 %), dále v amarantovém (10 %) i olivovém oleji (2 %). V lidském organismu je majoritně syntetizován v játrech, obsahem se majoritně nachází především v tukové tkáni a v kůži. V plazmě, vázaný především na VLDL, vykazuje cirkadiální změny (50). V lidském těle mimo jiné působí jako antioxidant, dle některých zdrojů s protektivním účinkem proti karcinomu rekta (51).

Lathosterol je dalším důležitým prekurzorem syntézy cholesterolu. V praxi se užívá především poměr lathosterol/cholesterol (stabilní v lipoproteinových částicích), který je považován za vůbec nejpřesnější marker endogenní syntézy. Plazmatická hladina lathosterolu odpovídá aktivitě HMG-CoA reduktázy (45).

Fytoosteroly, základní stavební kameny buněčné stěny rostlin, se od cholesterolu liší strukturou postranního řetězce. V lidském organismu se netvoří, jejich plazmatická hladina proto vypovídá o míře **absorpce z diety** (52). Denní příjem činí asi 200-300 mg fytosterolů, absorbují se přitom maximálně z 5 % (53). Hydrolyzované formy fytosterolů jsou schopny vytěsněním z vazby snížit absorpci cholesterolu a snížit tak hladiny LDL (54). Nadbytek fytosterolů na druhou stranu akceleruje aterogenezi (55) mění vlastnosti žlučových kyselin a podporuje formování žlučových kamenů (56). Spekuluje se též o zvýšení fragility erytrocytů ve spojitosti s hyperfytosterolemií (57).

β -sitosterol je v naší dietě nejvíce zastoupen (v řepkovém, slunečnicovém i olivovém oleji). **Campesterol** se v nízkých koncentracích nachází s širokým dietním spektrem (obiloviny, brambory, ovoce).

3.2.3. *Metabolismus mastných kyselin*

Mastné kyseliny se uvolňují v průběhu trávení z lipidů. Představují nejen důležitý energetický substrát, mají také vliv na permeabilitu a funkci membránových struktur. Důležitá je role vyšších nenasycených mastných kyselin ω -3 a ω -6 v syntéze tkáňových mediátorů uplatňujících se v koagulaci, inflamatorní reakci a regulaci vaskulárního tonu. ω -6 mastné kyseliny v nadbytku podporují tvorbu prozánětlivých a aterogenních mediátorů, naopak ω -3 mastné kyseliny a jejich produkty mají antiinflamatorní efekt a působí protektivně proti vzniku a rozvoji endotelové dysfunkce (58). V plasmě cirkulují mastné kyseliny jako neesterifikované (NEFA, NEMK), navázané v komplexu s albuminem. Zatímco krátké mastné kyseliny a glycerol putují portální žilou do jater, vyšší mastné kyseliny jsou po vazbě na FABP (*fatty acid binding protein*) reesterifikovány a transportovány do ductus thoracicus. Do buněk vstupují mastné kyseliny metodou prosté i facilitované difuze (59).

Mastné kyseliny delší než 18 uhlíků a nenasycené mastné kyseliny se degradují v peroxizomech, zatímco β -oxidace mastných kyselin do délky 16 uhlíků probíhá v mitochondriální matrix. Předchází jí aktivace mastné kyseliny (*acyl-CoA-syntetáza*) v endoplazmatickém retikulu buňky a na vnější membráně mitochondrie. Vzniká tak acyl-S-CoA. K přestupu mastné kyseliny přes vnitřní mitochondriální membránu využívají delší mastné kyseliny (více než 12ti uhlíkové) karnitin. Při samotné β -oxidaci dochází ke čtyřem reakcím katalyzovaným postupně *acyl-CoA-dehydrogenázou*, *enoyl CoA- hydratázou*, *β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenázou* a *thiolázou*. Při poslední reakci dochází účinkem *thioláz* k odštěpení dvouuhlíkatého fragmentu acetyl-CoA. Původní řetězec mastné kyseliny tak zůstane o dva uhlíky kratší a podstupuje další cyklus β -oxidace. Celkový energetický zisk β -oxidace mastných kyselin tedy závisí na délce řetězce.

Rychlost β -oxidace je regulována:

- 1/dostupností substrátu (mastných kyselin, karnitinu)
- 2/aktivitou karnitintransferázy
- 3/rychlostí Citrátového cyklu
- 4/ inzulínem (*inhibice β -oxidace*)
- 5/glukagonem a adrenalinem (*aktivace β -oxidace*)
- 6/aktivitou PPAR α a δ

Nemá-li organismus dostatečný přísun sacharidů, dochází ke zintenzivnění β -oxidace mastných kyselin. Velká množství takto vzniklého acetyl-CoA ovšem nejsou majoritně zpracována citrátovým cyklem (nedochází ke sloučení s oxalacetátem, který je přednostně využíván pro glukoneogenezu), ale stávají se výchozím substrátem pro vznik ketolátek (kyselina acetoctová, β -hydroxymáselná, aceton). Proces ketogeneze se odehrává pouze v játrech. Na jeho počátku dochází ke sloučení dvou molekul acetyl-CoA *thiolasou*. Za účasti *HMG-CoA synthasy* je dále připojena třetí molekula acetyl-CoA. Vzniká tak šestiuhlíkatý β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA (HMG-CoA), látka společná ketogenezi a syntéze cholesterolu. Účinkem *lyázy* je následně molekula HMG-CoA rozštěpena na acetyl-CoA a **acetoacetát**. Z acetoacetátu v mitochondriální matrix majoritně vzniká **β -hydroxybutyrát** (*3-hydroxybutyrátdehydrogenáza*), může též podlehnout dekarboxylaci na **aceton** (vylučovaný dechem a močí). Ketogeneze je regulována především mobilizací mastných kyselin z depotního tuku, jejich esterifikací na triacylglyceroly a mírou vstupu acetyl-CoA do citrátového cyklu.

Za fyziologických podmínek se ketolátky v krvi objevují v malém množství. Představují důležitý energetický substrát především pro srdeční a kosterní svalstvo, v menší míře pro ledviny. Při dlouhodobějším hladovění je ovšem využívá i mozková tkáň.

Klinicky může k nadměrnému vzniku ketolátek dojít jednak dlouhodobým, nedostatečným přísunem sacharidů. Nejčastěji se s ketózou setkáme u diabetiků, ať již nově diagnostikovaných pacientů s diabetes mellitus 1. typu, či všeobecně u špatně kompenzovaných pacientů s vyhasínající endogenní sekrecí inzulínu. Závažný a nijak vzácný je také vznik ketózy jako komplikace při terapii inzulínovou pumpou.

Syntéza mastných kyselin probíhá narozdíl od β -oxidace především v buněčném cytosolu jater, ledvin, tukové tkáně, mozku, laktující mléčné žlázy, v menší míře i v jiných tkáních. De novo se takto tvoří kyseliny s nasyceným řetězcem do délky 16ti uhlíků. Výchozí látkou je opět **acetyl – CoA**, který za reakce s oxalacetátem vytvoří citrát, shcopný prostupu z mitochondrie do cytosolu. Zde se látka znovu rozloží na acetyl – CoA a oxalacetát (ten se v podobě pyruvátu vrací do mitochondrie). Dvě molekuly acetyl-CoA (jedna z nich je v úvodu karboxylována na malonyl CoA) jsou po navázání na ACP (acyl carrier protein) kondenzovány na acetoacetyl-ACP. V dalším průběhu dochází postupně k *hydrogenaci*, *dehydrataci* a opět *hydrogenaci* – reakcím zrcadlovým procesu β -oxidace. Vzniklý butyryl-

ACP se znovu kondenzuje s malonyl-ACP, reakce se opakují až do celkové délky řetězce 16 uhlíků. Další případná elongace řetězce je možná v mitochondriích či endoplazmatickém retikulu, kde též v jaterní tkáni probíhá syntéza nenasycených mastných kyselin za účasti enzymů-desaturáz. Lidský organismus disponuje pouze desaturázami zavádějícími dvojnou vazbu pouze do poloh 4-9. Kyselinu linolovou a α -linolenovou je proto možné hradit jen dietou.

Rychlost syntézy mastných kyselin je regulována především:

- 1/ dostupností citrátu
- 2/ koncentrací mastných kyselin mechanismem negativní zpětné vazby
- 3/ inzulinem (defosforylací stimuluje *acetyl-CoA karboxylázu*, nepřímo též ovlivněním pyruvátdehydrogenázového komplexu, stimuluje aktivitu desaturáz)
- 4/ glukagonem, adrenalinem (inhibuje *acetyl-CoA – karboxylázu* fosforylací)
- 5/ inhibice aktivitou AMPK (stoupá se vzestupem poměru AMP/ATP) (60)

3.3. DIABETES MELLITUS 1. TYPU

3.3.1. Základní charakteristika, epidemiologie

Diabetes mellitus je definován jako chronické heterogenní onemocnění vznikající na základě genetické predispozice a přítomnosti určitých faktorů zevního prostředí. Charakterizuje jej elevace glykemie při absolutním či relativním nedostatku inzulínu. Porucha je ovšem komplexní, zasahuje též metabolismus tuků a bílkovin.

První zmínky o tomto onemocnění pocházejí již z období starověkého Egypta, z doby před více než 1500 lety př. Kr. Na odhalení souvislosti mezi diabetes mellitus a patologií slinivky břišní však čekalo lidstvo přes tři další tisíciletí, kdy na toto kauzální spojení r. 1889 upozornili *J. von Mering a O. Minkowski*. Na počátku 20. století (r. 1909) se tak poprvé setkáváme s pojmem **inzulín**, jak *J. de Meyer* nazval hypotetický hormon snižující glykémii (61). Skutečný objev a izolaci inzulínu provedli v Kanadě až o dvanáct let později Frederick Banting a Charles Best (61). Léčbu inzulínem u pacientů s diabetes mellitus 1. typu datujeme od roku 1922, kdy byl bostonským diabetologem *E.P. Joslinem* poprvé aplikován čtrnáctiletému chlapci s touto diagnózou (62). V České republice byla první injekce inzulínu podána jen o rok později profesorem Syllabou (63).

V současnosti čítá diabetická populace celosvětově kolem 347 milionů pacientů. Vzhledem k narůstající incidenci lze předpokládat do roku 2030 překročení hranice 370 milionů diabetiků. Většinu diabetické populace (cca 90 %) tvoří pacienti s diabetes mellitus 2. typu. Diabetes mellitus 1. typu představuje necelých 8% pacientů diabetické populace. Jeho incidence se pohybuje kolem 20 na 100 000 obyvatel, s frekventní manifestací především mezi 13. a 15. rokem života. Geograficky dosahuje incidence diabetes mellitus 1. typu dlouhodobě maxima v severských státech Evropy (Finsko, Švédsko, Dánsko), kde je ročně diagnostikováno až 30 nových pacientů na 100 000 dětí. Naopak asijské státy v čele s Čínou vykazují dlouhodobě nízkou incidenci juvenilního diabetu, narozdíl od diabetes mellitus 2. typu (1, 64).

V České republice se roku 2012 léčilo s cukrovkou více než 841 tisíc pacientů, od r. 1997 to činí nárůst přibližně o 1/3, meziročně jde o nárůst o více než 15 tisíc pacientů. Z celkového počtu je 772 585 diabetiků 2. typu, diabetes mellitus 1. typu byl diagnostikován u 56 514 osob. Zbylý počet pacientů připadá na jiné formy diabetu. K dosavadním údajům je třeba připočítat četnou populaci pacientů s prediabetickou poruchou glukózového

metabolismu (přibližně 60 tisíc) a pacienty, u nichž je diabetes nerozpoznán (celosvětově se hovoří o 20-50 % pacientů v závislosti na socioekonomické situaci země a úrovni zdravotní péče).

Prevalence diabetes mellitus 1. typu v České republice se pohybuje kolem 1/1000 dětí. Každý rok nově onemocní téměř 20 pacientů na 100 tisíc obyvatel, což představuje středně vysokou hodnotu incidence v rámci ostatních evropských států. Znepokojující je ovšem trvale narůstající trend nového výskytu juvenilní cukrovky. Především v kategorii dětí do 15 let patříme ke státům s nejvyšším meziročním nárůstem incidence (65).

3.3.2. Etiopatogeneze

Diabetes mellitus 1. typu je onemocnění způsobené majoritně autoimunitní destrukcí β buněk pankreatu. Ačkoliv se nejedná o klasické dědičné onemocnění, a většina nově diagnostikovaných diabetiků 1. typu nemá v příbuzenstvu tuto diagnózu, v patogenezi se **genetické vlivy** uplatňují asi 50 %. Dědičnost DM 1 je silně asociována především s lokusem MHC (major histocompatibility complex). *MHC molekuly* (HLA – human leucocyte antigens pro lidi) na povrchu buněčných membrán představují specializované vazače peptidových fragmentů, prezentující antigeny T-lymfocytům. Pro etiopatogenezi diabetes mellitus 1. typu jsou zásadní lokusy HLA II. třídy, HLA-DQ a HLA-DR. Velmi rizikové a úzce spjaté především se vznikem juvenilního diabetu jsou podskupiny HLA-DQB1, DQA1, DRB1. Naopak u některých alel byl zaznamenán protektivní vliv (např. HLA-DQB1 *0602). 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, prvoroznost, délka kojení, míra a doba expozice alergenům v dietě (kravské mléko atd.), deficit vitamínu D a další. Výsledkem nespecifického inzultu (např. virový infekce) může být uvolnění intracelulárních peptidů (důležitým antigenem je proinzulin) a jejich rozpoznání HLA molekulou. Aktivace HLA systému následně může nastartovat **autoimunitní reakci** a to jednak ve formě nedestruktivní či destruktivní. *Nedestruktivní forma* - tzv. periinzulární inzulinitis - není nijak vyjímečnou reakcí. Především v dětském věku následuje některá virová onemocnění: zarděnky, příušnice, některé

coxackie virózy. Histologicky nacházíme periinzulární infiltráty se zastoupením Th2 lymfocytů a jejich cytokinů. *Destruktivní inzulinitis* probíhá preferenčně u geneticky predisponovaných jedinců a může dospět do stádia klinicky manifestního diabetu. Histologicky je pro ni typická intrainzulární infiltrace ostrůvků s přítomností především linie a cytokinů Th1 lymfocytů.

Pro vznik a rozvoj autoimunitní inzulinitis je typická **produkce autoprotilátek**, které zřejmě samy o sobě nemají zásadní destrukční vliv na β buňky. Využíváme je jako součást diagnostiky diabetes mellitus 1. typu. V klinické praxi jsou běžně stanovovány protilátky proti inzulinu (IAA), dekarboxyláze kyseliny glutamové (anti-GAD65) a tyrozinkináze (anti IA2). Pro raný dětský věk je typický záchyt především IAA, u dospělých pacientů a větších dětí nacházíme častěji pozitivitu anti-GAD 65.

3.3.3. Manifestace, diagnostika a klasifikace

Progrese destruktivní *autoimunitní inzulinitis* vede k úbytku β -buněk a postupně deterioraci funkce celého endokrinního pankreatu. Nejdříve bývá postižena první fáze sekrece inzulinu. Klinicky manifestním se onemocnění stává ve chvíli, kdy je postiženo přibližně 70-80% β buněk pankreatu. S přítomností stavů charakterizovaných zvýšenou inzulinovou rezistencí (vyšší věk, obezita, chronický infekt, atd.) je diabetes mellitus 1. typu diagnostikován v časnějších stádiích progresivního zániku β buněk.

Klinická manifestace DM1 v dětském a mladém věku bývá v závislosti na agresivitě autoimunitní reakce velmi rychlá. Charakteristickým znakem, vedle polyurie, polydipsie a úbytku hmotnosti, bývá též **rozvoj ketoacidózy**. Diagnostika diabetes mellitus 1. typu v naší klinické praxi spočívá především ve stanovení hodnoty **C-peptidu**, který je klasicky velmi nízký až nulový, a **diabetem asociovaných protilátek**. Vzhledem k tomu, že jde o autoimunitní onemocnění, je třeba mít na zřeteli též možnou asociaci s jinými autoimunitami (nejfrekventněji patologie štítné žlázy a celiakie) či syndromy. U dospělých pacientů se zbytkovou sekrecí inzulinu může docházet k rozvoji diabetes mellitus 1. typu pomaleji, zároveň většinou nedochází ke vzniku ketoacidózy. Zpočátku se tak může DM1 projevovat spíše jako diabetes mellitus 2. typu. Takový podtyp diabetu 1. typu nazýváme **LADA (*latent autoimmune diabetes of adults*)**.

Další subtyp diabetes mellitus 1. typu představuje onemocnění s absolutní inzulinovou deficiencí, neznámé etiologie, bez vazby na HLA a též bez průkazu autoprotilátek. Jde o

idiopatický diabetes vyskytující se především v asijské a africké populaci.

3.3.4. *Terapie diabetes mellitus 1. typu*

Podmínkou efektivní antidiabetické terapie diabetika 1. typu, podobně jako u diabetika 2. typu, jsou dietní a režimová opatření.

Diabetická dieta se v zásadě neliší od všeobecných pravidel racionální výživy. Důležité je, aby zajišťovala dostatečný energetický přísun, odpovídající věku, konstituci, fyzickému i psychickému zatížení diabetika. Velmi důležitý je vyvážený obsah základních nutrientů. Z hlediska prevence některých akutních komplikací, především hypoglykemie, je pro diabetika zásadní znát **množství sacharidů** obsažených v dietě. Standardní diabetická dietní doporučení pracují nejčastěji s dietními plány na 225 g, 250 g a 275 g sacharidů/den. Individuálně, a většinou po omezenou dobu, lze využít i širší škálu dietních plánů. Neméně významná je znalost dynamiky postprandiální glykemie po požití sacharidové nálože, kterou lze charakterizovat **glykemickým indexem**. Ten je definován jako plocha pod křivkou postprandiální glykemie po požití 25-50 g sacharidů v té které potravine - vyjádřeno v procentech vůči ploše pod křivkou po požití odpovídajícího množství referenční potraviny (bílý chléb, glukóza). Potraviny s komplexními sacharidy celkově mají nižší hodnotu glykemického indexu. Jsou proto vhodnější ke stabilizaci a udržení glykemie.

Množství **tuků** v dietě by nemělo překračovat 35 % celkového energetického příjmu, spotřeba **cholesterolu** by měla být do 300 mg/den. Vzhledem k antiinflamatornímu a antiaterogennímu efektu **ω -3 mastných kyselin**, jsou tyto v dietě jasně preferovány před ω -6 mastnými kyselinami, lze je doporučit jako náhradu za saturevané tuky. Vzhledem k jejich majoritnímu zdroji – mořské ryby – je však s ohledem na naši geografickou polohu jejich dietní hrazení dlouhodobě v dostatečné míře problematické. **Bílkoviny** by měly být obsaženy v 10-20 % celkového energetického příjmu, u pacientů s nefropatií je doporučena redukce příjmu proteinů až k 0.8 g/kg/den.

K racionálnímu vedení dietní terapie diabetiků je nutné, minimálně zpočátku, stravu vážit. Týká se to nejen sacharidových složek potravy, nýbrž i tuků a bílkovin. Obecná dietní doporučení je třeba modifikovat dle individuálních dispozic pacienta s ohledem na cílové glykemie, případně potřebu úpravy jiných metabolických a klinických parametrů.

Režim je nedílnou součástí diabetické terapie. Pravidelná **fyzická aktivita** je diabetikům prvního typu běžně doporučována a nepředstavuje pro dobře spolupracující a

edukované pacienty zvláštní riziko. V praxi je zásadní fyzickou aktivitu plánovat a racionálně posoudit – jak z hlediska časového, tak z hlediska její intenzity. V předstihu by se pacienti na zvýšenou fyzickou aktivitu měli připravit úpravou dietního příjmu případně i inzulínoterapie. Velice důležitý je selfmonitoring glykemie před a v průběhu zvýšeného energetického výdeje.

Inzulínoterapie je v současnosti základním a jediným možným terapeutikem pro pacienty s diabetes mellitus 1. typu. Využívány jsou jednak přípravky **humánní**, inzulín vyrobený přenosem rekombinantní DNA do buňky *Escherichia coli* či *Saccharomyces cerevisiae*, čím dál častěji se však v praxi setkáváme s tzv. **inzulínovými analogy**. Tyto přípravky se specifickými farmakokinetickými i farmakodynamickými vlastnostmi jsou vyvíjeny s cílem zajistit maximální účinnost i bezpečnost, simulovat efekt fyziologické sekrece inzulínu.

Cílem inzulínoterapie je volit inzulínové přípravky a jejich kombinace tak, abychom pokryly bazální (*bazál*) i prandiální (*bolus*) potřebu inzulínu. Důležitým je proto rozdělení dostupných přípravků dle nástupu biologického účinku, vrcholu působení a trvání účinku (*Tab. 4*).

S inzulínovými přípravky v terapii diabetes mellitus 1. typu můžeme pracovat v několika základních režimech. Základním režimem je tzv. **intenzifikovaný inzulínový režim**, kdy je inzulín aplikován ve třech a více denních dávkách. Účelem této terapie je maximálně napodobit fyziologickou sekreci inzulínu. **Konvenční režim** představuje aplikaci inzulínu v jedné nebo dvou dávkách, kdy obrazu fyziologické sekrece nedosáhneme. Tento režim je majoritně užíván u diabetiků 2. typu, pro diabetiky 1. typu jej lze zvažovat u starších či velmi špatně compliantních pacientů.

	Ultrakrátkodobé	Krátkodobé	Středně dlouhodobé	Dlouhodobé
Začátek působení	10-15 minut	30 minut	1-3h	2-3h
Maximální účinek	30-45 minut	1-3h	4-16	10-18h
Doba působení	2-5 h	4-6h	12-24	24-36h
	Humalog (A) (<i>lispro</i>) Novorapid (A) (<i>aspart</i>) Apidra (A) (<i>glulisin</i>)	Actrapid (L) Humulin R (L) Insuman Rapid (L)	<i>protamin-zink inzulin</i> Insulatard (L) Humulin N (L) Insuman Basal (L)	Lantus (A) (<i>glargin</i>) Levemir (A) (<i>detemir</i>)
Stabilizované směsi Mixtard 30 (L) humánní inzulin + protamin-zink inzulin NovoMix 30 (A) aspart + protamin-zink aspart Humulin M3 (L) humánní inzulin + protamin-zink inzulin Humalog Mix (A) lispro + protamin-zink-lispro Insuman Komb (L) humánní inzulin + protamin-zink inzulin				

Tabulka 4. Inzulinové přípravky – základní charakteristika, (A) – analog, (L) – lidský inzulin.

Převzato z: *Praktická diabetologie*, Pelikánová T., Bartoš V. a spol.

Velmi oblíbená je terapie **inzulinovou pumpou**, tedy kontinuální subkutánní infuzí inzulínu (CSII), ke které přistupujeme na přání pacienta či při neuspokojivé kompenzaci. Základní podmínkou takové terapie je spolupráce a schopnost pacienta s pumpou pracovat. CSII režim je u spolupracujících pacientů provázen zlepšením parametrů diabetické komplikace, bez zvýšeného rizika hypoglykemických příhod (66). Ačkoliv některé starší zdroje uvádějí zvýšení rizika ketoacidózy při terapii inzulínovou pumpou (67, 68), pozdější studie toto u pacientů dobře indikovaných k terapii inzulínovou pumpou jednoznačně nepotvrzují (69). Nutností při terapii inzulínovou pumpou je zajištění náhradního inzulínového režimu pacientovi.

Nejsofistikovanější terapií diabetes mellitus 1. typu představuje transplantace pankreatu či izolovaných Langerhansových ostrůvků. Typicky k ní bývají indikováni pacienti se současnou potřebou transplantace ledviny, první taková operace byla provedena r. 1966 v Minneapolis. Solitérní transplantace pankreatu je prováděna vyjimečně při selhávání konzervativních postupů u pacientů ohrožených těžkými hypoglykemiemi při labilním diabetu. Přežití štěpu delší než 5 let se pohybuje kolem 75 %. Terapie izolovanými Langerhansovými ostrůvky se datuje od r. 1977. Představuje z hlediska rozvoje komplikací metodiku podstatně bezpečnější, její efekt ovšem dosud nedosahuje výsledků transplantace pankreatu. Více než 50 % inzulín non-dependentních pacientů po 5 letech od terapie izolovanými ostrůvky bylo zaznamenáno jen v několika světových centrech (Ženeva, Lille, Minneapolis, Edmonton) (72).

3.4. OBEZITA

3.4.1. Epidemiologie obezity

Obezita je definována jako přítomnost nadměrného množství tukové tkáně představujícího zdravotní rizika s ním spojená. Celosvětově trpí obezitou více než 200 milionů mužů, 300 milionu žen a 40 milionu dětí, to činí více než 10 % populace, nadváhou celkově trpí asi 35 % celosvětové populace. Přibližně 3.4 milionů umrtí ročně je dáвано do přímé souvislosti s obezitou. Přítomnost obezity je významně spojena s výskytem diabetes mellitus (44 %), ischemické choroby srdeční (23 %) a s některými typy onkologických onemocnění (až v 41 %) (73). V České republice je obezitou postiženo přibližně 30 % žen a více než 20 % mužů, což nás řadí na 13. místo mezi zeměmi Evropy. Obezitou nebo nadváhou trpí celkově asi 60 % populace Čechů. Od roku 2008 již nedochází k významnému procentuálnímu nárůstu obezity (65).

3.4.2. Etiopatogeneze obezity

Vznik a rozvoj obezity je multifaktoriální. Přestože se v klinické praxi nejčastěji setkáme s obezitou **primární**, způsobenou exogenními faktory tedy nevyrovnanou bilancí příjmu a výdeje energie, nelze opomenout skupinu **sekundárních** obezit, jež jsou podmíněny genetickými a endokrinními vlivy. V dětství může být sekundární obezita součástí monogenetických syndromů (např. syndrom Prader-Willi, Bardet-Biedlův syndrom, Alströmův syndrom, deficit leptinu/ receptoru (74)). V dospělosti je nejčastěji spjata s endokrinopatiemi (Cushingův syndrom, syndrom polycystických ovarií, insulinom, Fröhlichův syndrom, hyperprolaktinemie atd.) či všeobecně postižením hypothalamo-hypofyzární oblasti (infekt, trauma, tumor atd.). Příčinou sekundární obezity mohou být též některá farmaka podporující nárůst hmotnosti. U diabetiků jsou jimi nejčastěji kortikoidy, inzulin, deriváty sulfonylurey a některá psychofarmaka.

Parciální význam v rozvoji obezity, na pomezí primární a sekundární obezity, je příkládán **genetickému polymorfismu** regulátorů patogeneze obezity. Za jeden ze zásadních regulátorů je dlouhodobě považován *leptin*, důležitý adipokin, jehož efektorovou tkání je hypothalamus. Ačkoliv je leptinová deficiencie příčinou monogeneticky podmíněné obezity (74) a leptinová rezistence provází obezitu jako takovou (75), předpokládaný vztah mezi

genetickým polymorfismem leptinového receptoru a obezitou nebyl dosud prokázán (76, 77). *PPARs* (peroxisome proliferator-activated receptors) představují další důležité modulátory metabolismu lipidů a sacharidů. Zásadní regulátor adipogeneze ve smyslu rozvoje obezity představuje fosforylovaný PPAR γ . Některé jeho genotypy jsou asociovány s vyšším rizikem vzniku a rozvoje obezity prostřednictvím vzestupu inzulinové rezistence (78). Důležitým centrálním regulátorem sytosti je recentně velmi diskutovaný *MC4R* (*melanocortin-4 receptor*). Jeho aktivace je spojena s poklesem pocitu hladu, podporuje utilizaci energie (79). Deficience je proto spojena s časným rozvojem morbidní obezity podobně jako u leptinové signalizace. V současnosti je u lidí známo přibližně 80 mutací MC4R, u části z nich se předpokládá parciální receptorová rezistence, jež by mohla mít vliv na rozvoj obezity (80, 81). Zasažení MC4R signalizace je významným cílem rozvoje moderních antiobezitik (82, 83). *ADRB3* (*beta-adrenergní receptor*) podporuje lipolýzu a termogenezi v kosterním svalu. Mutace alel tohoto receptoru jsou asociovány se vzestupem hmotnosti, u některých alel (Gly16) bylo zaznamenáno i ovlivnění leptinové rezistence (84). Terapie β -blokátory se může podílet na zvýšení hmotnosti a změně distribuce tuku právě cestou ADRB3 systému (85). Další z diskutovaných genetických faktorů predispozičních ve vztahu k obezitě představuje *BDNF* (*brain-derived neurotrophic factor*). Snížená hladina tohoto faktoru byla zaznamenána u pacientů trpících Alzheimerovou demencí a depresemi (86), stejně tak u poruch glukózového metabolismu a obezity (87). Některé genotypy BDNF jsou asociovány s vyšším rizikem vzniku a rozvoje obezity (88, 89). *TMEM 18* (*transmembránový protein 18*) genový polymorfismus je velmi úzce spjat s dětskou i adultní obezitou (90), blok genu pro THEM18 je provázen významným snížením maturace adipocytů (91). Genový soubor, dávaný do souvislosti s obezitou, je značně široký (91, 89). Předpokládá se variabilní míra podílu jednotlivých genů na vzniku a rozvoji obezity. Pokud však není obezita monogenně geneticky podmíněna (tedy již většinou manifestní v dětském věku), je význam genotypizace pro běžnou klinickou praxi dosud nepřínosný. U primární obezity nelze u mnohých pacientů jistě vyloučit spolupodíl genového polymorfismu, zásadním faktorem prostupujícím napříč populací obézních pacientů je ale dysregulace bilance příjmu a výdeje energie, rezervy týkající se kvantity i kvality diety a pohybového režimu. Nezřídka konkomitantně nalézáme dysharmonické psychosociální prostředí osobnosti.

3.4.3. Diagnostika a klasifikace obezity

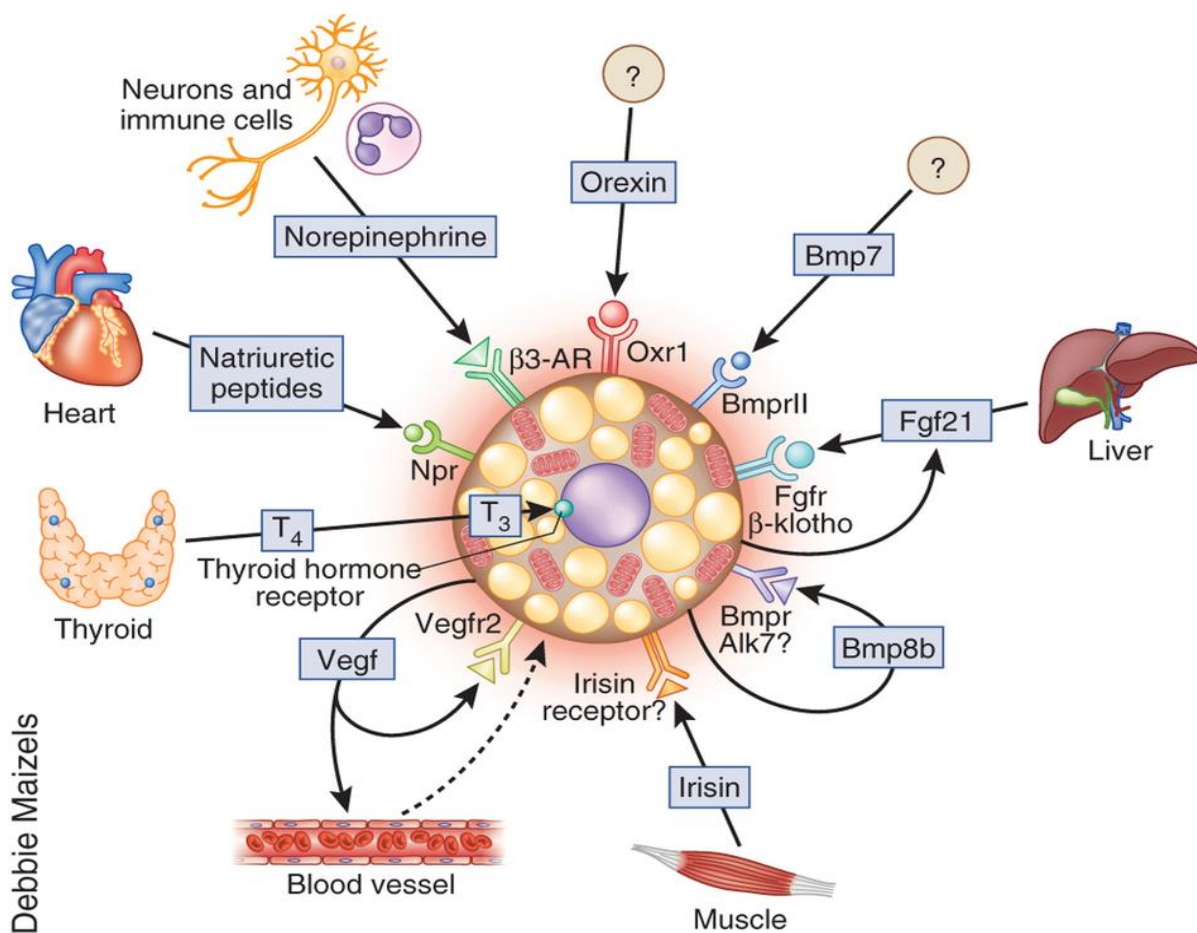
Podmínkou správné diagnostiky a terapie obezity je vyloučení sekundární etiologie.

Klinickým parametrem rutinně užívaným v běžné praxi ke zhodnocení míry obezity je *BMI (body mass index)*, hmotnost dělená kvadrátem výšky v metrech. K diagnostice a zhodnocení kvantity a distribuce tukové tkáně lze využít škálu antropometrických měření. *Obvod pasu* je měřen v polovině vzdálenosti mezi spodním okrajem dolního žebra a crista iliaca v horizontální rovině. Pro evropskou populaci lze za hodnoty spojené se zvýšeným rizikem abdominální obezity považovat u mužů ≥ 94 cm a u žen ≥ 80 cm. *Obvod boků* měříme ve výši maximálního vyklenutí hýždí v horizontální rovině. Poměr obvod u pas/boky by u mužů neměl přesáhnout 1 a u žen 0,85. Jednoduchou doplňkovou metodiku představuje též *měření kožních řas* (nejčastěji subskapulární, tricipitální). *Bioelektrická impedanční metoda (BIA)*, je rozšířená metodika, užívající průchodu proudu o nízké intenzitě a vysoké frekvenci ke zhodnocení odporu těla. Přístrojové elektrody bývají umístěny na nášlapných vahách, madlech pro ruce či užíváme nálepné elektrody na hřbet ruky a nohy. Nejsofistikovanější přístup ke zhodnocení množství a distribuce tukové tkáně představuje *DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry)* vyšetření. Pro běžnou klinickou praxi z této indikace ovšem není dostupné, využívá se v experimentální medicíně, k ambulantní dispenzarizaci obézních pacientů je plně dostačující bioimpedance.

3.4.4. Tuková tkáň a obezita

Buňky tukové tkáně, původem z mezenchymální kmenové linie, se časně ve vývoji diferencují v linii adipoblastů a myogenní linii. *Bílá tuková tkáň* se vyvíjí z adipoblastů, je pro ni typická velká tuková vakuola a malý počet mitochondrií. Opačné vlastnosti, tedy početnější mitochondrie a malé tukové vakuoly, má *hnědá tuková tkáň*. V lidském organismu je kvantitativně zastoupena asi 5 %, soustředěna je především na krku, mezi lopatkami a podél páteře (92). Množství hnědé tukové tkáně s věkem klesá, negativně též koreluje s obezitou. Experimentální stimulace hnědé tukové tkáně je diskutována v souvislosti s redukcí hmotnosti (93). UCP1 (uncoupling protein-1) obsažený v hnědé tukové tkáni, je změnou permeability vnitřní mitochondriální membrány zodpovědný za zrychlení oxidace substrátů. Klesá produkce ATP v adipocytech, naopak termogeneze je významně zvýšena (94). UCP-1

může být vlivem adekvátní stimulace exprimován též v bílé tukové tkáni. Okrsky “bílých” adipocytů vykazující tuto aktivitu jsou nazývány **běžová či šedá tuková tkáň** (95). Běžným stimulem podněcujícím reverzibilní “běžování” bílé tukové tkáně je pohyb spojený s produkcí proteinu **irisinu** svalovou tkání (96). Mezi další nejčastěji zmiňované podněty patří β -adrenergní stimulace, chlad a aktivace receptoru PPAR γ (obr. 7) (97, 98). Ačkoliv se hnědá a běžová tuková tkáň zásadně liší svým původem a typem markerů, termogenní kapacita těchto tkání může být srovnatelná (99). Stimulovaná exprese UCP-1 není vlastní všem adipocytům bílé tukové tkáně. Pravděpodobná je přítomnost 2 linií buněk již na úrovni preadipocytu (98, 99).



Obrázek 7 Stimulátory přeměny bílé tukové tkáně (100)

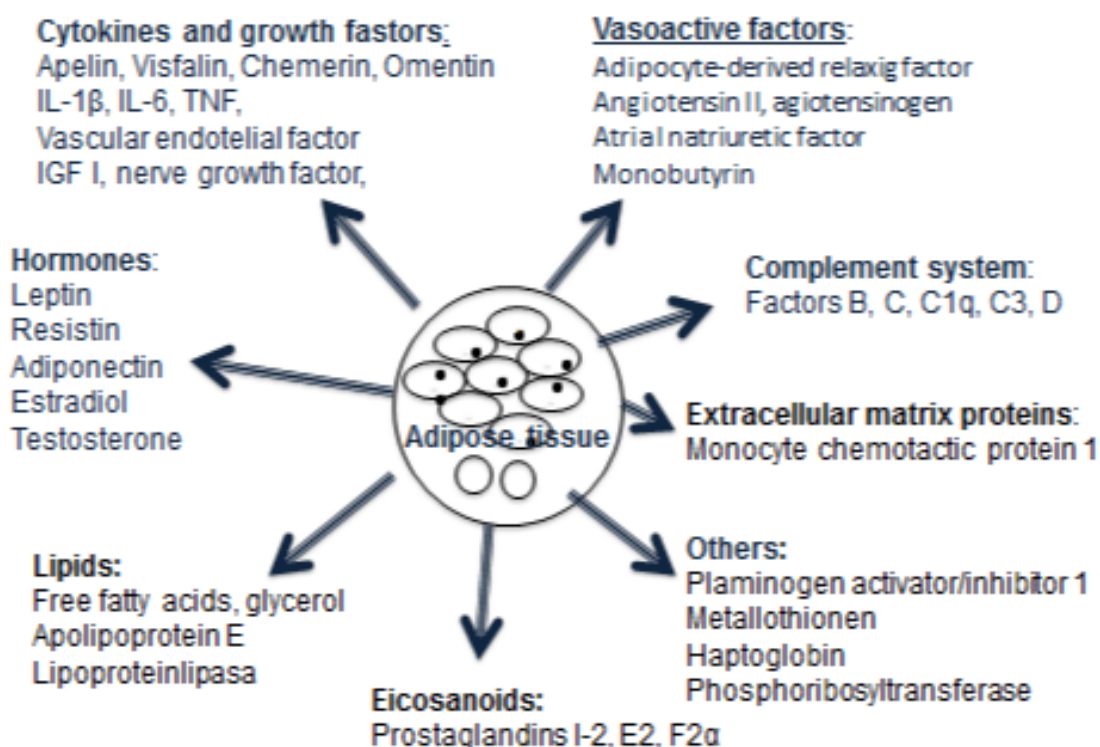
(Zdroj: http://www.nature.com/nm/journal/v19/n10/fig_tab/nm.3361_F4.html)

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.) (101). Zvyšuje se apoptotická destrukce buněk tukové tkáně.

Metabolické změny tukové tkáně provází snížení citlivosti k inzulinu. Na inzulinorezistenci u obézních se podílí několik etiopatogenetických faktorů. *Steatóza jater* provázená lokálním zvýšením počtu populace makrofágů, tedy inflamatorní reakcí, je považována za jeden ze zásadních faktorů účastnících se na rozvoji systémové inzulinové rezistence (102). Časná *infiltrace* bílé tukové tkáně imunokompetentními buňkami je pro obezitu typická všeobecně (103). *Lipotoxicita* představuje další kontribuující faktor vzniku inzulinové rezistence. Zvýšené množství volných mastných kyselin interferuje se signalizačními drahami inzulinu prostřednictvím TLR4 a aktivace JNK (104, 105, 106). Zároveň se excesivní množství lipidových partikulí podílí na nežádoucí intracelulární akumulaci především ve svalové a jaterní tkáni (107). Intracelulární akumulace není pravděpodobně pouze kapacitním důsledkem, pro její rozvoj je zásadní celkově zvýšený obrat lipidového metabolismu, akcentovaná lipogeneze a reesterifikace mastných kyselin. Tento mechanismus v sobě zahrnuje kauzální vztah k inzulinové rezistenci stejně jako její důsledek (108, 105, 109). Na rozvoj inzulinové rezistence má též neoddiskutovatelný vliv *střevní mikroflora* a její produkty uvolňované systémově (např. lipopolysacharid). Pokles v bakteriálním druhu *Bacteroides* a naopak vzestup *Firmicutes* bývá spojován s obezitou a s tím spojenou poruchou inzulinové signalizace. U neobézních animálních modelů je při kolonizaci střevní mikroflórou obézních jedinců patrné signifikantní zmnožení tukové tkáně (110, 111, 112). Kauzalita či důsledek změny střevní mikroflory u obezních pacientů jsou stále diskutované, pravděpodobné je uplatnění obou mechanismů. Cílené ovlivnění spektra střevní mikroflory probiotiky či antibiotiky zvyšuje inzulinovou senzitivitu (113).

Vzestup inzulinorezistence 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 inzulinorezistence.

Dalšími, zásadně důležitými změnami tukové tkáně, jimiž tuková tkáň při obezitě prochází, jsou **změny sekreční** (Obr. 8). V současnosti je známá celá škála cytokinů sekretovaných tukovou tkání – adipokinů, jež působí prakticky na veškeré tkáně v lidském organismu. Nejvíce diskutované jsou efektorové tkáně zapojené do kardiovaskulární regulace, neuroendokrinní osy a metabolických drah. V základní ose lze adipokiny rozdělit na proinflamatorní a antiinflamatorní.



Obrázek 8. Vybrané působky produkované tukovou tkání

(Zdroj: <http://www.symbiosisonlinepublishing.com/obesity-control-therapies/obesity-control-therapies10.php>)

Proinflamatorní adipokiny

Leptin je protein o 167 aminokyselinách kódovaný na 7 chromozomu, produkuje jej bílá i hnědá tuková tkáň, placenta, žaludeční sliznice, kosterní sval či hypofýza (114). Efekt je zprostředkován vazbou na tzv. *Ob-receptor* (celkem 6 izoform) *izoformu Rb* (115). Leptin je znám především jako působek navozující v hypothalamu pocit sytosti (inhibuje neuropeptid Y). Jeho defektní signalizace proto podněcuje rozvoj alimentární obezity. U obézních jedinců typicky elevovaná hladina leptinu nevyvolává adekvátní efekt vlivem inzulínové rezistence (116). Na periférii leptin zvyšuje energetický výdej, glukózový uptake, je modulátorem metabolismu v pubertě a v průběhu těhotenství. Aktivuje monocytomakrofágový systém a zvyšuje tak hladiny IL-6, TNF- α , IL-12 a VEGF (117). Stimuluje dále proinflamatorní cytokiny Th1 řady, naopak suprimuje anti-inflamatorní Th2 cytokiny (118). Hladiny leptinu jsou elevovány typicky u obezity a jiných inzulínrezistentních stavů (stres, syndrom polycystických ovarií, atd.). Inzulín hladinu leptinu zvyšuje, naopak fyzická aktivita a hladovění leptin snižují (119, 120).

Interleukin 6 je produkován T lymfocyty a makrofágy. Jeho účinek je zprostředkován cytokinovým receptorem I. typu. Uplatňuje se především v akutní inflamatorní reakci, kdy stimuluje produkci proteinů akutní fáze, diferenciaci a růst neutrofilů a B lymfocytů. Jeho hladina pozitivně koreluje s množstvím tukové tkáně u obézních. Podněcuje rozvoj inzulínové rezistence cestou zvýšené exprese SOCS3 (suppressor of cytokine signaling) v hepatocytech (121). Na druhou stranu patří IL-6 též k myokinům produkováným v závislosti na svalové kontrakci. Svaly produkovaný IL-6 následně vstupuje do odlišné signalizační kaskády (nedochází k aktivaci TNF receptorů a Nf κ B), podílí se na vzestupu IL-10 a celkový efekt je antiinflamatorní (122). Experimentální deficience IL-6 je proto naopak spojena s obezitou a zánětlivou reakcí v hepatocytech (123).

TNF α (kachexin) patří do skupiny cytokinů akutní inflamatorní reakce. Je produkován makrofágy ale i neutrofilů, NK buňkami a CD4 lymfocyty. Váže dva základní receptory TNF receptor typu 1 je majoritní, exprimován ve většině tkání, TNF receptor 2 je vyhrazen buňkám imunitního systému. Kachexin je hlavním aktivátorem Nf κ B a MAPK signalizačních drah zahrnutých především do regulace zánětlivé odpovědi, buněčné proliferace a apoptózy (124). U obézních a inzulínrezistentních pacientů nacházíme zvýšené hladiny TNF α . Podílí se na zvýšení lipolýzy adipocytů a elevaci volných mastných kyselin (125). Dlouhodobá terapie

TNF α inhibujícími terapeutiky u obézních pacientů vede ke zlepšení inzulínové senzitivity (126).

Retinol binding protein 4 – je exprimován v tukové tkáni, játrech a makrofázích. Funkčně je zahrnut v transportu retinolu z jater do periferie. Jeho elevované hladiny nacházíme u obézních a inzulínrezistentních pacientů. Na navození inzulínorezistence se pravděpodobně podílí inhibicí inzulínem zprostředkované fosforylace IRS1 (insulín receptor substrate) (127). V adipocytech také negativně koreluje s expresí GLUT4 (128). Zvýšená hladina RBP4 je významným stimulatorem produkce molekul zahrnutých v rozvoji endotelové dysfunkce (VCAM-1, IL-6, CCL2, atd.) (129).

Rezistin je mimo tukovou tkáň produkován především endotelem a buňkami imunitního systému (monocyty, makrofágy). Rezistin zpětně stimuluje monocytomakrofágový systém k produkci proinflamatorních cytokinů (IL-6, TNF α , LPS). Zasahuje inzulínovou signalizaci prostřednictvím SOCS3 (130), aktivuje JNK a MAPK. Jeho úloha u obézních dosud není plně objasněna, plazmatické hladiny rezistinu nekorelují s mírou obezity a inzulínorezistencí (131, 132).

Chemerin je látka exprimovaná predominantně v bílé tukové tkáni, játrech a plicích. Korespondující receptor ChemR23 se nachází především na buňkách imunitního systému a na adipocytech (133). Je stimulatorem lipolýzy a exprese GLUT4, dále významně zasahuje do diferenciací a metabolismu adipocytů (134). Elevované hladiny chemerinu korelují s BMI, lačnou glykemií, proinflamatorními cytokiny a plazmatickými TAG, experimentální aplikace chemerinu zhoršuje inzulínovou senzitivitu (135). Některá data naopak poukazují na akcentaci inzulínové signalizace vlivem chemerinu (136) a jeho možný anti-inflamatorní efekt (137).

Antiinflatorní adipokiny

Adiponektin, protein o 244 aminokyselinách, je hojně produkován tukovou tkání. Jeho efekt je zprostředkován receptory AdipoR1 a AdipoR2 exprimovanými ve většině tkání, predominantně v kosterní svalovině a játrech. Působí celkově antiinflatorně (stimuluje produkci IL-1 a IL-10, inhibuje NFκB cestu, moduluje aktivitu T lymfocytů, NK buněk a makrofágů) a antiapoptoticky, cestou eNOS inhibuje rozvoj endotelové dysfunkce, snižuje dále produkci adhezivních molekul (138). Adiponektin aktivuje AMPK, podílí se na zvýšení β-oxidace a glukózového uptake ve svalech, potlačuje jaterní glukoneogenezi (139). U obézních jsou hladiny adiponektinu sniženy, experimentální aplikace adiponektinu vede ke zlepšení inzulinové senzitivity (140).

Omentin-1 je adipokin o 313 aminokyselinách, preferenčně produkován stromálními buňkami viscerální tukové tkáně. Exprimován je dále endotelem, v některých částech tenkého a tlustého střeva a v srdeční tkáni (141). 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 glukózového uptake. Omentin-1 aktivuje eNOS zasahuje do rozvoje endotelové dysfunkce a procesu arteriální kalcifikace, patří k důležitým regulátorům vaskulárního tonu (142). Představuje jeden z nejvýznamnějších antiinflatorních adipokinů, inhibuje THFα a NFκB signální dráhy, ovlivňuje stresovou odpověď organismu, diferenciaci T-lymfocytů a apoptózu (143). Plazmatické hladiny omentinu-1 jsou všeobecně sniženy u inzulinrezistentních pacientů (obézní, diabetici, pacientky s polycystickými ovarii, pacienti s chronickým infektem) a asociované s inflamatorními markery. Na jejich supresi se podílí zvýšená hladina inzulinu a glukózy v krvi (144).

Visfatin byl původně objeven jako cytokin účastnící se maturace B-lymfocytů. Podílí se na biosyntéze nikotinamid adenin dinukleotidu. Jako adipokin je exprimován převážně viscerální tukovou tkání. Jeho zvýšené hladiny byly nalezeny u pacientů s abdominální obezitou a diabetiků 2. typu (145), některá data však toto nepotvrzují (146). Nejednotný je dosud pohled na úlohu visfatinu v inzulinové signální dráze a inflamatorní reakci. Převažují data o inzulin-senzitizujícím efektu (147), zřejmá je také významná úloha visfatinu jako mediatoru zánětu. Experimentálně byla prokázána na dávce závislá stimulace produkce jak pro- (IL-6, TNF α, IL1β) tak anti- (IL-10, IL-1) inflamatorních cytokinů (148).

3.4.5. Obezita a diabetes mellitus 1. typu

Obezita u pacientů s diabetes mellitus 1. typu představuje stav s předpokládanou 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**.

Přítomnost zvýšené inzulinové rezistence je považována za důležitý akcelerující faktor již v prvopočátku onemocnění inzulin-dependentním diabetem u predisponovaných pacientů. K progresi destrukce β -buněk za podmínek inzulinorezistence přispívá řada imunomodulujících adipokinů (149). Experimentálně, například při podání často diskutovaného leptinu diabetickým myším normální hmotnosti, bylo zaznamenáno zrychlení inflamatorní reakce rozvíjející absolutní inzulinovou poruchu (150). Byla též nalezena pozitivní korelace protilátek anti-GAD s BMI (151). Vztah mezi dětskou obezitou a manifestací DM1 nebyl dosud plně objasněn, některá data prezentují úzký vztah výše zmíněného (152), jiná signifikantní asociaci DM1 a dětské obezity nepotvrzují (153).

Rozvoj obezity u pacientů s již diagnostikovaným diabetem prvního typu je nezdědka podpořen intenzivní inzulinovou terapií (154). Inzulinoterapie bývá pro lepší kompenzaci mnohdy navýšována bez předchozího zpřísnění režimu a diety ze strany pacienta. Následný nárůst hmotnosti si většinou vynutí další pokrytí inzulinem. Hyperinzulinemie přispívá k celkovému rozvoji inzulinové rezistence. Ta bývá již u mladých štíhlých diabetiků 1. typu, dosud bez komplikací a jiných významných abnormalit, vyšší než u nediabetických kontrol. Je prakticky srovnatelná s obezními nediabetiky stejné věkové kategorie (155). Zvýšená inzulinová rezistence u štíhlých diabetiků 1. typu je jedním z průvodních znaků onemocnění DM1 (156). To zakládá otázku o primárním vlivu automunitní reakce na inflamatorní signalizační dráhy spojené s rozvojem inzulinorezistence.

Z pohledu inzulinové senzitivity je neoficiální označení *double diabetes* výstižné nejen pro kombinaci absolutního a relativního deficitu inzulinu. U obezních diabetiků 1. typu lze navíc hovořit o zvýšené míře samotného relativního deficitu inzulinu – jednak vlivem průvodního autoimunitního onemocnění, dále vlivem inzulinorezistence související s obezitou. Na základě současných dostupných dat není inzulinová senzitivita obezních DM1 pacientů dostatečně charakterizována.

Otazná je též charakteristika cholesterolového metabolismu u obezních diabetiků 1. typu. Pro inzulindependentní diabetes je typické snížení endogenní cholesterolové syntézy,

naopak absorpce cholesterolu je zvýšena (157). Pacienty zatížené vzestupem inzulinové rezistence, tedy i diabetiky 2. typu, naopak charakterizuje snížená absorpce cholesterolu a akcentace endogenní syntézy (158, 159). 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.

3.4.6. Terapie obezity pacientů s diabetes mellitus 1. typu

Terapie obezity diabetiků 1. typu se v zásadě neliší od postupů užívaných u pacientů s diabetes mellitus 2. typu. Je ovšem třeba vzít v potaz možná úskalí spojená s intenzifikovaným inzulinovým režimem, který je nevyhnutelnou a důležitou součástí terapie. Při dobrém vedení terapie a dobré spolupráci pacienta nepředstavuje inzulinoterapie riziko omezující pacienta v běžných životních aktivitách.

Primární cíl terapie obezity není vhodné chápat pouze jako redukci hmotnosti spojenou s úpravou tělesných křivek. Z hlediska dlouhodobé spolupráce a motivace pacienta je příznivější jeho orientace na **komplexní zdravotní tématiku**, prevenci či zpomalení progresu komplikací s obezitou spojených, zlepšení celkové kondice fyzické i psychosociální, zlepšení kvality života. Základní podmínkou k racionální terapii obezity je **stabilizovaný diabetes**. Problémem u diabetiků na inzulinoterapii nezdědka bývá nepravidelný dietní a pohybový režim spojený se vznikem latentních či manifestních hypoglykemií, které pacient tzv. “dojídá” (někdy i preventivně neúměrným množstvím sacharidů i tuků), aby následně při hyperglykemiích připíchoval navíc bolusové dávky, jež při celkově rozkolísaném profilu znovu představují riziko vzniku hypoglykemie. Odstranění hypoglykemií, tedy celková stabilizace glykemického profilu, je proto nepodstupitelným prvním krokem k zahájení úspěšné terapie obezity. Zásadní je vždy prevence. Nutnost řešení hypoglykemie samo o sobě již většinou bývá projevem selhání některého z opatření. Od pacienta vyžadujeme maximální snahu o **pravidelný denní režim** stejně jako schopnost **flexibilní úpravy inzulinu** v závislosti na fyzické a dietní zátěži. S tím souvisí i znalost kalorického příjmu a obsahu sacharidů v rámci jednotlivých denních jídel. **Sepisování jídelníčku** a jeho konzultace s nutriční terapeutkou by proto mělo být samozřejmou součástí terapie. V zásadě platí, a u dietních doporučení tím spíše, že je třeba vycházet z celkových dietních zvyklostí pacienta, které je vhodné cestou malých změn korigovat. Velké změny charakteru přizpůsobení se předdefinovaným jídelníčkům bývají z dlouhodobého hlediska neefektivní právě s ohledem

na vysokou interindividuální variabilitu v dietních a režimových zvyklostech. Je proto logické, že šanci na udržení mají především malé změny vycházející z možností pacienta.

V ambulantní praxi se však i při nejlepší snaze nezřídka setkáváme s neúspěchem a limitujícími rezervami v korekcích diety. 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 (160, 161), některá pracoviště jej využívají dodnes, byť jeho terapeutická aplikace bývá zdrojem jisté kontroverze. V akutní fázi hladovění (v průběhu hodin) významně klesá hladina plazmatické glukózy (o 30 %) a inzulínu (o 50 %), zvýšena je lipolýza a oxidace tuků, v menší míře dochází též k proteolýze. Akcentována je glukoneogeneze a ketogeneze. Je modifikována diurnální produkce kortisolu, jeho plazmatické hladiny jsou celkově elevovány (162, 163, 164). Dochází k aktivaci některých proinflamatorních signálních drah především v játrech (165). Experimentální dlouhodobé hladovění je dále provázeno negativní sodíkovou bilancí a s tím spojeným poklesem krevního tlaku (166), pacienti trpívají bolestmi hlavy, nevolností a zvýšenou podrážděností (167). Souhrnem, data o terapeutickém využití krátkodobého hladovění prezentují zlepšení inzulínové senzitivity (168), zvýšení stresové kapacity organismu cestou rozvoje adaptačních mechanismů (169) a snížení kardiovaskulárního rizika (162). Odpůrci hladovění jako terapeutického postupu poukazují především na rozvoj akutní stresové reakce, fixovanou adaptaci 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 (170, 171), u pacientů s inzulín-dependentním diabetem dosud nebyla tato metodika terapeuticky ani experimentálně uplatněna.

Zvýšení **fyzické aktivity** je dalším známým všeobecným doporučením u pacientů trpících obezitou. Jeho pozitivní efekt především na prevenci kardiovaskulárních komplikací a zlepšení lipidového spektra byl u inzulín-dependentních pacientů prokázán (172, 173). U diabetiků 1. typu bývá fyzická aktivita nezřídka spojena s obavou ze vzniku akutní (bezprostředně po výkonu) či opožděné hypoglykemie (7-11 hodin po aktivitě) (174), která

představuje hlavní překážku racionálního navýšení fyzické aktivity (175).

Jednotlivé druhy fyzické aktivity se liší rizikem rozvoje hypoglykemie. Aerobní fyzická zátěž je spojena s tendencí k poklesu glykemie. Naopak anaerobní zátěž vyšší intenzity (např. posilování) vede v trendu k elevaci glykemie. Její zařazené před aerobní zátěž tedy může přispět k prevenci akutní či opožděné hypoglykemie a k celkové stabilizaci profilu (176).

Konzultace s psychoterapeutem bývají indikované v mnoha případech morbidně obézních pacientů. Poruchy příjmu potravy jsou celkově asociované s poruchami osobnosti či jinými psychopatologiemi (177). Mohou stát na počátku vzniku obezity, či mohou agravovat jako její důsledek. Ve většině případů se jedná o kombinaci výše zmíněného. Psychoterapie proto v řadě případů představuje nepodstupitelnou součást terapie obezity. Etiologicky lze určit širokou škálu psychologických faktorů podílejících se na rozvoji obezity. Společným jmenovatelem je celková nachylnost pacientů k uniformní alimentární reakci na různorodé inzulty. Tato "fragilita" přetrvává i po úspěšné redukci hmotnosti, každá stresová situace představuje nový potencionální podnět k rozvoji obezity. V současné klinické praxi bohužel není obezitě v tomto ohledu věnována dostatečná pozornost. Dílem je psychologická problematika obézních systematicky podceňována, dílem jsou důvodem kapacitní a organizační rezervy vzhledem k dlouhodobé tradiční orientaci obézních pouze na metabolické poradny.

Moderní medicína využívá v terapii morbidně obézních stále častěji bariatrické výkony – restričního i malabsorpčního typu. Obézní diabetici 2. typu představují jednu z nejvíce exponovaných skupin, mnohé výkony však byly s dobrým efektem provedeny i u diabetiků 1. typu (178). Výsledný efekt je zásadně závislý na uváženém výběru vhodného pacienta i typu bariatrického výkonu, důsledné přípravě a informovanosti pacienta. Důležité je zajištění následující trvalé dispenzarizace pacienta.

4. Metodika

4.1 DESIGN STUDIE

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 definovaným redukčním programem a sledována v průběhu Fází II-III, v celkové délce 12 měsíců.

4.2 AKTIVNÍ FÁZE STUDIE, NÁBOR PACIENTŮ

Aktivní fáze studie probíhala po dobu 36 měsíců na lůžkovém oddělení III interní kliniky gerontometabolické Fakultní nemocnice Hradec Králové. K účasti byli vyzváni indikovaní pacienti z registru Diabetologického centra FNHK. Informovaný souhlas byl pacientům předložen ošetřujícím lékařem. Podpis informovaného souhlasu proběhl před zahájením veškerých studijních procedur.

Kriteria pro zařazení do studie:

- Pacienti, u nichž zkoušející předpokládá, že mohou a budou plnit požadavky protokolu
- Diabetes mellitus 1. typu (diagnostikovaný alespoň před 12 měsíci či dříve, C-peptid ~ nulový/pod detekčním limitem).
 - Muž či žena ve věku 20-65 let.
 - BMI > 30 kg/m² (pro intervenovanou skupinu obézních pacientů), BMI < 25 kg/m² (pro kontrolní skupinu štíhlých pacientů).
 - Podpis informovaného souhlasu.

Kriteria pro vyloučení ze studie:

- Gravidita pacientky.
- Závažná komorbidita pacienta (onkologické onemocnění, renální/ srdeční selhávání, atd.)
- Pacient léčený perorálními kortikosteroidy.
- Endokrinopatie či jiná komorbidita interferující zásadně s glukózovým metabolismem.
- Velmi neuspokojivá kompenzace (HbA_{1c} ≥ 90 mmol/l).
- Labilní průběh diabetu (epizody hypoglykemie ≥ 5 x týdně).
- Non-compliance.
- Pacient se účastní jiné klinické studie, či se účastnil v době kratší než 3 měsíce.

4.3 KLINICKÉ PROCEDURY

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 inzulínu, za frekventních kontrol glykemie a ketonemie (4x denně). Následující den ráno (7:00-7:30 hod) bylo provedeno měření hmotnosti a výšky, obvodu pasu (na konci standardního výdechu v polovině vzdálenosti mezi dolním žebrem a horním okrajem pánve), měření složení tělesné kompozice a nepřímá kalorimetrie. Následně byl

proveden iničiální 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

Charakteristika tělesné kompozice obézních diabetiků 1. typu probíhala pomocí přístroje BCM (Body composition monitor, Fresenius Medical Care, Bad Homburg (vor der Höhe), Německo), vždy v ranních hodinách u lačných pacientů. Nálepne elektrody byly umístěny na dorzální stranu zápěstí a zánártí.

LTM/reLTM (lean tissue mass) - výstupní parametr vyjadřuje množství netukové tkáně (orgány, kosti, svaly kůže) ve své absolutní (kg) či relativní (%) podobě.

FTM/reFTM (fat tissue mass) – výstupní parametr kvantifikující tukovou tkáň.

ATM (adipose tissue mass) - charakterizuje množství tukové tkáně s tukem vázanou vodou.

LTI/FTI – indexy charakterizující množství netukové/tukové tkáně vztažené k tělesnému povrchu.

Nepřímá kalorimetrie

Energetický výdej (EV) byl stanoven metodou nepřímé kalorimetrie (po více než 12ti hodinách lačnění a klidového režimu/. 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 klampu.

Základními výstupními parametry jsou:

VCO₂ - objem vydechovaného CO₂ v $l \cdot min^{-1}$, **VO₂** - objem spotřebovaného O₂ v $l \cdot min^{-1}$,
RQ - respirační kvocient (CO₂/O₂ za jednotku času, za ustáleného stavu), **REE (Resting Energy Expenditure)** – klidový energetický výdej v $kcal$.

Hyperinzulinemický euglykemický clamp

Hyperinzulinemický euglykemický dvoustupňový clamp byl prováděn po dobu 6 hodin ve dvou fázích (0-120 min, 120-360 min). Vyšetření předcházelo minimálně 13 hodin lačnění pacientů.

V časných ranních hodinách (7-8 hodina) byly pacientům zavedeny 2 flexily na nedominantní končetině:

1/ Proximální flexila umístěná do antekubitální žíly k aplikaci konstantní infuze s inzulinem a roztoku glukózy.

2/ Distální flexila umístěna na hřbetu ruky ke krevním odběrům á 10 minut.

Ruka byla zahřívána dečkou s elektricky vyhřívanou vložkou na teplotu 45 °C k dosažení optimální arterializace venózní krve.

Inzulinový infuzát byl připraven zředěním krátce působícího inzulinu (Humulin R, Eli Lilly, USA) do fyziologického roztoku (0.9% NaCl) dle dřívě posané metodiky De Fronza (28) do celkové koncentrace 300mU/ml. Do infuzátu byla přidána krev pacienta v dávce 2 ml na každých 50ml infuze k prevenci absorpce inzulinu na stěnách infuzního setu. K rychlému navození požadované hyperinzulinemie ($75 \mu\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$) byla v průběhu prvních 10 minut aplikována dávka $2 \text{ mU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ inzulinu, následně byla dávka snížena na udržovacích $1 \text{ mU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ (0-120 minut). V průběhu druhé fáze clampu (120-360 min) bylo aplikováno $10 \text{ mU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, opět s úvodní (10 min) dvojnásobnou dávkou.

K výpočtu konstantní rychlosti a úvodní dávky infuze byl využit výpočet (180).

$$V_{\text{ins konst}} = a \times m \times 60 / c_{\text{ins}}$$

kde V_{ins} představuje rychlost aplikace inzulinového roztoku ($\text{ml}\cdot\text{h}^{-1}$), a je zvolená rychlost aplikace inzulinu ($\text{mU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), m je hmotnost pacienta v kg a c_{ins} je koncentrace inzulinu v roztoku ($\text{mU}\cdot\text{ml}^{-1}$).

Kontinuální infuze glukózy o koncentraci 20% byla užita k udržení glykemie v požadovaném rozmezí 4 - 5 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. K prevenci poklesu kalemie byl cestou koinfuze podán

kaliový roztok ($30 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ KCl}$). Aplikace infuze s glukózou byla zahájena ve 4. minutě clampu rychlostí $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

K výpočtu rychlosti infuze glukózy (v_{glu} v $\text{ml} \cdot \text{hod}^{-1}$) byl použit vztah:

$$v_{\text{glu}} = a \times m \times 60 / c_{\text{glu}}$$

kde a je zvolená rychlost infuze glukózy ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), c_{glu} je koncentrace glukózy v roztoku ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) – pro glukózu 20% ($200 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$), m je hmotnost pacienta v kg . V 10. minutě byl přísun glukózy navýšen na $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Další korekce průtoku infuze s glukózou probíhala empiricky.

Spotřeba glukózy byla určena dle vztahu :

$$M = v_{\text{glu prům}} / K_{\text{glu}}$$

$$K_{\text{glu}} = m \times 60 / c_{\text{glu}}$$

kde $v_{\text{glu prům}}$ představuje průměrnou rychlost infuze glukózy v dané periodě ($\text{ml} \cdot \text{hod}^{-1}$), K_{glu} je konstanta, c_{glu} je koncentrace glukózy v roztoku ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$).

Hodnota M byla dále korigována na změny obsahu glukózy v distribučním prostoru :

$$SC = ((G_{t_1} - G_{t_2}) \times 18 \times 10 \times 0.19) / (t_1 - t_2)$$

kde SC představuje prostorovou korekci, $G_{t_{1,2}}$ jsou hodnoty glykemie ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) v časech t_1 , t_2 .

Hodnota M 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 (182, 184).

Byla sestrojena křivka závislosti účinku inzulínu na jeho koncentraci v plazmě (185).

Krevní odběry v průběhu hyperinzulinového euglykemického clampu byly prováděny á 10 minut z kanyly umístěné na dorzu ruky. Po každém odběru byl proveden proplach kanyly roztokem heparinu. Glykemie byly stanoveny glukózooxidázovou reakcí glukometrem Precision Pcx (AbbottLaboratoires, Illinois, USA).

Po ukončení klampu 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 hladovky byli pacienti pro zpětnou adaptaci a úpravu inzulínoterapie převedeni na redukční diabetickou dietu se 150 g sacharidů/den. Následně byli dimitováni 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 klamp i krevní odběry. Pacienti byli reedukováni a převedeni na diabetickou dietu s 225 g sacharidů/den (1650 kcal, 75 g bílkovin, 50 g tuku). Celková délka hospitalizace 5-6 dní.

FÁZE III

V průběhu 11 měsíců od dimise, byli pacienti sledováni studijním lékařem ambulantně. Pravidelné kontroly probíhaly á 10 ± 1 týdnů. Pacienti byli nadále standardně motivováni k dodržování dietních a racionálních režimových doporučení.

Po 12 měsících od počátku redukčního programu bylo provedeno kontrolní antropometrické měření, měření BCM a laboratorní testy.

4.4 LABORATORNÍ TESTY

1/ Odběry prováděné nalačno ve fázi I, II, III:

Základní biochemické vyšetření /mineralogram, renální a jaterní soubor, CRP/. Vzorby byly odebrány do zkumavky bez protisrážlivého činidla a analyzovány na přístroji (Modular Analytics, Roche, Basel, Switzerland).

Odběr a analýza biologického materiálu pro vyšetření glykovaného hemoglobinu: Krev byla odebrána do zkumavky s protisrážlivým činidlem EDTA (BD Vacutainer, Velká Británie) a analyzována metodou HPLC (Variant II Turbo, Bio-Rad, Laboratoires GmbH, California, USA).

Odběr a analýza biologického materiálu pro vyšetření celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu a TAG: Vzorby byly odebrány do zkumavky bez protisrážlivého činidla a analyzovány na přístroji Modular Analytics (Roche, Basilej, Švýcarsko).

Odběr biologického materiálu k analýze sterolů: Krev byla odebrána do zkumavky s protisrážlivým činidlem EDTA (BD Vacutainer, Velká Británie). Vzorby krve byly centrifugovány při 4 °C, po dobu 10 minut a 2,5 rcf a pro stanovení sterolů byla použita krevní plazma.

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 clampu (I a II Fáze á 60 minut):

Odběr a analýza biologického materiálu pro vyšetření volných mastných kyselin a IRI:

Krev byla odebrána do zkumavky s protisrážlivým činidlem K3EDTA (BD Vacutainer, velká Británie). Zkumavky byly zchlazeny (3 minuty na ledu) a centrifugovány při 4 °C po dobu 10 minut/2,5 rcf. Následně byly zchlazené transportovány do laboratoře, kde byly uchované při teplotě menší než -20 °C do doby analýzy. Volné mastné kyseliny byly stanoveny za užití FFA-HR kitu (Wako chemicals GmbH, Germany) UV-VIS spektrofotometrem Shimadzu Pharma Spec 1700 UV Probe (Kyoto, Japan). Imunoreaktivní inzulin byl stanoven metodou RIA (Radioimunoassay, Insulin IRMA kit, Immunotech, Praha, ČR) á 60 minut.

4.5 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ

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.

5. Výsledky

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

5.1. FÁZE I - POROVNÁNÍ VSTUPNÍCH PARAMETRŮ OBÉZNÍCH A ŠTÍHLÝCH PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU

5.1.1. Charakteristika studijních skupin

FÁZE I: 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. 5).

Do obou studijních podskupin byli zařazeni pacienti s již rozvinutými diabetickými komplikacemi. **Obézní diabetici:** neproliferativní retinopatie (6 pacientů), senzorická neuropatie (4), mikroalbuminurie (3), arteriální hypertenze (10), dyslipidemie v terapii (2). **Štíhlí diabetici:** neproliferativní retinopatie (6), senzorická neuropatie (5), mikroalbuminurie (3), arteriální hypertenze (4), dyslipidemie v terapii(3).

Antidiabetická terapie pacientů byla zajištěna *intenzifikovaným inzulinovým režimem* (aplikace 4x denně, 4 pacienti štíhlí, 3 obézní) a *inzulinovou pumpou* (kontinuální subkutánní aplikace inzulinu, 10 pacientů štíhlých, 11 obézních). Jako celková denní dávka inzulinu bylo uvedeno anamnesticky nejčastěji aplikované množství jednotek inzulinu.

Tři pacienti užívali antilipidemickou terapii – atorvastatin v konstantní dávce 20 mg denně. Žádná do studie zařazená pacientka neužívala perorální kontraceptiva, ani jiná hormonální terapie nebyla ve studijní skupině medikována.

Ze vstupní charakteristiky jsou patrné signifikantní ($P < 0.001$) odlišnosti především v tělesné kompozici, v ostatních porovnávaných parametrech (kompenzace diabetu, terapeutická dávka inzulínu) jsou podskupiny srovnatelné (Tab. 5).

	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 5. Vstupní charakteristika skupiny obézních a štíhlých diabetiků I. typu

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

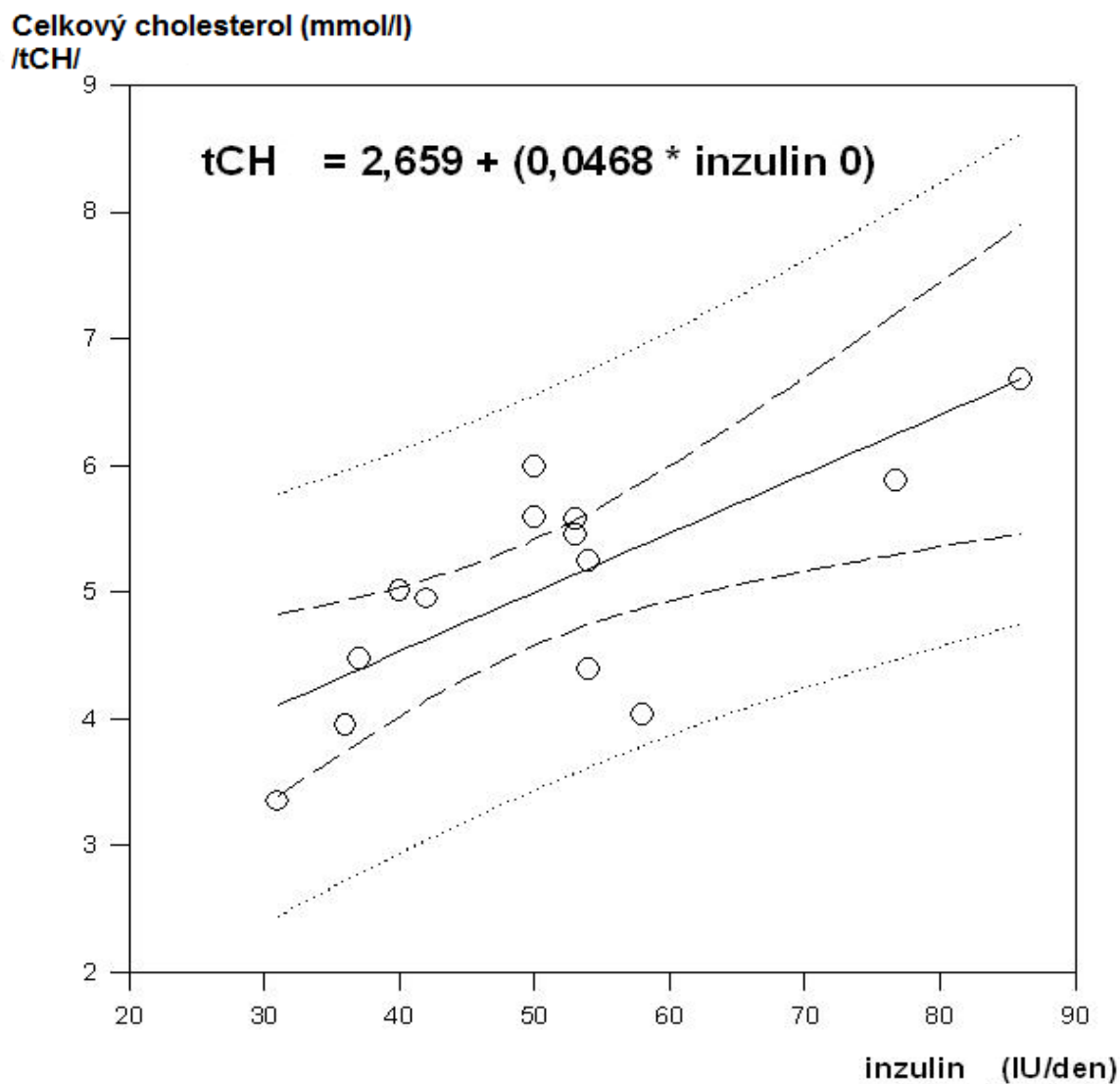
5.1.2. *Metabolismus cholesterolu*

U obou studijních podskupin pacientů s diabetes mellitus 1. typu bylo vstupně stanoveno lipidové spektrum a vybrané markery cholesterolového metabolismu (Tab. 6). 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 6. Vstupní charakteristika vybraných markerů cholesterolového metabolismu obézních a štíhlých diabetiků 1. typu. Legenda: NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance

Získaná data byla korelována. U obézních diabetiků byl vztah terapeutické denní dávky inzulínu a celkového cholesterolu charakterizován lineární regresí ($P = 0.007$, $r^2=0.50$) (Obr. 9). Nebyla zaznamenána signifikantní korelace terapeutické dávky inzulínu s markery cholesterolového metabolismu (Tab. 7).



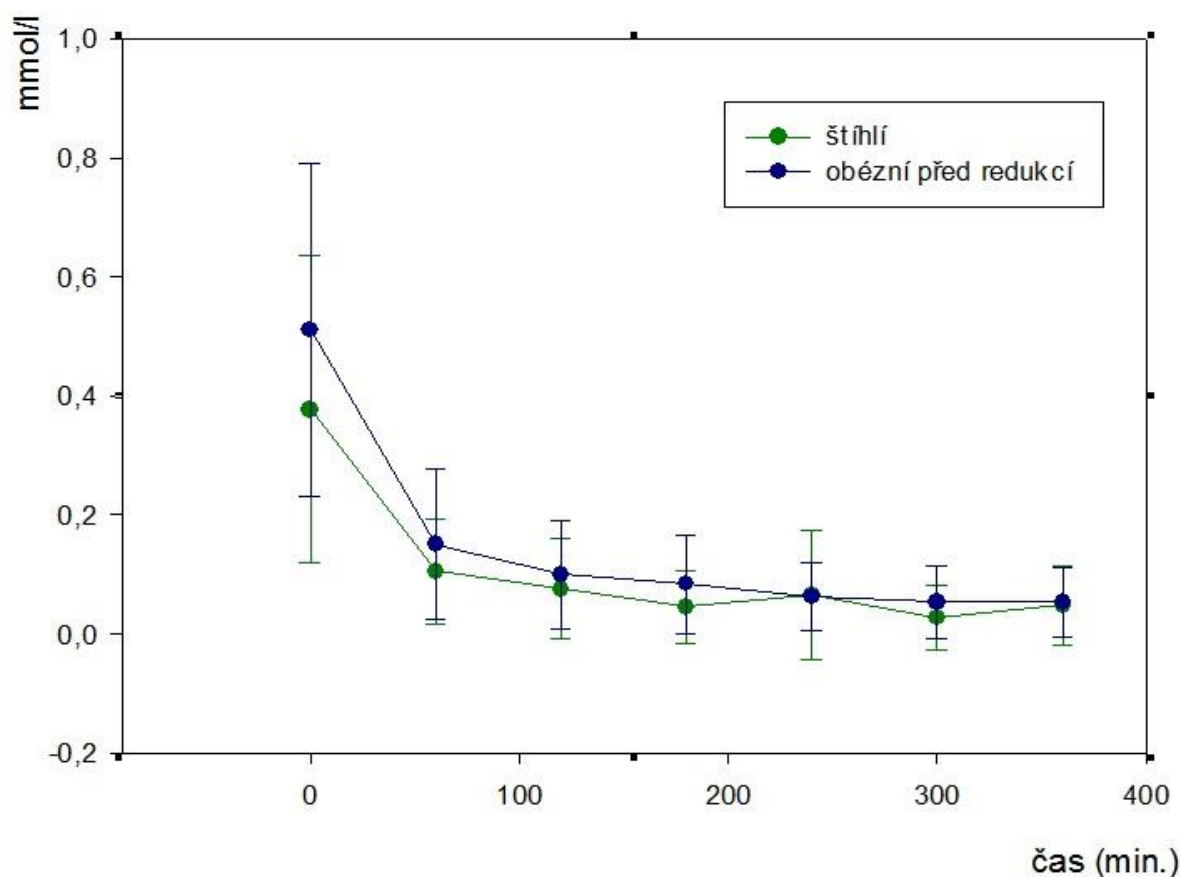
Obrázek 9. Pozitivní signifikantní ($P=0.007$, $r^2=0.50$) lineární regrese vstupní terapeutické dávky inzulínu a hladiny celkového cholesterolu v plasmě u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu. (tCH – celkový cholesterol, IU – mezinárodní jednotka, r – korelační koeficient)

	Spearmanův test	
	r	P - hodnota
Skvalen	0.003	0.98
Lathosterol	0.150	0.60
Campesterol	0.059	0.84
Sitosterol	0.088	0.76
Lathosterol/cholesterol	0.025	0.92
Campesterol/cholesterol	-0.11	0.71
Sitosterol/cholesterol	-0.003	0.98

Tabulka 7. Korelace vstupní dávky terapeutického inzulínu a vybraných markerů cholesterolového metabolismu u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu. Legenda: P- p-hodnota, signifikance; r - korelační koeficient).

5.1.3. Hyperinzulinemický euglykemický clamp

Hladina **volných mastných kyselin** v plazmě byla vstupně signifikantně vyšší ($P < 0.05$), (0.52 (0.35; 0.59)) u podskupiny obézních diabetiků v porovnání s kontrolní skupinou štíhlých pacientů (0.27 (0.18; 0.6)). Byla charakterizována dynamika plazmatických hladin volných mastných kyselin v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu (*obr. 10*). Signifikantního poklesu ($P < 0.001$) volných mastných kyselin bylo v obou podskupinách dosaženo v 60-360 minutě clampu.



Obrázek 10. Dynamika plazmatických hladin FFA u podskupiny štíhlých diabetiků 1. typu a obézních diabetiků 1. typu /fáze I/ v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu.

Nepřímá kalorimetrie byla provedena v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu v čase 0, 120 min a 360 min (Tab 8). Respirační kvocient podskupiny obézních na konci 1. stupně clampu byl signifikantně nižší ($p = 0.043$) v porovnání se skupinou štíhlých diabetiků 1. typu.

U obou podskupin byl signifikantní vzestup RQ zachycen v čase 0-360 min, pro podskupinu štíhlých ($P = 0.007$) obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu ($P = 0.001$). Nebyl nalezen signifikantní rozdíl ve velikosti vzestupu RQ obou podskupin.

	Štíhlí	Obézní – Fáze I	Signifikance
RQ	0.84 (0.82; 0.93)	0.84 (0.81; 0.89)	NS
REE (kcal)	1799 (1433; 1897)	1734 (1598; 1925)	NS
RQ	0.89 (0.87; 0.94)	0.86 (0.82; 0.89)	P=0.043
REE (kcal)	1783 (1482; 1984)	1805 (1654; 2067)	NS
RQ	0.94 (0.91; 0.99)	0.93 (0.92; 0.97)	NS
REE (kcal)	1882 (1646; 2094)	2047 (1831; 2215)	NS

Tabulka 8. Výstupní data nepřímé kalorimetrie obézních a štíhlých diabetiků 1. typu ve Fázi I provedené v čase 0, 120 min a 360 min hyperinzulinemického euglykemického clampu. (rozlišení času kalorimetrie charakterizují barevně odstupňovaná pásma – světle zelená /čas 0/, jasně zelená/čas 120 min/, tmavě zelená /čas 360 min/). (RQ – respirační kvocient, REE – resting energy expenditure, VO_2 – objem spotřebovaného kyslíku, VCO_2 – objem vydechnutého CO_2), NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance.

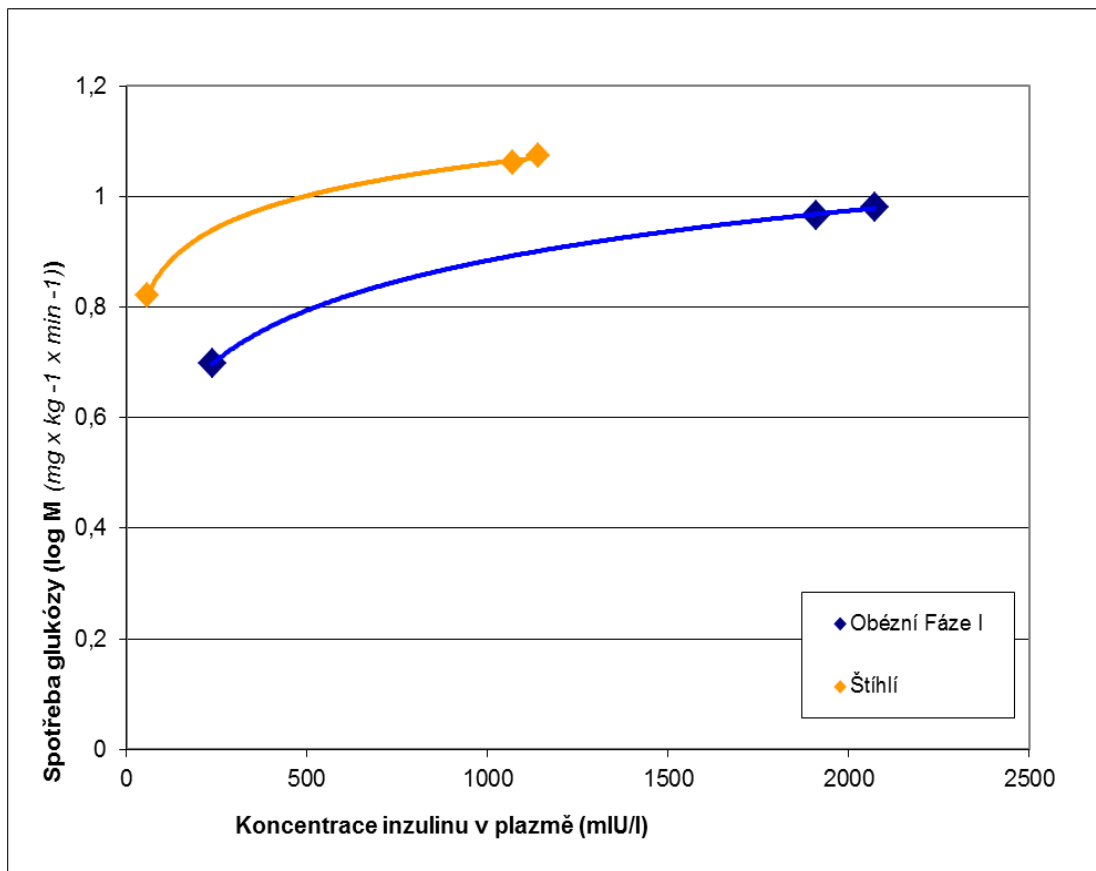
Dvoustupňový hyperinzulinemický euglykemický clamp byl proveden v průběhu 360 minut. Výstupní data byla zaznamenána na konci první (80-120 minut) a druhé fáze clampu (320-360 minut) (Tab. 9). Koeficient variability po odečtení chyby měření glukometrem (3.18 %) je ve Fázi I pro skupinu obézních pacientů 6.1 (4.1; 8.8) % v 1. stupni clampu 3.7 (3.3; 4.7) % ve 2. stupni clampu. Pro podskupinu štíhlých pacientů je koeficient variability v obou stupních clampu po odečtení chyby glukometru 6.9 (5.7; 9.5) % a 5.2 (3.5; 8.4) %.

	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 9. Výstupní data dvoustupňového hyperinzulinemického euglykemického clampu obézních a štíhlých diabetiků 1. 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 1. typu ($P < 0.05$). V 1. stupni obézní pacienti charakterizovala signifikantně ($P < 0.05$) nižší oxidativní spotřeba glukózy, ve 2. stupni potom nižší neoxidativní spotřeba glukózy v porovnání se štíhlými.

Byla sestrojena křivka závislosti účinku inzulínu na jeho koncentraci v plazmě (Obr. 11).



Obrázek 11. Charakteristika závislosti účinku inzulínu na jeho koncentraci v plazmě v průběhu dvoustupňového hyperinzulinemického euglykemického clampu – porovnání vstupních dat obézních a štíhlých diabetiků I. typu.

5.2. FÁZE I – III – VÝVOJ PARAMETRŮ OBÉZNÍCH PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU V PRŮBĚHU REDUKČNÍHO PROGRAMU

5.2.1. Charakteristika studijní skupiny

Podskupina obézních diabetiků 1.typu byla charakterizována v průběhu 3 fází redukčního programu (*Tab. 10*). 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.

5.2.2. 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 ($P < 0.001$), poměru lathosterol/cholesterol ($P < 0.05$), campesterolu ($P < 0.05$) a poměru campesterol/cholesterol ($P \leq 0.001$)(*Tab. 11*).

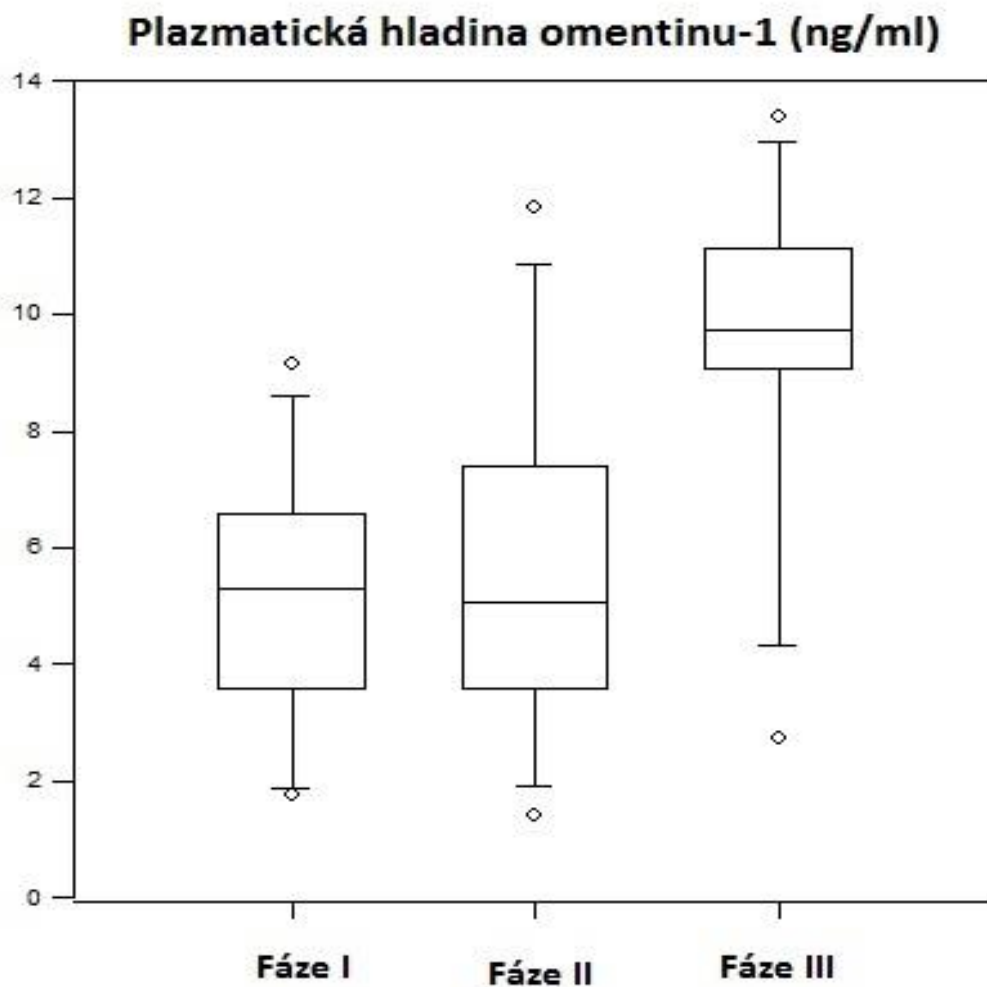
	Obézní – Fáze I	Obézní – Fáze II	Obézní – Fáze III	Sig. I vs II	Sig. I vs III
Věk (roky)	43 (36; 46)	-	-	-	-
Trvání diabetu (roky)	19 (10; 26)	-	-	-	-
BMI (kg/m²)	33.2 (32.4; 33.6)	31.5 (30.4; 32.2)	32.7 (31.6; 32.9)	*P≤0.001	*P≤0.001
Obvod pasu (cm)	108 (105; 110)	103 (94; 106)	105 (92; 110)	*P≤0.001	*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/m²)	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/m²)	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 10. 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

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

Tabulka 11. Charakteristika cholesterolového metabolismu a vybraných markerů cholesterolového metabolismu podskupiny obézních diabetiků I. typu v průběhu redukčního programu (Fáze I, II, III). NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance.

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 vzestupu (9.74 (9.11; 10.98) ng/ml) (*Obr. 12*).



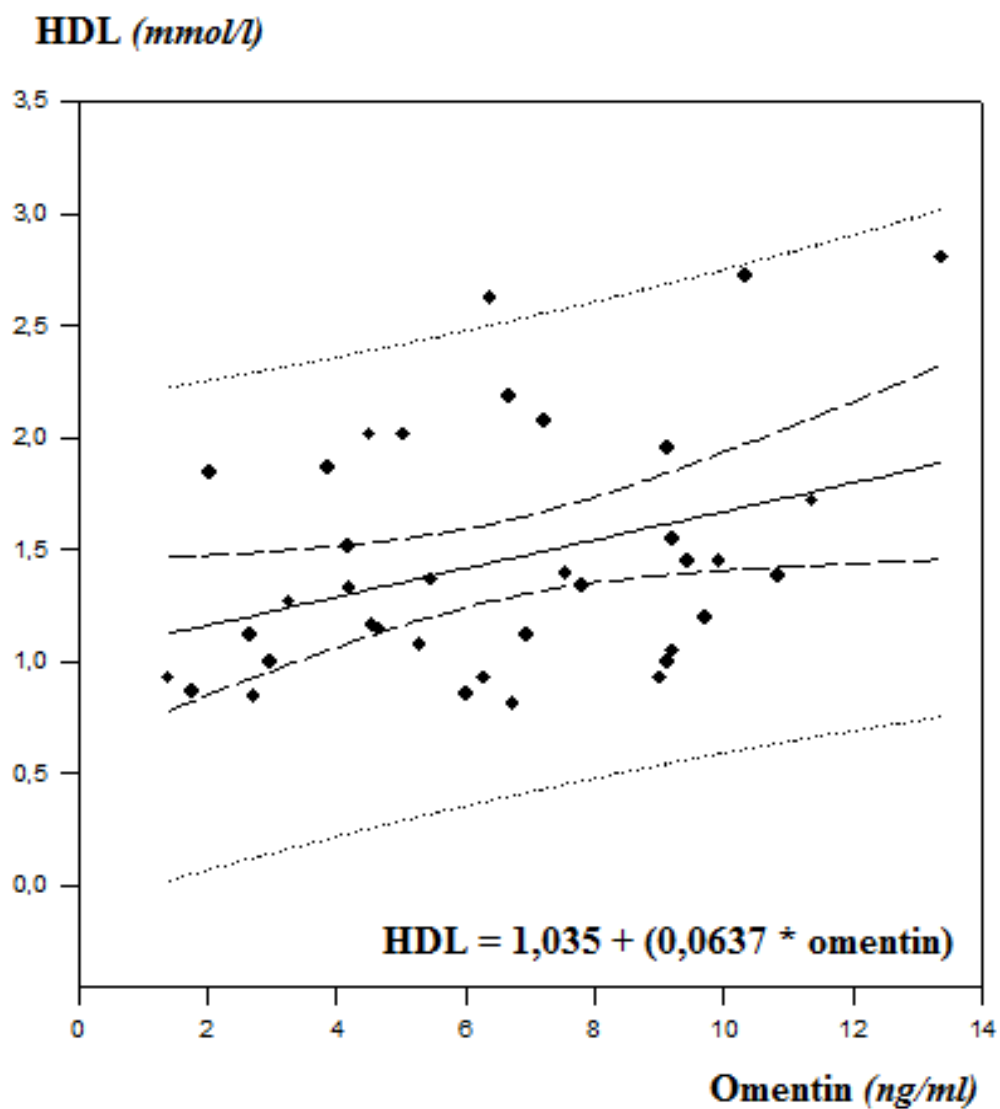
Obrázek 12. Dynamika plazmatických hladin omentinu-1 v I-III Fázi redukčního programu u obézních diabetiků 1. typu.

Nebyly nalezeny intersexuální rozdíly v plazmatických hladinách omentinu-1. 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. 12).

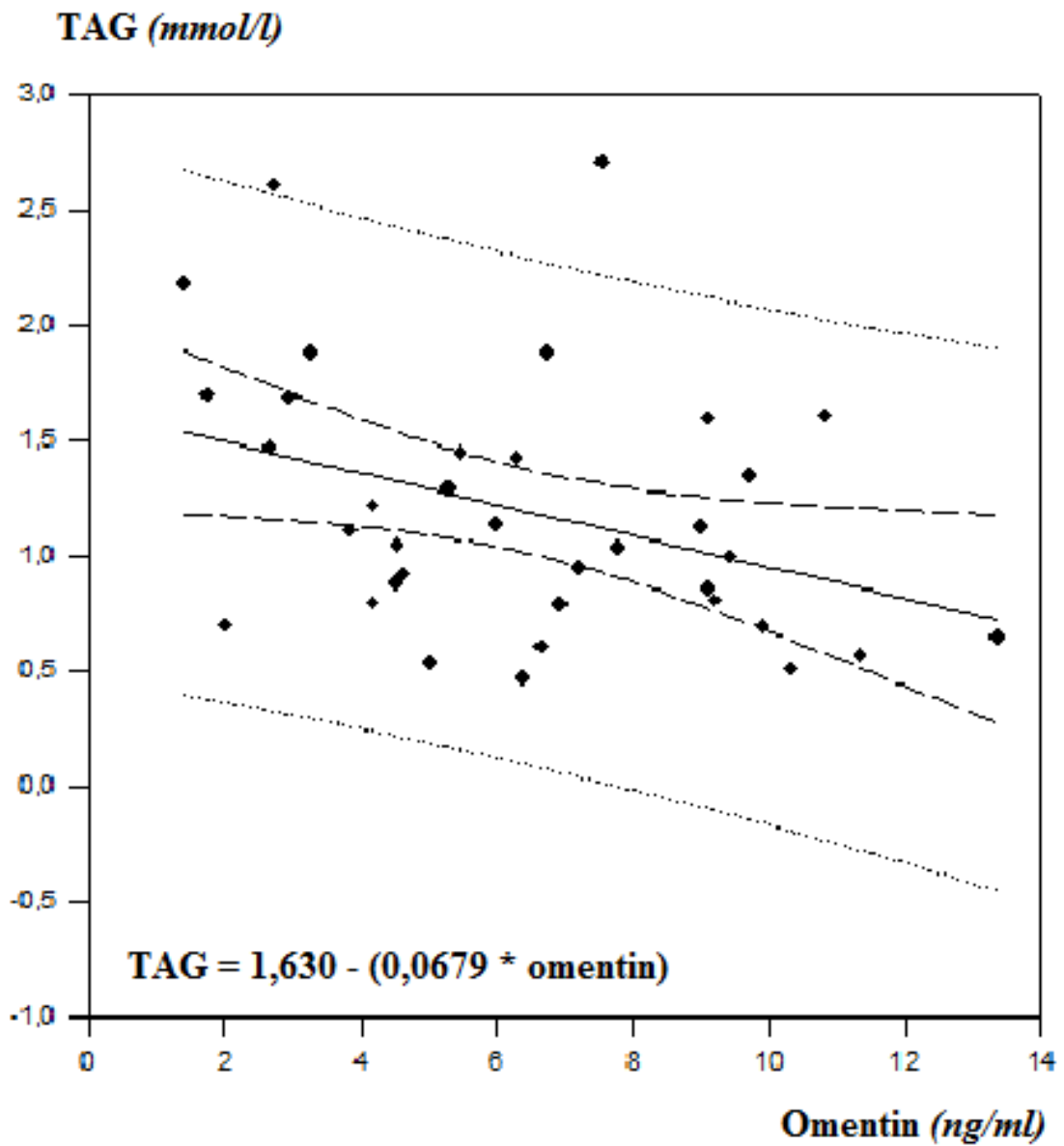
Omentin (ng/ml)	Spearmanův test	
	r	P-hodnota
Celkový cholesterol (mmol/l)	0.081	0.62
HDL cholesterol (mmol/l)	0.44	0.005
LDL cholesterol (mmol/l)	- 0.20	0.231
Triacylglyceroly (mmol/l)	-0.41	0.011
Skvalen (μmol/l)	-0.073	0.66
Lathosterol (μmol/l)	-0.34	0.033
Campesterol (μmol/l)	-0.32	0.05
Sitosterol (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 12. Parametry korelace mezi plazmatickými hladinami omentinu-1 a vybranými markery cholesterolového metabolismu u obézních diabetiků I. typu. Legenda: P- p-hodnota, signifikance; r - korelační koeficient.

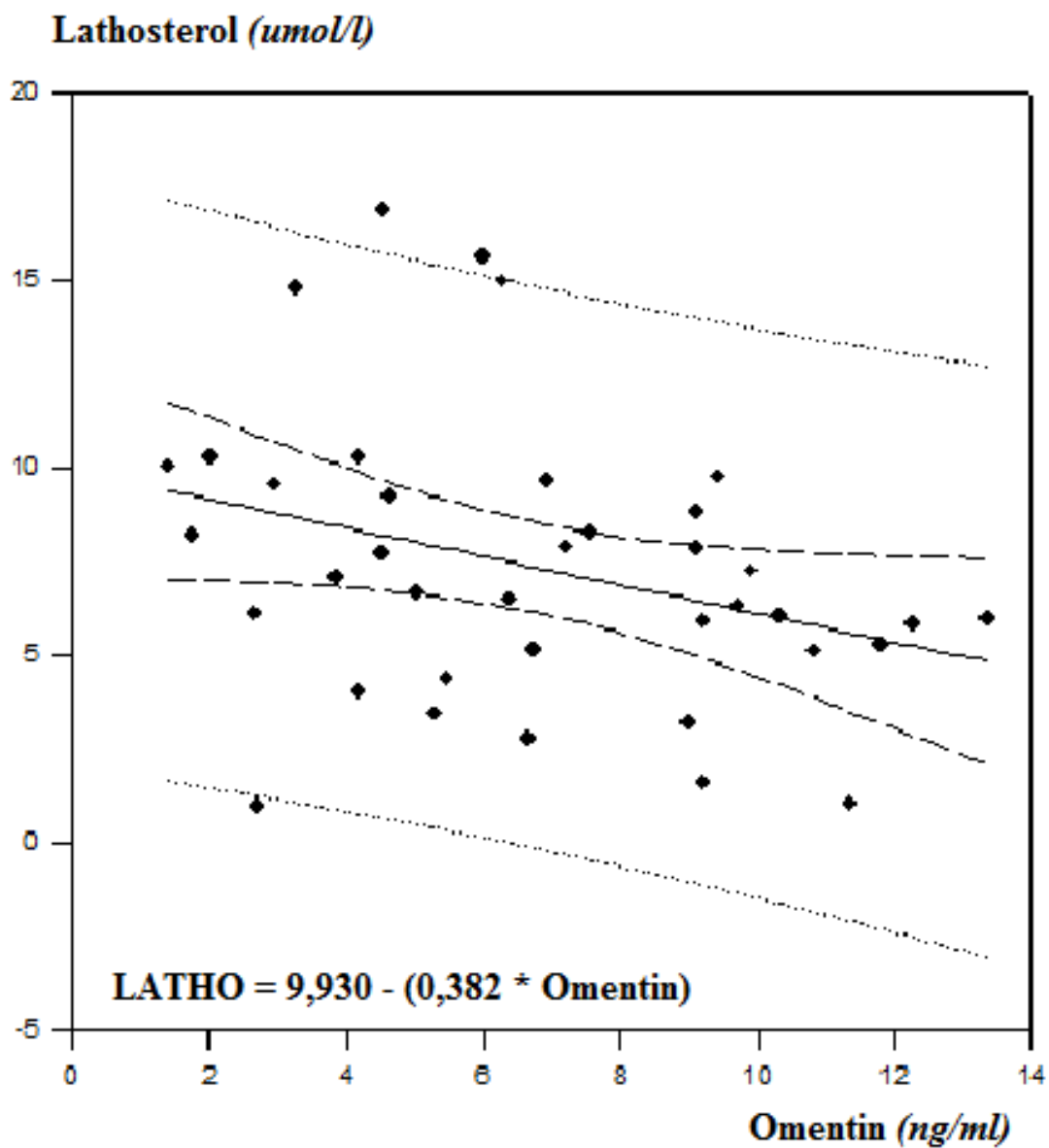
Vztah omentinu-1 k TAG, HDL-cholesterolu a markerům endogenní syntézy byl charakterizován lineární regresí (Obr. 13-16).



Obrázek 13. Pozitivní signifikantní ($P=0.032$; $r^2= 0.125$) lineární regrese plazmatických hladin omentinu-1 a HDL cholesterolu u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu v průběhu Fáze I-III redukčního programu.

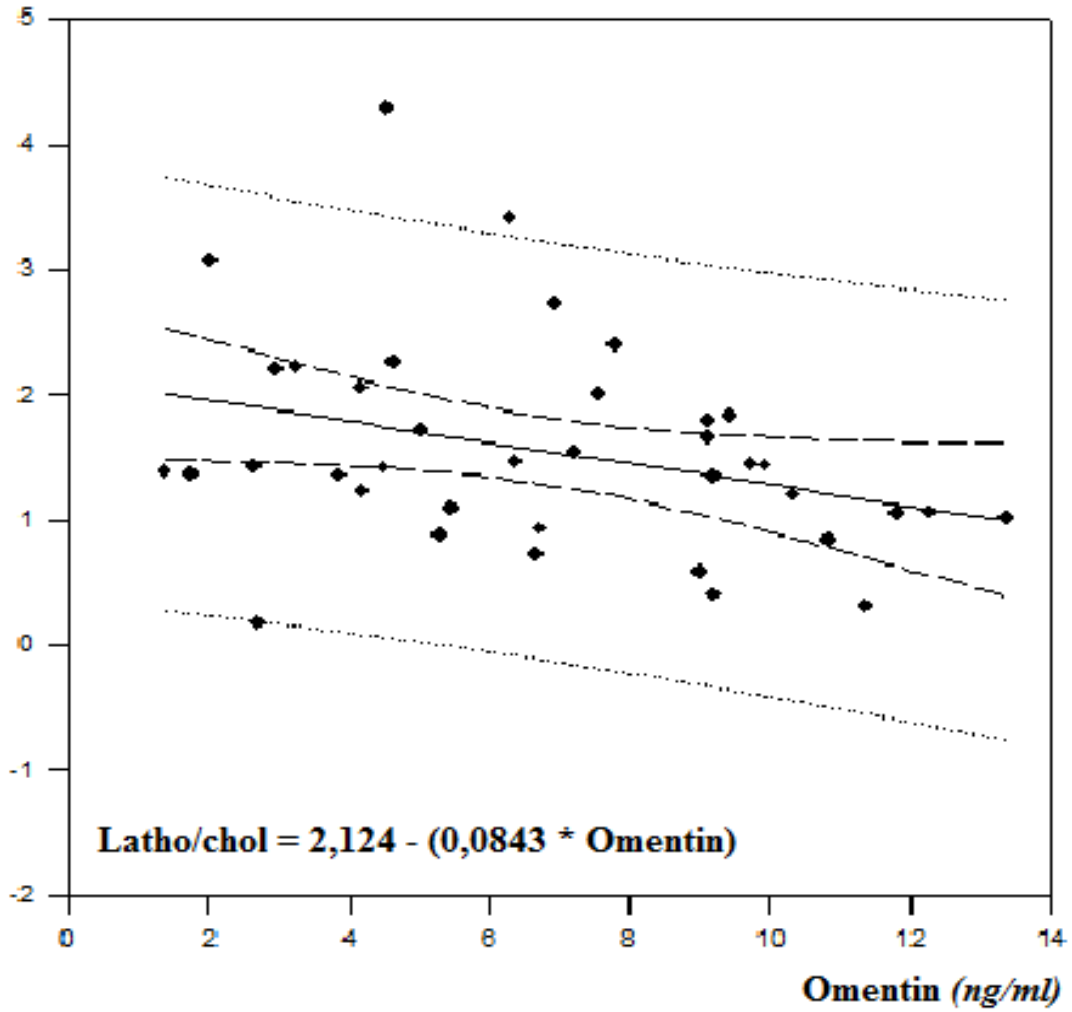


Obrázek 14. Negativní signifikantní signifikantní ($P=0.029$; $r^2=0.133$) lineární regrese plazmatických hladin omentinu-1 a triacylglycerolů u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu v průběhu Fáze I-III redukčního programu.



Obrázek 15. Negativní signifikantní ($P=0.040$; $r^2= 0.11$) lineární regrese plazmatických hladin omentinu-1 a lathosterolu u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu v průběhu Fáze I-III redukčního programu.

Lathosterol/cholesterol (umol/mmol)



Obrázek 16. Negativní signifikantní ($P=0.040$; $r^2= 0.11$) lineární regrese plazmatických hladin omentinu-1 a lathosterolu u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu v průběhu Fáze I-III redukčního programu.

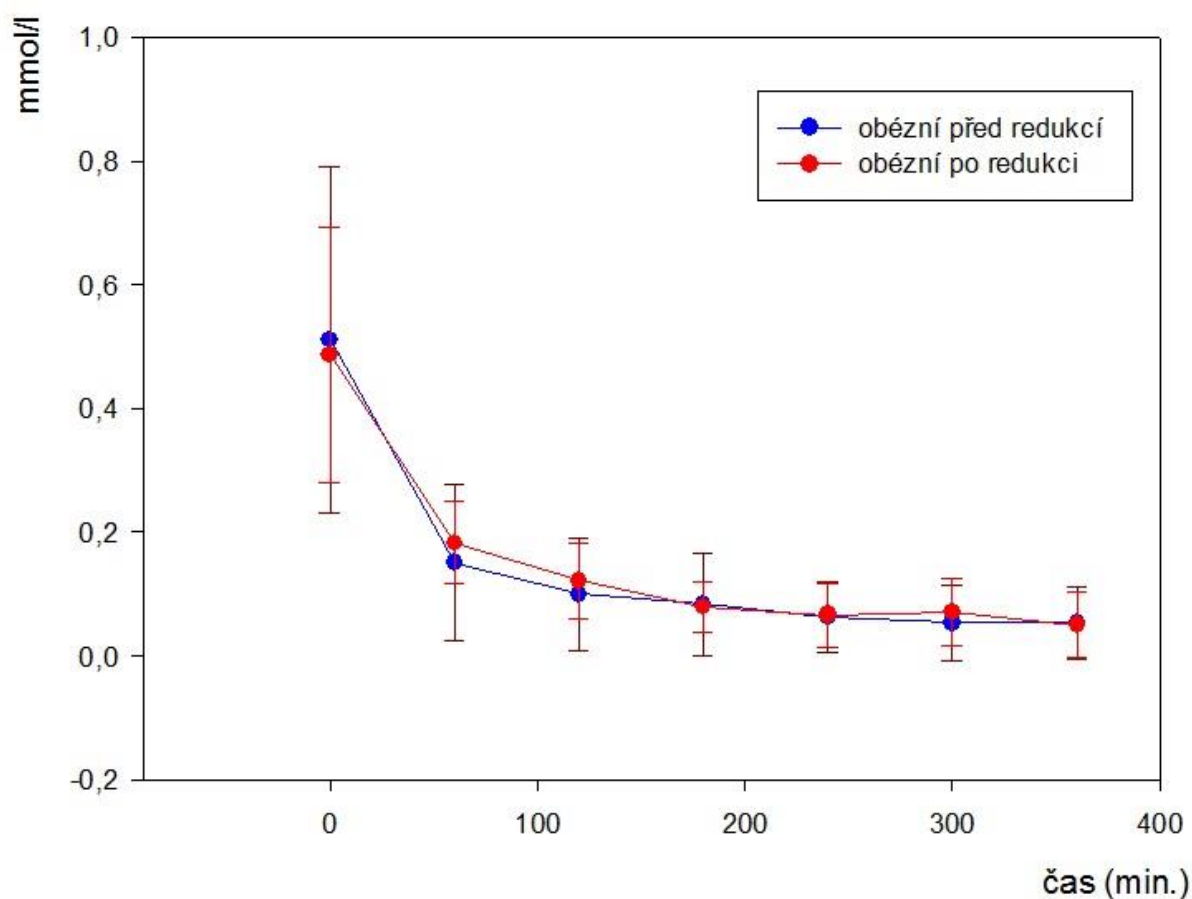
Velikosti změn ve vybraných metabolických parametrech byly porovnávány se změnami plazmatických hladin omentinu-1 v průběhu redukčního programu. Pro Fázi I-II nebyl zaznamenán statisticky významný vztah mezi výše zmíněnými parametry. Ve Fázi I-III byla zachycena signifikantní negativní korelace změn pro vztah glykovaného hemoglobinu ($r = -0.72$; $P = 0.008$) a triacylglycerolů ($r = -0.64$; 0.022) s plazmatickou hladinou omentinu-1 (Tab. 13).

Omentin (ng/ml)	Spearmanův test	
	<i>r</i>	<i>P- hodnota</i>
Glykovaný hemoglobin (% IFCC)	-0.72	0.008
Celkový cholesterol (mmol/l)	- 0.19	0.52
HDL - cholesterol (mmol/l)	0.24	0.44
LDL - cholesterol (mmol/l)	- 0.13	0.656
Triacylglyceroly (mmol/l)	- 0.64	0.022
Skvalen (μmol/l)	0.44	0.14
Lathosterol (μmol/l)	0.42	0.17
Campesterol (μmol/l)	0.48	0.11
B-sitosterol (μmol/l)	0.36	0.23
Lathosterol/cholesterol (μmol/mmol)	0.47	0.12
Campesterol/ cholesterol (μmol/mmol)	0.42	0.17
Sitosterol/ cholesterol (μmol/mmol)	0.41	0.17
Volné mastné kyseliny (mmol/l)	0.55	0.06

Tabulka 13. – Korelace změn v plazmatického omentinu-1 se změnami vybraných metabolických parametrů ve Fázi I-III u obézních pacientů s diabetes mellitus I. typu. Legenda: IFCC – International federation of clinical chemistry; *r* - korelační koeficient.

5.2.3. Hyperinzulinemický euglykemický clamp – Fáze I. - II. (před redukcí – měsíc po zahájení redukce)

Plazmatická hladina **volných mastných kyselin** obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu v I (0.49 (0.34;0.60)), II (0.40 (0.37;0.68)) a III(0.43 (0.29; 0.61)) Fázi redukčního programu v čase 0 min se významně nelišila. Nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v dynamice plazmatických FFA při clampovém vyšetření v obou sledovaných fázích redukčního programu (*obr. 13*). Signifikantního poklesu ($P < 0.001$) volných mastných kyselin bylo v obou podskupinách dosaženo ve 60-360 minutě clampu.



Obrázek 13. Dynamika plazmatických hladin volných mastných kyselin obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu v průběhu I a II Fáze redukčního programu

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 Fázi I ($P = 0.001$) a II ($P = 0.001$). Vzestup RQ v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu ve II Fázi byl signifikantně ($P = 0.045$) vyšší v porovnání ze vzestupem RQ v I Fázi redukčního programu.

	Obézní – Fáze I	Obézní – Fáze II	Signifikance
RQ	0.84 (0.81; 0.89)	0.8 (0.78; 0.83)	P=0.019
REE (kcal)	1734 (1598; 1925)	1781 (1629; 1897)	NS
RQ	0.86 (0.82; 0.89)	0.82 (0.8; 0.84)	NS
REE (kcal)	1805 (1654; 2067)	1794 (1728; 1910)	NS
RQ	0.93 (0.92; 0.97)	0.98 (0.90; 0.98)	NS
REE (kcal)	2047 (1831; 2215)	1902 (1831; 1998)	NS

Tabulka 14 Výstupní data nepřímé kalorimetrie ve Fází I a II provedené v čase 0, 120 min a 360 min hyperinzulinemického euglykemického clampu – obézní pacienti s diabetes mellitus 1. typu. Legenda: Rozlišení času kalorimetrie charakterizují barevně odstupňovaná pásma – světle zelená /čas 0/, středně zelená/čas 120 min/, tmavě zelená /čas 360 min/. RQ – respirační kvocient, REE – resting energy expenditure, VO_2 – objem spotřebovaného kyslíku, VCO_2 – objem vydechnutého CO_2 , NS – nesignifikantní; P – p hodnota, signifikance.

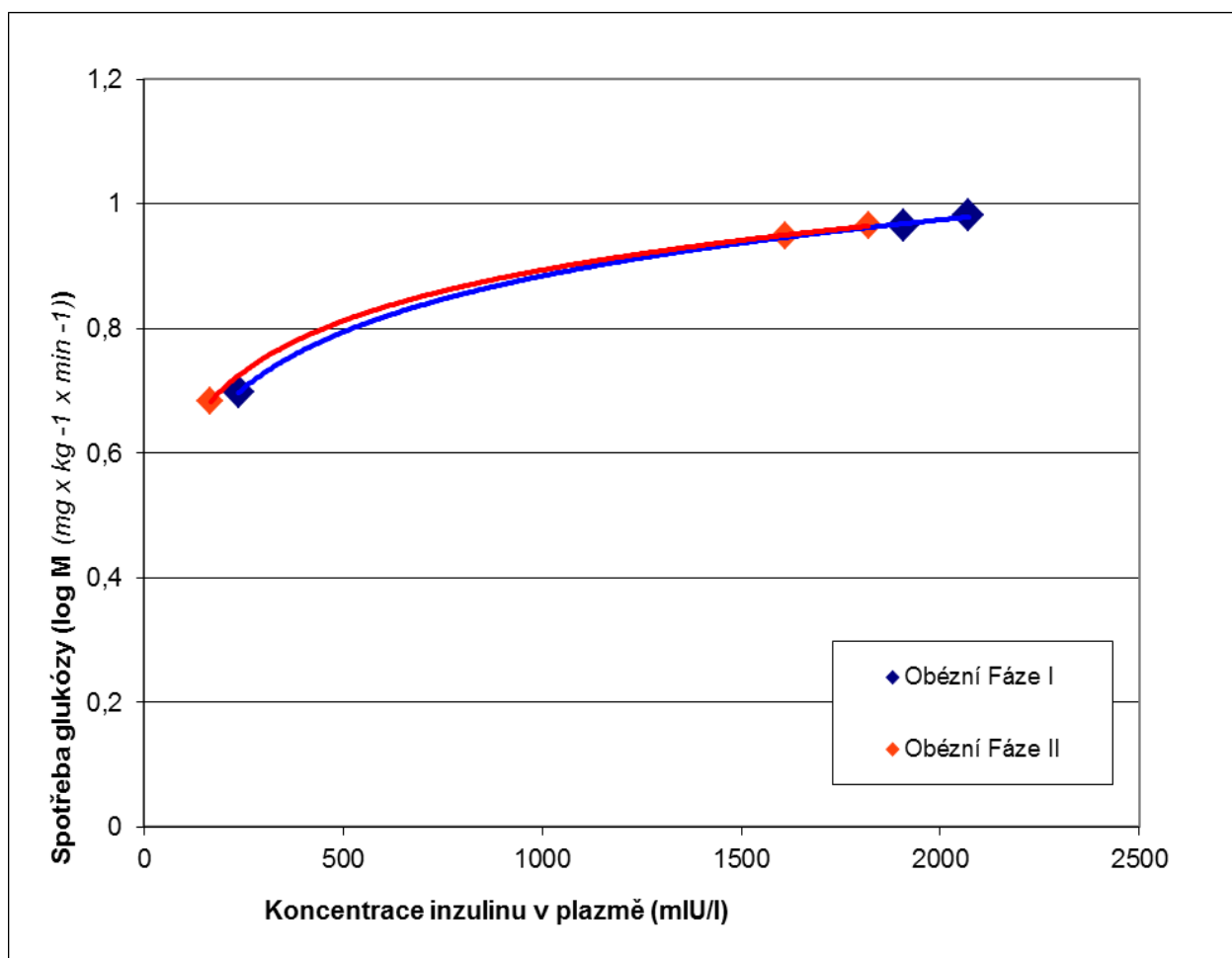
Dvoustupňový hyperinzulinemický euglykemický clamp byl proveden v průběhu 360 minut. Výstupní data byla zaznamenána na konci prvního (80-120 minut) a druhého stupně clampu (320-360 minut) (Tab.15). Koeficient variability po odečtení chyby měření glukometrem (3.18 %) je ve fázi I 6.1 (4.1; 8.8) % v 1. stupni clampu 3.7 (3.3; 4.7) % ve 2. stupni clampu. Ve II Fázi programu byl koeficient variability v 1. stupni 4.9 (3.3; 10.2) % a v 2. stupni vyšetření 5.1 (3.8; 7.0) %.

	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 15. 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.

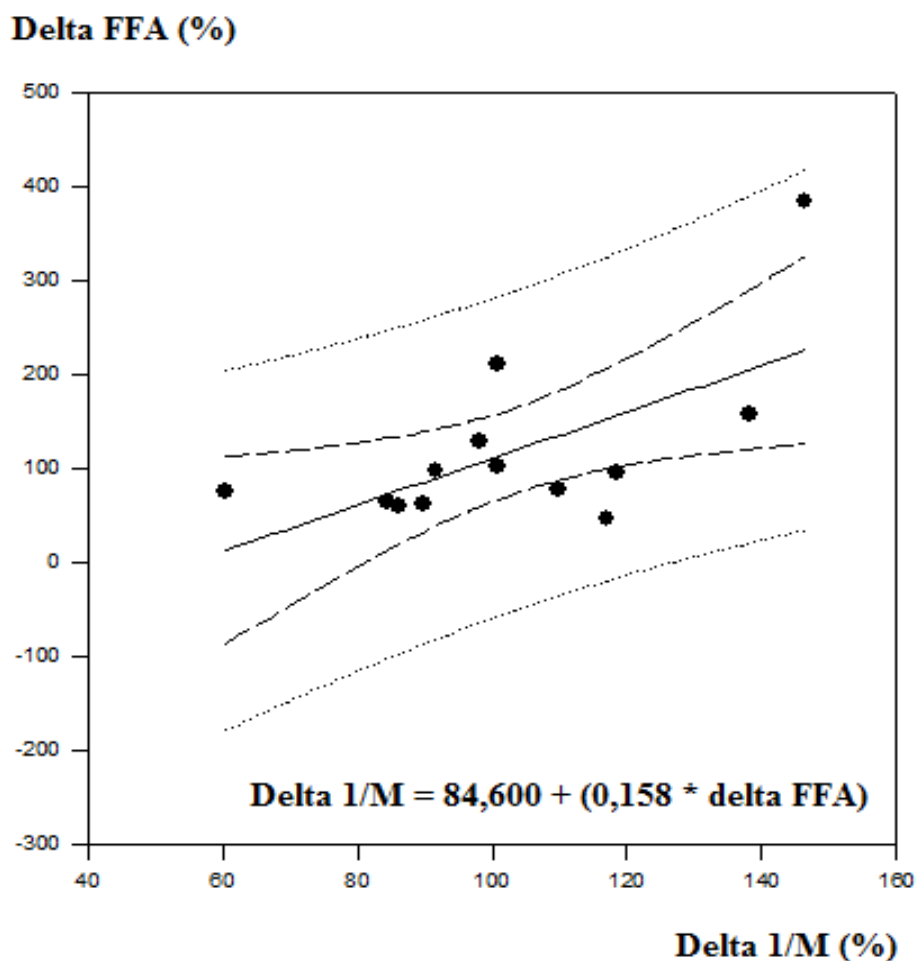
V 1. stupni clampu byl zaznamenán signifikantní pokles oxidativní spotřeby glukózy u obézních pacientů ve II Fázi redukčního programu ($P < 0.05$).

Byla sestrojena křivka závislosti účinku inzulínu na jeho koncentraci v plazmě (Obr. 14).



Obrázek 14. Charakteristika závislosti účinku inzulínu na jeho koncentraci v plazmě v průběhu dvoustupňového hyperinzulinemického euglykemického clampu – obézní pacienti s diabetes mellitus 1. typu Fáze I a II.

Ve II Fázi redukčního programu v průběhu 1. stupně hyperinzulinemického euglykemického clampu byl vztah mezi relativní změnou v inzulinové rezistenci (IR) ($IR = 1/M$) a změnou v plazmatické hladině volných mastných kyselin definován vztahem pozitivní lineární regrese (Obr 15).



Obrázek 15. – Pozitivní signifikantní ($P = 0.02$, $r = 0.63$) lineární regrese relativní změny plazmatických volných mastných kyselin (delta FFA) a relativní změny inzulinové rezistence (delta $1/M$) v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu ve Fázi II redukčního programu. Legenda: r – korelační koeficient

5.2.4. Inzulinová rezistence a cholesterolový metabolismus

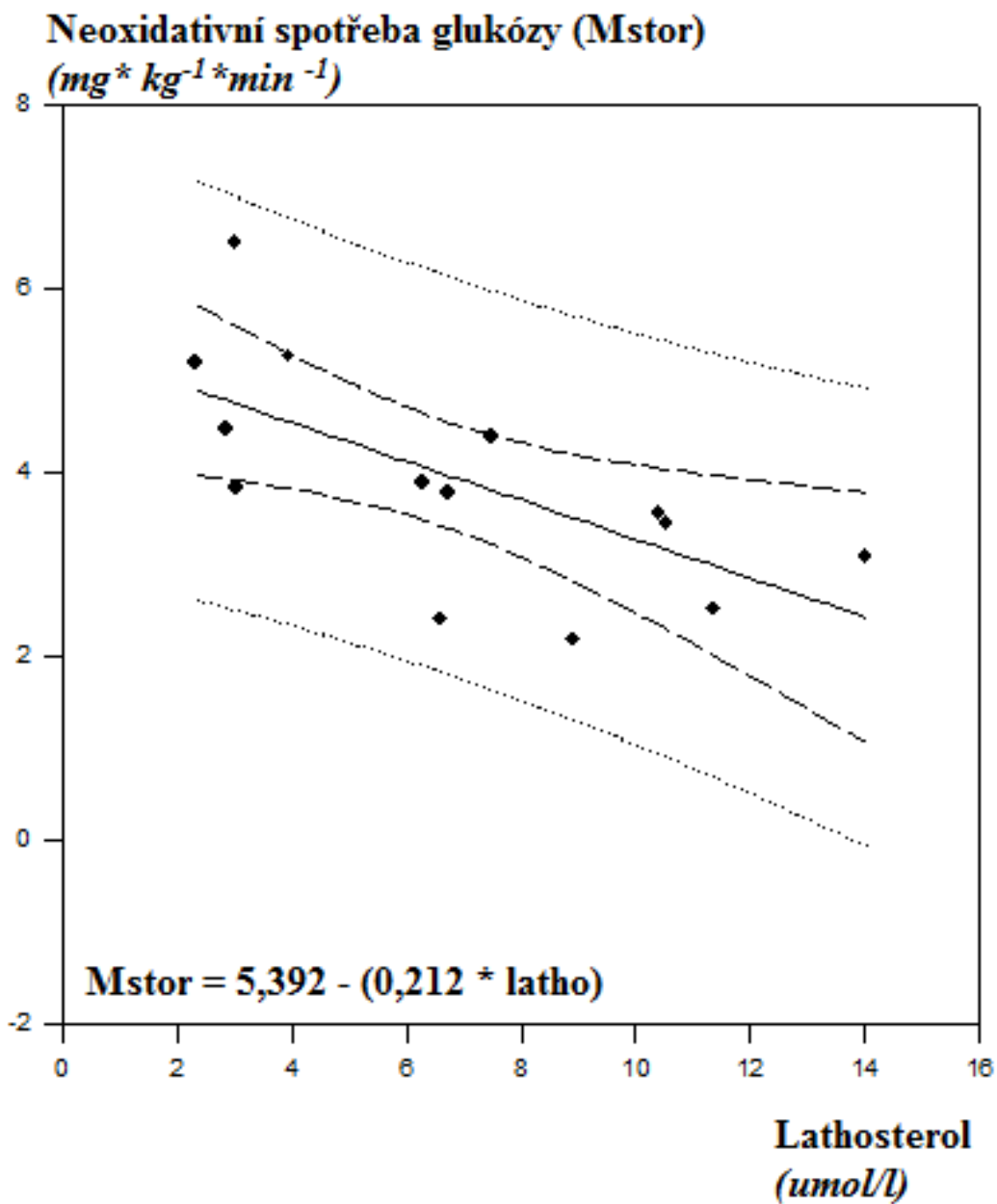
V I Fázi redukčního programu byl definován vztah lipidového spektra a vybraných markerů cholesterolového metabolismu k výstupním hodnotám spotřeby glukózy ve 120 minutě (1. stupeň) hyperinzulinemického euglykemického clampu (Tab. 16).

	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 (μmol/mmol)	-0.65	0.012	-0.54	0.054
Campesterol/cholesterol (μmol/mmol)	0.20	0.48	-0.09	0.75
Sitosterol/cholesterol (μmol/mmol)	0.28	0.32	0.30	0.30
Skvalen (μmol/l)	-0.037	0.892	-0.56	0.046

Tabulka 16. 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.

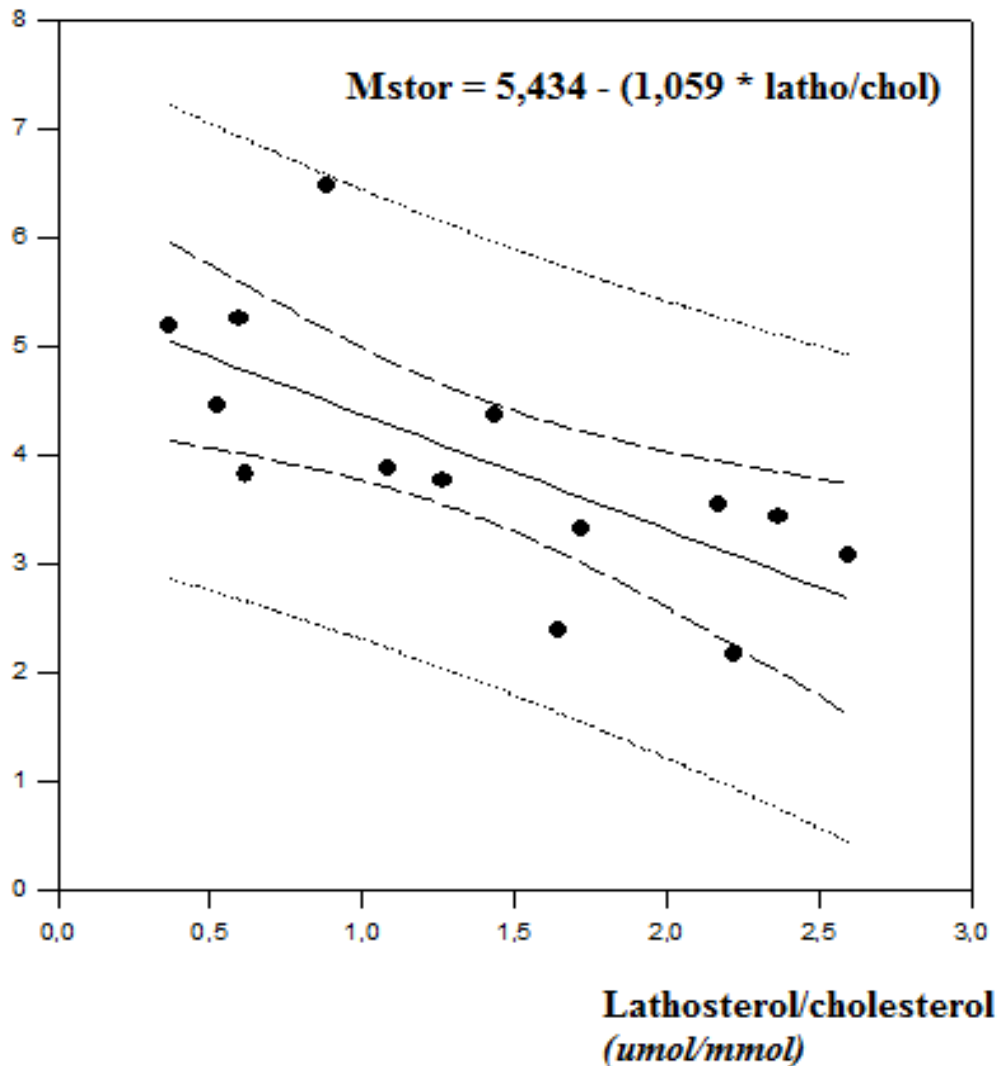
V I Fázi redukčního programu byla nalezena signifikantní negativní korelace celkové spotřeby glukózy (M) a markerů endogenní syntézy cholesterolu: u skupiny obézních diabetiků 1. typu (*lathosterol*, *lathosterol/cholesterol*) i podskupiny štíhlých diabetiků 1. typu (*lathosterol*). U obou studijních podskupin pacientů byla nalezena signifikantní korelace markerů endogenní syntézy cholesterolu s neoxidativní spotřebou glukózy na konci 1. stupně clampového vyšetření. Pro podskupinu štíhlých: *lathosterol* ($r = -0.75$, $P = 0.0025$), *lathosterol/cholesterol* ($r = -0.82$, $P < 0.001$); a obézních: *lathosterol* ($r = -0.59$, $P = 0.034$), *lathosterol/cholesterol* ($r = -0.57$, $P = 0.028$).

Vztah poměru lathosterol/cholesterol a neoxidativní spotřeby glukózy byl charakterizován lineární regresí (Obr. 16, 17).

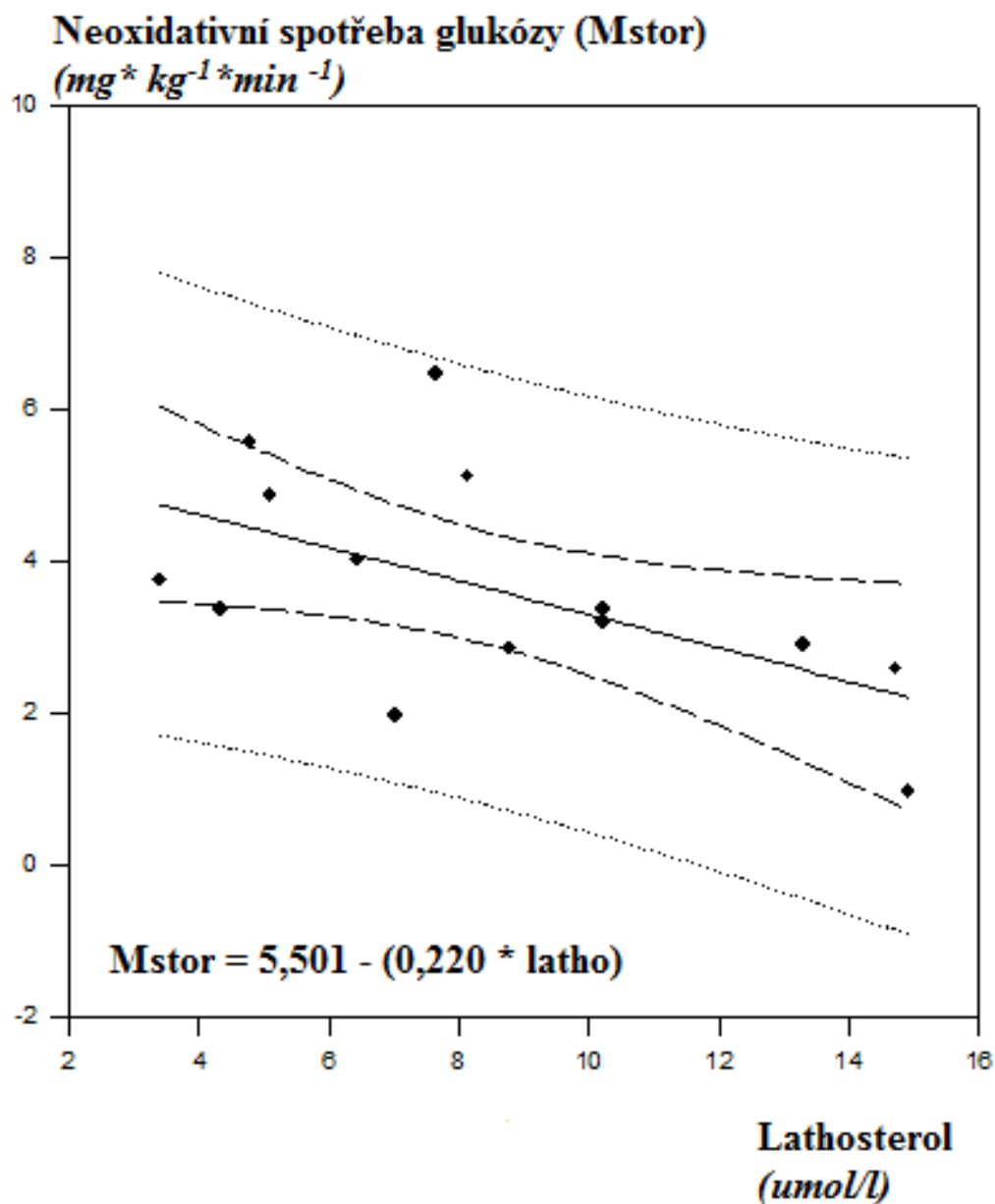


Obrázek 16. Negativní signifikantní ($P = 0.018$, $r^2 = 0.41$) lineární regrese lathosterolu a neoxidativní spotřeby glukózy na konci 1. stupně hyperinzulinemického euglykemického clampu štíhlých pacientů s diabetes mellitus 1. typu. Legenda: r – korelační koeficient, P – p hodnota signifikance

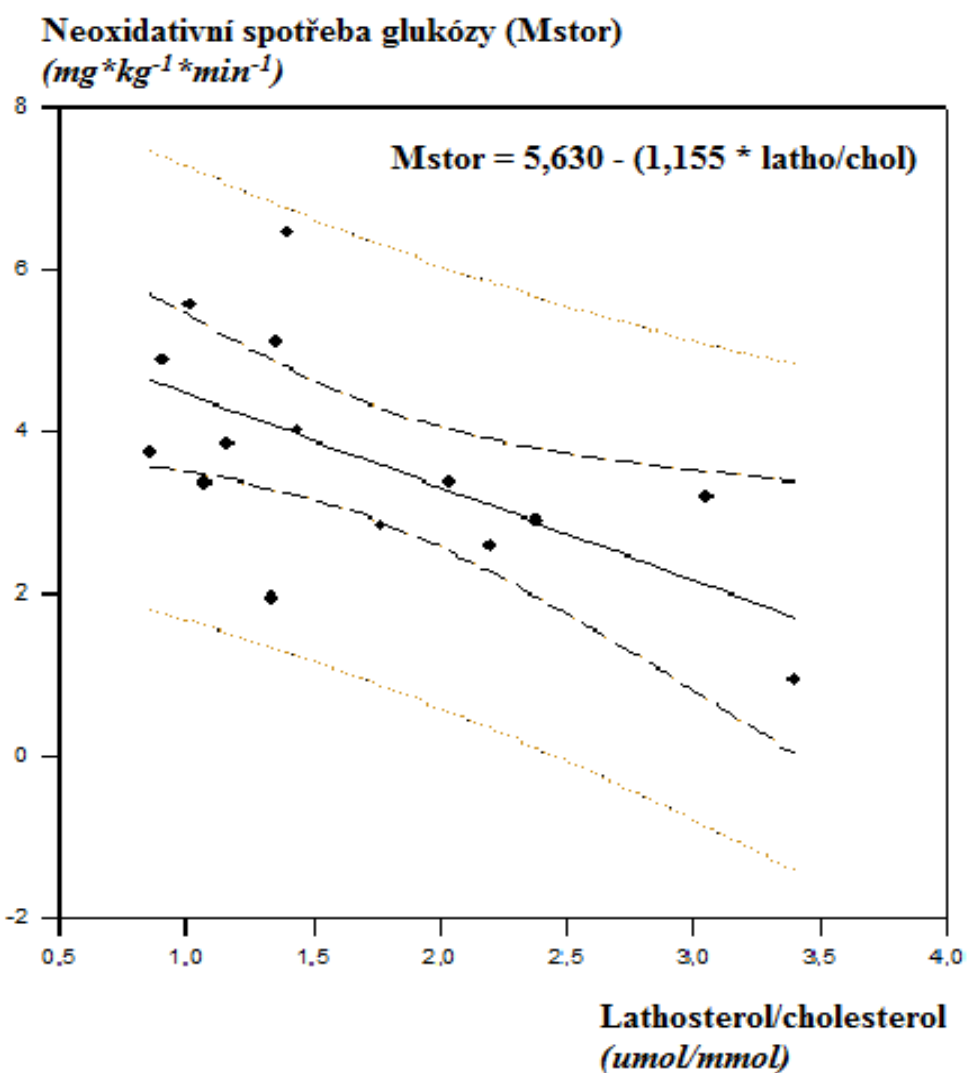
Neoxidativní spotřeba glukózy (Mstor)
($mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)



Obrázek 17. 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 18 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 19 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.

Všichni pacienti tolerovali sedmidenní periodu hladovění za hospitalizace dobře, nebyla zaznamenána závažná komplikace. Bylo zaznamenáno 7 epizod mírných hypoglykemií (2.5-3.5 mmol/l) zaléčených parenterální aplikací roztoku glukózy. V dalším průběhu, za ambulantní dispenzarizace ve Fázi II a III, nebyla zaznamenána zvýšená frekvence hypoglykemií ani jiných zdravotních obtíží.

6. Diskuze

V klinické diabetologii je inzulinová rezistence důležitým faktorem nejen u pacientů s diabetes mellitus 2. typu, významnou roli bezpochyby hraje též u pacientů s diabetes mellitus 1. typu, především u podskupiny obézních pacientů s touto diagnózou. Ačkoliv je samotný pojem **”inzulinová rezistence”** vnímán lékařskou obcí spíše negativně, nelze pominout ani přívětivější stranu inzulinové rezistence, tedy pohlížet na ni jako na důležitý evoluční adaptační mechanismus (205). S inzulinovou senzitivitou, potažmo rezistencí, je úzce spjat i cholesterolový metabolismus, jejich vzájemný vztah u obézních diabetiků 1. typu nebyl dosud dostatečně charakterizován. Cílem tohoto 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.

6.1. CHARAKTERISTIKA STUDIJNÍCH PODSKUPIN

6.1.1. Fáze I

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). Nesignifikantní odlišnosti byly nicméně zaznamenány v délce trvání a kompenzaci diabetu (Tab. 6). V podskupině obézních pacientů byl diabetes mellitus manifestován častěji v dětském věku (kdy již dle anamnestických dat většina těchto pacientů trpěla nadváhou), narozdíl od štíhlých diabetiků, jejichž onemocnění bylo diagnostikováno převážně v raně adolescentním období. Toto zjištění je v souladu s hypotézami pokládajícími inzulinorezistenci za významný akcelerující faktor manifestace diabetes mellitus 1. typu (149, 151, 152). Zároveň lze spekulovat o možném kontribuujícím vlivu déletrvajících intenzivních inzulinové terapie (od dětství) na progresi obezity.

Obě podskupiny pacientů byly ve shodném poměru léčeny intenzifikovaným inzulinovým režimem (inzulinová pumpa (10 pacientů), režim bazál-bolus (3-4 pacienti)). Významný rozdíl v denní terapeutické dávce inzulinu mezi podskupinami nebyl zaznamenán (*Tab. 6*), 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 (*186*).

Schémata aplikace inzulinu podskupiny štíhlých diabetiků vykazovala vyšší variabilitu, pacienti častěji aplikaci inzulinu flexibilně upravovali dle diety a režimu, což se může podílet na zkreslení údaje o denní terapeutické dávce inzulinu. Je pravděpodobné, že aktivní životní styl podskupiny štíhlých diabetiků, výraznější dietní a režimové změny s celkově kolísavějším glykemickým profilem, se mohou podílet na trendu horší kompenzace v porovnání se skupinou obézních diabetiků 1. typu. Logickou konsekvencí inzulinové rezistence u obézních je menší náchylnost ke vzniku epizod hypoglykemie, což je důležitý faktor přispívající ke stabilizaci glykemického profilu. Paradoxně tak z tohoto pohledu můžeme spekulovat o inzulinové rezistenci a její možné roli ve zlepšení kompenzace diabetu.

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.

6.1.2. Fáze II-III

Pacienti tolerovali redukční program, včetně minimálního perorálního příjmu, všeobecně dobře. Ve II Fázi došlo k signifikantnímu poklesu BMI a obvodu pasu (*Tab. 11*), který přetrval 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. Intervenovaní pacienti byli ve Fázi II-III edukováni a podporováni v motivaci individuálně v rozsahu

standardních ambulantních postupů, podrobná doporučení vhodných pohybových vzorců nebyla předmětem tohoto programu.

Denní terapeutická dávka inzulínu byla v průběhu redukčního programu u podskupiny obézních významně snížena. Na redukci denního inzulínu se částečně podíleli samotní pacienti, v obavě z hypoglykemie v domácích podmínkách. Při snaze dodržovat racionální dietní doporučení někteří pacienti aplikovali nižší dávky inzulínu, než bylo doporučováno studijním lékařem při pravidelných ambulantních kontrolách. To považujeme za jeden z důvodů signifikantního vzestupu glykovaného hemoglobinu ve Fázi I-III (*Tab. 11*). V průběhu programu, za ambulantního sledování, nicméně nebyla zaznamenána zvýšená frekvence epizod hypoglykemie. Dalším důvodem zhoršení diabetické kompenzace v průběhu redukčního programu mohla být snaha některých pacientů o navýšení pravidelné fyzické aktivity. Dle naší klinické zkušenosti je u pacientů s inzulínoterapií nezdědka zvýšené fyzické úsilí (především v iniciační fázi) spojené s větší variabilitou v glykemických profilech. Zvýšená variabilita může být spojena s celkovým zhoršením parametrů kompenzace diabetu. Lze proto spekulovat, že tento mechanismus přispívá ke zvýšení glykovaného hemoglobinu, především u pacientů usilujících o režimové změny (toto vysvětlení nachází též oporu v samotných anamnestických datech od pacientů; fyzickou aktivitu navýšily především ženy). Na druhou stranu nelze pominout ani zhoršení kompenzace diabetu při neudržení optimální compliance některých pacientů v průběhu redukčního programu, porovnáme-li ji s compliance v prvních týdnech a měsících.

6.2. METABOLISMUS CHOLESTEROLU

V dostupných zdrojích obdobná intervenční studie zabývající se změnami v cholesterolovém metabolismu u podskupiny obézních diabetiků 1. typu nebyla nalezena, ačkoliv srovnávací neintervenční data popisující cholesterolový metabolismus u štíhlých diabetiků 1. typu jsou k dispozici (*216, 217*).

Nebyly zaznamenány signifikantní rozdíly v lipidovém spektru mezi podskupinou obézních a štíhlých diabetiků 1. typu (*Tab. 7*). Ze vstupních dat charakterizujících

cholesterolový metabolismus jsou zřejmě signifikantně vyšší hladiny campesterolu a poměru campesterol/cholesterol u obézních diabetiků vůči štíhlým pacientům s diabetes mellitus 1. typu, což pravděpodobně odpovídá celkově vyššímu dietnímu příjmu těchto tuků. Obezita, metabolický syndrom a nárůst inzulinové rezistence však bývají tradičně spjaty s akcentovanou endogenní syntézou a naopak poklesem absorpčních markerů (158, 159, 187). V rámci našeho sledování nebyly nalezeny signifikantní rozdíly v markerech endogenní syntézy cholesterolu u skupiny obézních a štíhlých diabetiků 1. typu (Tab. 7).

V průběhu II Fáze programu byl zaznamenán u podskupiny obézních diabetiků 1. typu signifikantní pokles LDL-cholesterolu, celkového cholesterolu a markerů absorpce (*campesterol, sitosterol campesterol/cholesterol*); endogenní syntéza (*lathosterol/cholesterol*) 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 markeru absorpce – *campesterolu* a markeru endogenní syntézy - *lathosterolu*, spolu s poměrem *lathosterol/cholesterol* (Tab. 12). Hallikainen a spol. (188) 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 (188) v rámci našeho sledování nepotvrzujeme. Lze předpokládat, že signifikantní změny v endogenní cholesterolové syntéze mohou souviset se změnami inzulinové senzitivity. Inzulinová rezistence je zásadně ovlivněna množstvím tuku v jaterní tkáni (nealkoholová steatóza jater), jehož kvantita se přímo úměrně odráží v míře endogenní cholesterolové syntézy (187). Dlouhodobé dietní a režimové změny mohou vést k redukci intrahepatální tukové tkáně, zlepšení inzulinové senzitivity a předpokládanému poklesu endogenní syntézy cholesterolu. Vzestup inzulinové senzitivity je také provázen zvýšenou aktivitou 5'-AMP-aktivované protein kinázy (AMPK), jež je významným inhibítozem endogenní cholesterolové syntézy (190). Jejím důležitým aktivátorem je, cestou cAMP a HMGR (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reduktáza), inzulin.

U podskupiny obézních diabetiků ve Fázi I byl vztah denní terapeutické dávky inzulinu a celkového cholesterolu charakterizován lineární regresí (Obr. 9). Nebyla prokázána signifikantní korelace markerů absorpce a endogenní syntézy s denní terapeutickou dávkou

inzulinu (Tab. 8). Nejvýraznější redukce dávky terapeutického inzulinu ve Fázi I-II nebyla provázena signifikantními změnami (ve smyslu poklesu markerů syntézy) v endogenní syntéze cholesterolu, ta naopak v trendu spíše stoupla. Signifikantní pokles v endogenní syntéze byl zastižen ve Fázi I-III. Samotné snížení terapeutické dávky inzulinu v průběhu programu tedy nepovažujeme za majoritní mechanismus snížení endogenní syntézy cholesterolu. Za zásadní pokládáme předpokládaný vzestup inzulinové senzitivity spojený s dlouhodobými dietními a režimovými úpravami.

6.2.1. Metabolismus cholesterolu a omentin-1

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 (191, 192). Všeobecně, u populace neobézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu, bylo zaznamenáno snížení plazmatické hladiny omentinu-1 (193). Diabetici 1. typu jsou tedy s ohledem na primární absolutní inzulinovou deficienci charakterizováni sníženou hladinou omentinu-1. U obézní populace diabetiků 1. typu navíc předpokládáme další zvýšení inzulinové rezistence. Domníváme se, že kombinace absolutní a relativní inzulinové deficience, tzv. “double diabetes”, zahrnující obézní diabetiky 1. typu, může být důvodem detekce velmi nízké vstupní hladiny plazmatického omentinu-1.

Adipokiny nezřídka vykazují sexuální dimorfismus. U omentinu-1 byly v některých klinických hodnoceních zaznamenány intersexuální rozdíly v plazmatických hladinách (194, 195), naše data ale tuto tezi nepotvrzují. Při studiu efektu steroidů na produkci net proteinu omentinu-1 *ex vivo* nebyly nalezeny signifikantní rozdíly (193) kromě známé negativní asociace s 17β -estradiolem (196). V rámci designu protokolu našeho klinického hodnocení nicméně nepřikládáme případnému sexuálnímu dimorfismu význam vzhledem k tomu, že samotná dynamika plazmatických hladin omentinu-1 v průběhu redukce a režimových změn nevykazuje rozdíly mezi mužskou a ženskou populací (195).

V některých studiích byla prezentována signifikantní korelace plazmatických hladin omentinu-1 s BMI, FTM a glykovaným hemoglobinem (146, 192, 195). 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. 11*).

Ve Fázi III byl zaznamenán signifikantní vzestup omentinu-1 (*Obr. 12*) ačkoliv BMI a FTM studijních pacientů zůstaly stabilní v porovnání s Fází II. Nebyla nalezena korelace dynamiky plazmatického omentinu-1 s BMI a FTM. Při porovnání změn vybraných metabolických parametrů I-III Fáze byla nalezena signifikantní negativní korelace plazmatického omentinu-1 s glykovaným hemoglobinem a triacylglyceroly (*Tab. 14*), což podporuje výstupy některých klinických hodnocení (*192*).

Signifikantní vzestup plazmatických hladin omentinu-1 byl zaznamenán ve Fázi III, což může souviset s déletrvajícím mechanismem regulace exprese omentinu-1. Dle našich dat plazmatický omentin-1 nekopíruje simpliciter 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. To je v souladu s výstupy některých klinických studií hodnotících dynamiku plazmatického omentinu-1 v průběhu akutní intervence (např. zátěž glukózou), kdy nebyly signifikantní změny v hladinách tohoto adipokinu zachyceny (*192*). Byl však zachycen signifikantní vzestup omentinu-1 při déletrvajícím režimové intervenci, např. pravidelný aerobní trénink u obézních pacientů (*197*), nebo nízkokalorická dieta (*195*). Některé studie však prezentují akutní plazmatické změny omentinu-1 při metabolických stimulech (prolongovaná infuze inzulínu a glukózy) (*196*).

Plazmatické hladiny omentinu-1 jsou sniženy u inzulínrezistentních stavů (*198, 199*). V našem hodnocení byla v průběhu dlouhodobého sledování (III Fáze) zachycena významně zvýšená hladina omentinu-1 (*Obr. 12*), což může souviset se zlepšením inzulínové senzitivity. Vzhledem k tomu, že hyperinzulinemie se může u zdravých subjektů podílet na signifikantní redukci plazmatického omentinu-1 (*143*), lze spekulovat, zda opačný mechanismus nemůže přispívat ke zvýšení hladiny omentinu-1. Tedy, zda snížení denní terapeutické dávky inzulínu u diabetiků 1. typu není ve vztahu k signifikantnímu vzestupu plazmatického omentinu-1. S ohledem na to, že terapeutická dávka inzulínu byla nejvíce snížena ve Fázi II, zatímco signifikantní změna omentinu-1 byla zaznamenána ve Fázi III, nepovažujeme tento mechanismus ovlivnění hladiny omentinu-1 za majoritní.

V souladu s dostupnými klinickými daty byl vztah omentinu-1 a plazmatického HDL-cholesterolu charakterizován signifikantní pozitivní korelací (*Obr. 13*). Vztah omentinu-1 k

TAG byl vyjádřen negativní asociací (*Tab. 13*) (*200*), stejně jako vztah plazmatických změn obou parametrů ve Fázi I-III (*Tab. 14*). 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. Vzhledem k tomu, že omentin-1 je aktivátorem AMPK (*5'-AMP-activated protein kinase*), která působí jako důležitý inhibitor endogenní cholesterolové syntézy, lze odvodit, že omentin-1 by mohl touto cestou přispívat k regulaci cholesterolové syntézy.

6.3. HYPERINZULINEMICKÝ EUGLYKEMICKÝ CLAMP

6.3.1. Volné mastné kyseliny a inzulinová rezistence

V souladu s dříve uváděnými daty pro obézní nediabetiky (*201*) byla vstupně u obézních diabetiků 1. typu nalezena signifikantně vyšší hladina volných mastných kyselin v porovnání s podskupinou štíhlých (*část 5.1.3*). Zvýšená hladina volných mastných kyselin je v úzkém vztahu k rozvoji inzulinové rezistence jako takové (*202*). V porovnání s Fází I, nebyla ve II a III Fázi redukčního programu, oproti původním předpokladům, zaznamenána signifikantně nižší hladina volných mastných kyselin u intervenované skupiny obézních pacientů ani přes signifikantní pokles hmotnosti (*část 5.2.3, Tab 10*). Je pravděpodobné, že statisticky významný rozdíl v hladinách volných mastných kyselin nebyl zachycen vzhledem k nesignifikantní změně celkového množství tukové tkáně v průběhu redukčního programu (průměrná procentuální změna celkové hmotnosti v I-II a I-III v Fázi 5-6% , z toho změna v hmotnosti tukové tkáně 2-2.5%).

V průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu ve Fázi I došlo k již dříve u obézních nediabetiků popisovanému (*203*) signifikantnímu poklesu hladin volných mastných kyselin (v 60-360 minutě) v obou studijních skupinách. Hladina volných mastných kyselin zůstala stabilní v průběhu 2. stupně clampu s prakticky shodnými výstupními plazmatickými hladinami pro obě sledované podskupiny. Dynamika volných mastných kyselin v průběhu

hyperinzulinemického euglykemického clampu ve Fázi II redukčního programu se v zásadě nelišila od vyšetření ve Fázi I pro oba stupně clampu. Naše data jsou tedy v souladu s výstupy jiných studií, charakterizujících supresi plazmatických hladin volných mastných kyselin hyperinzulinemií při clampovém vyšetření jako kvalitativně podobnou u podskupiny nediabetických obézních i neobézních subjektů (203).

6.3.2. Nepřímá kalorimetrie

Vyšetření obézních a štíhlých diabetiků 1. typu nepřímou kalorimetrií neprokázalo signifikantní rozdíly v hodnotě RQ či REE za bazálních lačných podmínek (Tab.8), což není plně v souladu s hypotézou snížené metabolické flexibility u obézních pacientů. Snížení metabolické flexibility je charakterizováno neadekvátní adaptací na lačnění a zatížení substráty (206). Původním předpokladem bylo snížení schopnosti utilizace tuků v průběhu lačnění, tedy vyšší RQ, u obézních pacientů. Respirační kvocient obou studijních podskupin signifikantně vzrostl ve 0-360 minutě hyperinzulinemického euglykemického clampu (kapitola 5.1.3). Změny respiračního kvocientu pro štíhlé a obézní pacienty se signifikantně nelišily (kapitola 5.1.3., Tab.8), ačkoliv s ohledem na metabolickou flexibilitu jsme opět předpokládali větší změnu RQ u štíhlých. Nejpravděpodobnějším vysvětlením nesignifikantního rozdílu ve změně RQ v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu, a zároveň nesignifikantního rozdílu RQ mezi podskupinou štíhlých a obézních diabetiků 1. typu, je významná míra intraindividuální variability parametru RQ. Hodnota RQ může být proměnlivá např. v souvislosti s hyper/hypoventilací, se samotným technickým průběhem jednotlivých vyšetření či s případnou mírou glykosurie (207, 208).

Ve II Fázi redukčního programu byl u podskupiny obézních zaznamenán signifikantně nižší RQ v čase 0 clampového vyšetření (Tab.14) v porovnání s Fází I. Zároveň byla zachycena signifikantně vyšší změna RQ v průběhu hyperinzulinemického euglykemického clampu u obézních pacientů v II Fázi redukčního programu, opět v porovnání s Fází I (kapitola 5.2.3). Oba nálezy mohou nasvědčovat posunu v metabolické flexibilitě ve smyslu jejího zlepšení ve II Fázi programu. Vzhledem k tomu, že v této fázi zachycujeme vývoj parametrů obézních pacientů /pracujeme tedy s totožnou studijní skupinou/, předpokládáme zde i celkově nižší podíl vlivu faktorů intraindividuální variability.

6.3.3. *Hyperinzulinemický euglykemický clamp*

Inzulinová rezistence u pacientů s diabetes mellitus 1. typu a její hodnocení metodou hyperinzulinemického euglykemického clampu jsou předmětem vzrůstajícího zájmu experimentální diabetologie. Dostupné studijní designy jsou cíleny převážně na komparaci neobézních diabetiků 1. typu s nediabetiky (209). Z dostupných dat je zřejmý signifikantní okles inzulinové senzitivity u neobézních diabetiků 1. typu v porovnání se zdravou dobře komparabilní skupinou (209,210).

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.

Hodnoty celkové spotřeby glukózy v průběhu prvního stupně hyperinzulinemického euglykemického clampu (Tab.9, 15) odpovídají prezentovaným hodnotám ostatních studií zabývajících se inzulinovou senzitivitou diabetiků 1. typu (211).

Při porovnání podskupiny štíhlých a obézních diabetiků 1. typu byla celková spotřeba glukózy signifikantně vyšší v obou stupních clampu u podskupiny štíhlých pacientů (Tab.9), což lze vysvětlit vyšší inzulinovou senzitivitou u neobézních pacientů. Oxidativní spotřeba glukózy byla v prvním stupni clampu signifikantně nižší u obézních diabetiků 1. typu (Tab.9, část 5.1.3), což pravděpodobně souvisí s iniciálně signifikantně vyšší hladinou volných mastných kyselin u této podskupiny (214). Ve druhém stupni clampu, za již srovnatelných hladin volných mastných kyselin, 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 vychytávání glukózy v periferních tkáních, především v kosterním svalstvu; dále je spojována se zvýšením inzulinové senzitivity a je považována za důležitý protektivní prvek při zatížení metabolickým stresem (204, 212, 213).

Z křivky dávkové závislosti účinku inzulinu (Obr.11) na jeho koncentraci v plazmě je patrný převažující posun doprava i nedostatečný efekt vysokých dávek inzulinu u podskupiny obézních diabetiků 1. typu v porovnání se štíhlými diabetiky 1. typu. U podskupiny obézních lze tedy předpokládat nejen poruchu senzitivity ale též postreceptorový defekt, tedy poruchu rezpozitivity (180).

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.15*). Pozorované změny 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 (*215*), a následný nízkokalorický příjem s redukcí sacharidů v dietě (150/den) po 3 týdny. Tento předpoklad lze podpořit signifikantně nižší hodnotou RQ i oxidativní spotřebou glukózy v úvodu hyperinzulinemického euglykemického clampu II. fáze redukčního programu (*Tab.14, 15*).

Z křivky dávkové závislosti účinku inzulínu (*Obr.14.*) na jeho koncentraci v plazmě je patrný diskrétní posun doleva ve II Fázi redukčního programu porovnání s Fází I u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu. Vývoj by mohl svědčit pro trend zlepšení inzulínové senzitivity v průběhu redukčního programu (*180*).

6.3.4. Inzulínová rezistence a cholesterolový metabolismus

V dostupných studiích je dobře dokumentován vztah akcentované endogenní syntézy cholesterolu a jeho snížené absorpce ke zvýšené inzulínové rezistenci u diabetiků 2. typu či obézních nediabetických pacientů (*159, 189*). Dosud nejsou dostupná data charakterizující vztah markerů metabolismu cholesterolu k inzulínové rezistenci (hodnocené metodou hyperinzulinemického euglykemického clampu) u obézních diabetiků 1. typu.

Vztah markerů cholesterolového metabolismu k celkové spotřebě glukózy byl hodnocen vždy v 1. stupni hyperinzulinemického euglykemického clampu /k zachycení rezistence za podmínek nižší hyperinzulinemie/.

V I Fázi redukčního programu 1. stupni hyperinzulinemického euglykemického clampu nebyl nalezen statisticky významný vztah markerů cholesterolové absorpce s celkovou spotřebou glukózy u podskupiny štíhlých ani obézních pacientů, což není v souladu s dosud uváděnými daty pro inzulínovou rezistenci a cholesterolový metabolismus (*218*). Pravděpodobným

vysvětlením odlišných výsledků je předpokládána vysoká variabilita příjmu těchto sterolů dietou.

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*), což podporuje původní předpoklad úzkého vztahu snížené inzulínové senzitivity a zvýšené endogenní syntézy cholesterolu. Vztah markerů endogenní cholesterolové syntézy a neoxidativní spotřeby glukózy (I Fáze programu, 1. stupeň clampu) byl charakterizován negativní signifikantní lineární regresí (*Obr. 16-19*). Námi zjištěná data podporují dříve zmíněnou charakteristiku neoxidativní spotřeby glukózy, jako parametru spjatého s lepší metabolickou flexibilitou a vyšší inzulínovou senzitivitou (204) i ve vztahu k cholesterolovému metabolismu.

V II Fázi redukčního programu nebyla statisticky významná korelace inzulínové senzitivity a markerů cholesterolového metabolismu zachycena. Pravděpodobným vysvětlením je zkreslení výstupních parametrů spotřeby glukózy probíhající adaptací organismu na týdenní minimální perorální příjem pacientů v úvodu II Fáze redukčního programu (215).

6.3.5. Předpokládané limitace práce

Vzhledem k celkově velmi specifické cílové subpopulaci diabetiků (obézní diabetici 1. typu) i náročnosti některých vyšetření (hyperinzulinemický euglykemický clamp) není studijní soubor pacientů obsáhlý a studijní výstupy je vhodné nadále ověřit a rozšířit na početnější soubor pacientů.

Vzhledem k tomu, že po 11 měsících probíhala studie ambulantně, mohla být do určité míry limitována compliance pacientů k dietním a režimovým doporučením, předpokládáme tedy zatížení výsledků interindividuální variabilitou compliance. Na druhou stranu v sobě takto získaná data nesou důležitou výpovědní hodnotu efektivity reálné terapie aplikované a dosažitelné v podmínkách běžné klinické praxe.

7. 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.

Klinická část

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 soustavná konkomitantní edukace pacienta.

Dle názoru autorky je třeba u obézních pacientů s diabetes mellitus 1. typu (stejně jako u obézních všeobecně) nadále preferovat redukci hmotnosti v ambulantních podmínkách. Individualizace reedukačních konzultací s důrazem na dlouhodobou aplikaci v běžném životě pacientů je klíčovým bodem každého redukčního úsilí, který nemůže redukce za hospitalizace nahradit.

Výzkumná část

Dosud nejsou dostupná data charakterizující vztah markerů metabolismu cholesterolu k inzulínové rezistenci (hodnocené metodou hyperinzulinemického euglykemického clampu) u obézních diabetiků 1. typu.

Vztah markerů absorpce cholesterolu k parametrům inzulínové 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 charakterizován vztahem negativní lineární regrese.

Ve Fázi I-III. byla charakterizována dynamika viscerálního adipokinu omentinu-1. V průběhu III Fáze došlo k signifikantnímu vzestupu plazmatického hladiny omentinu-1, což může souviset se zlepšením inzulínové senzitivity na konci redukčního programu. Nově byl charakterizován vztah omentinu-1 k cholesterolovému metabolismu. Byla nalezena signifikantní negativní korelace plazmatického omentinu-1 a markerů endogenní syntézy cholesterolu (*lathosterool*, *lathosterol/cholesterol*). Vztah byl charakterizován lineární regresí.

Osobní podíl doktoranda

Autorka práce se v klinické části (I-II Fáze) podílela na provádění clampových vyšetření, nepřímé kalorimetrie, měření přístrojem BCM, antropometrickém měření, následné dispenzarizaci a organizaci návštěv pacientů. III Fáze redukčního programu byla – designem, organizací i praktickým klinickým provedením plně v kompetenci autorky.

Příspěvek autorky k laboratorní práci spočíval v preanalytickém zpracování krevních vzorků u lůžka pacienta v rámci clampových vyšetření. Dále se autorka zabývala statistickým zpracováním , interpretací a prezentací výsledků na celostátních i mezinárodních kongresech a seminářích.

8. Literatura

1. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet* 2011, 378 (9785): 31–40.
2. Courtney MM, Connolly CC, Cherrington AD. Autoregulation of hepatic glucose production. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 240-248.
3. Iynedijian PB, Mammalian glucokinase and its gene. *Biochem J* 1993; 293: 1-13.
4. Tappy L, Jéquier E, Schneiter P. Autoregulation of Glucose Production. *Physiology* 2000; 15:198-202.
5. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003;300:1140–1142.
6. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, et al. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2004; 350: 664–671.
7. Morino K, Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Frattini J, Shatzkes N, Neschen S, White MF, Bilz S, Sono S, Pypaert M, Shulman GI. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *J Clin Invest.* 2005;115(12):3587–3593.
8. Stump CS, Short KR, Bigelow ML, Schimke JM, Nair KS. Effect of insulin on human skeletal muscle mitochondrial ATP production, protein synthesis, and mRNA transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(13):7996–8001.
9. Pagel-Langenickel I, Bao J, Pang L, Sack MN. The role of mitochondria in the pathophysiology of skeletal muscle insulin resistance. *Endocr Rev.* 2010;31(1):25–51.
10. Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest.* 1996;97(12):2859–2865.
11. Boden G, Jadali F, White J, Liang Y, Mozzoli M, Chen X, Coleman E, Smith C. Effects of fat on insulin-stimulated carbohydrate metabolism in normal men. *J Clin Invest.* 1991;88 (3): 960–966.
12. Brunmair B, Staniek K, Gras F, Scharf N, Althaym A, Clara R, Roden M, Gnaiger E, Nohl H, Waldhäusl W, Fürnsinn C. Thiazolidinediones, like metformin, inhibit

- respiratory complex I: a common mechanism contributing to their antidiabetic actions? *Diabetes*. 2004;53(4):1052–1059.
13. Paolisso G, Tataranni PA, Foley JE, Bogardus C, Howard BV, Ravussin E. A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. *Diabetologia*. 1995;38(10):1213–1217.
 14. Perseghin G, Ghosh S, Gerow K, Shulman GI. Metabolic defects in lean nondiabetic offspring of NIDDM parents: a cross-sectional study. *Diabetes* 1997; 46: 1001–1009.
 15. Dresner A, Laurent D, Marcucci M, et al. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1–associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest* 1999;103:253–259.
 16. Okada T, Kawano Y, Sakakibara T, et al. Essential role of phosphatidylinositol 3-kinase in insulin-induced glucose transport and antilipolysis in rat adipocytes. Studies with a selective inhibitor wortmannin. *J Biol Chem* 1994;269:3568–3573.
 17. Jianping Ye. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med*. 2013;7(1): 14-24.
 18. Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab*. 2005;1(1):15–25.
 19. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes*. 2003;52(1):1–8.
 20. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism*. 2000;49(2 Suppl 1):27–29.
 21. Rui L, Aguirre V, Kim JK, Shulman GI, Lee A, Corbould A, Dunaif A, White MF. Insulin/IGF-1 and TNF- α stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest* 2001;107(2):181–189.
 22. Ye J. Regulation of PPAR γ function by TNF- α *Biochem Biophys Res Commun* 2008;374(3):405–408.
 23. Samuel VT, Liu ZX, Qu X, et al. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem*. 2004;279:32345–32353.
 24. Kraegen, E. W., Clark, P. W., Jenkins, A. B., Daley, E. A., Chisholm, D. J., and Storlien, L. H. Development of Muscle Insulin Resistance After Liver Insulin Resistance in High-Fat–Fed Rats *Diabetes* 1991; 40, 1397–1403.

25. Varman TS, Zhen-Xianqin Qu, Benjamin DE, Stefan B, Douglas B, Anthony JR, Gerald IS. Mechanism of Hepatic Insulin Resistance in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Biological Chemistry* 2004; 279: 32345-32353.
26. Farris W, Mansourian S, Leissring MA, Eckman EA, Bertram L, Eckman CB, Tanzi RE, Selkoe DJ. Partial loss-of-function mutations in insulin-degrading enzyme that induce diabetes also impair degradation of amyloid β -protein. *Am J Pathol.* 2004;164 (4):1425–1434.
27. Ye J. Role of insulin in the pathogenesis of free fatty acid-induced insulin resistance in skeletal muscle. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2007;7(1):65–74.
28. 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.
29. Doberne L, Greenfield MS, Schulz B, Reaven GM: Enhanced glucose utilization during prolonged glucose clamp studies. *Diabetes* 1981, 30:829-835.
30. Sowell M, Mukhopadhyay N, Cavazzoni P, Carlson Ch, Mudaliar S, Chinnapongse S, Ray A, Davis T, Breier A, Henry RR, Dananberg J. Evaluation of insulin Sensitivity in Healthy Volunteers Treated with Olanzapine, Risperidone, or Placebo. A Prospective, Randomized Study Using the Two-Step Hyperinsulinemic, Euglycemic Clamp. *Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2003; 88(12): 5875-5880.
31. Sowell MO, Mukhopadhyay N, Cavazzoni P, Shankar S, Steinberg HO, Breier A, Beasley Jr CM, Dananberg J 2002 Hyperglycemic clamp assessment of insulin secretory responses in normal subjects treated with olanzapine, risperidone, or placebo. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2918–2923.
32. Pollare T, Lithell H, Selinus I, Berne C 1989 Sensitivity to insulin during treatment with atenolol and metoprolol: a randomised, double blind study of effects on carbohydrate and lipoprotein metabolism in hypertensive patients. *Br Med J* 298:1152–1157.
33. Pagano G, Cavallo-Perin P, Cassader M, Bruno A, Ozzello A, Masciola P, Dall'omo AM, Imbimbo B. An in vivo and in vitro study of the mechanism of prednisone-induced insulin resistance in healthy subjects. *J Clin Invest.* 1983, 72:1814–1820.
34. Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD. Insulin mediated skeletal muscle vasodilatation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 1172-1179.
35. Yki-Jarvinen H., Utriainen Y. Insulin-induced vasodilatation: physiology or

- pharmacology? *Diabetologia*. 1998; 41:369–379.
36. Natali A., Quinones Galvan A., Pecon N., Sanna G., Toschi E., Ferrannini E. Vasodilation with sodium nitroprusside does not improve insulin action in essential hypertension. *Hypertension* 1998; 31:632–636.
 37. Balon T. W., Nadler J. L. Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 1997; 82:359–363.
 38. Young M. E., Radda G. K., Leighton B. Nitric oxide stimulates glucose transport in rat skeletal muscle in vitro. *Biochem. J.* 1997; 322:223–228.
 39. Zierler K. Whole body glucose metabolism. *Am J of Physiol- Endocrinol and Metabolism*. 1999; 276:409-426.
 40. Attie AD, Kastelein JP, Hayden MR. Pivotal role of ABCA1 in reverse cholesterol transport influencing HDL levels and susceptibility to atherosclerosis. *J Lip Res* 2001; 42: 1717-1726.
 41. Altmann S.W., Davis, H.R., Zhu I. et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science* 2004; 303: 1201-1204.
 42. Bjorkhem, I., Miettinen, T.A., Reihner, E. et al: Correlation between serum levels of some cholesterol precursors and activity of HMG- CoA reductase in human liver. *J.Lipid.Res.* 28:1137-1143, 1987.
 43. Di Buono M, Jones PHJ, Beaumier L, et al. Comparison of deuterium incorporation and mass isotopomer distribution analysis for measurement of human cholesterol biosynthesis *J Lip Res* 2000; 41: 1516-1523.
 44. Taylor CB, Mikkelsen B, Anderson JA, et al. Human serum cholesterol synthesis measured with the deuterium label. *Arch.Path.* 1966; 81:213-31.
 45. Beylot M. Use of stable isotopes to evaluate the functional effects of nutrients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006; 9(6):734-739.
 46. Hyšpler R, Crhova S, Gasparič J, et al. Determination of isoprene in human expired breath using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2000; 28:183-90.
 47. Parker TS, McNamara DJ, Brown CD et al. Plasma mevalonate as a measure of cholesterol synthesis in man. *J. Clin. Invest.* 1984;74:795-804.
 48. Bjorkhem I, Miettinen T, Reihner E, et al. Correlation between serum levels of some cholesterol precursors and activity of HMGCoA reductase in human liver. *J. Lipid Res.* 1987; 28:1137-43.

49. Kuksis A. Plasma non-cholesterol sterols. *Journal of Chromatography* 2001; 935:203-236.
50. Miettinen TA. Diurnal variation of cholesterol precursors squalene and methyl sterols in human plasma lipoproteins. *J. Lipid Res.*1982; 23:466-473.
51. Hashim YZ, Eng M, Gill CI, et al. Components of olive oil and chemoprevention of colorectal cancer. *Nutr Rev* 2005;63(11):374-386.
52. 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.
53. Heinemann T, Axtmann G, von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest* 1993; 40: 302-308.
54. Silbernagel G, Fauler G, Renner W, et al. The relationships of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with the severity of coronary artery disease. *J Lipid Res* 2009;50(2):334 – 341.
55. Choudhary, SP; Tran, LS. "Phytosterols: Perspectives in human nutrition and clinical therapy". *Current medicinal chemistry*, 2011; 18 (29): 4557–67.
56. Koivusalo AI, Pakarinen MP, Sittiwet C, et al. Cholesterol, non-cholesterol sterols and bile acids in paediatric gallstones. *Dig Liver Dis* 2010;42(1):61 – 66.
57. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M, Jenkins DJ, et al. Effects of a diet high in plant sterols, vegetable proteins, and viscous fibers (dietary portfolio) on circulating sterol levels and red cell fragility in hypercholesterolemic subjects. *Lipids* 2005;40(2):169 – 174.
58. Singer P, Shapiro H, Theilla M, et al. Anti-inflammatory properties of omega-3 fatty acids in critical illness: novel mechanisms and an integrative perspective. *Int Care Med* 2008; 34:1580-1592.
59. Schaffer JE. Fatty acid transport: the roads taken. *Am.J.Physiol.* 2002;282:239-246.
60. Minokoshi Y, Alquier T, Furukawa N, et al. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature* 2004; 428:569-574.
61. The Nobel Foundation 1923. Frederick G. Banting - Biography. Původně publikováno v "Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1922–1941," Amsterdam: Elsevier publishing company, 1965. Online: www.nobelprize.org. 2011-12-31.
62. Leonard Thompson biography. Online: www.dlife.com .
63. Ladislav Syllaba. Online: cs.wikipedia.org.

64. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H (2004). "Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030". *Diabetes Care* **27** (5): 1047–53.
65. Online: www.uzis.cz .
66. Weissberg-Benchell J, Antisdel-Lomaglio J, Seshardi R. Insulin Pump therapy. *Diabetes care* 2003; 26(4):1079-1087.
67. Mecklenburg RS, Benson EA, Benson JW, Fredlund P, Guinn T, Metz R, Nielsen R, Sanner C: Acute complications associated with insulin infusion pump therapy: report of experience with 161 patients. *JAMA* 252:3265–3269, 1984.
68. Dusseldorf Study Group (Ziegler D, Dannehl K, Koschinsky T, Toeller M, Gries F): Comparison of continuous subcutaneous insulin infusion and intensified conventional therapy in the treatment of type I diabetes: a two-year randomized study. *Diabetes Nutr Metab* 3:203–213, 1990.
69. Boland EA, Grey M, Oesterle A, Fredrickson L, Tamborlane W: Continuous subcutaneous insulin infusion: a new way to lower risk of severe hypoglycemia, improve metabolic control, and enhance coping in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 22:1779–1784, 1999.
70. ADAMEC, M., SAUDEK, F. Transplantace slinivky břišní a diabetes mellitus. Praha : Karolinum, 2005.
71. SAUDEK, F. Léčba diabetu transplantací. Praha : Maxdorf, 2003.
72. SHAPIRO, AM. State of the art of clinical islet transplantation and novel protocols of immunosuppression. *Curr Diab Rep*, 2011, 11, p. 345–354.
73. WHO aktualizovaná data, Zdroj: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
74. Duberr B, Clement K. Leptin and leptin receptor- related monogenic obesity. *Biochimie*. 2012 Oct; 94(10): 2111-5.
75. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive.leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.*, 1996; 334 (5): 292–5.
76. Paracchini V, Pedotti P, Taioli E (2005). "Genetics of leptin and obesity: a HuGE review". *Am. J. Epidemiol.* 162 (2): 101–14.
77. Godota T, Manning B S, Goldstone A P, imrie H, Evans A L, Strosberg A D, McKeigue P M, Scott J, Aitman T J. Leptin Receptor Gene Variation and Obesity: Lack of Association in White British Male Population. *Hum. Mol. Genet.* 1997; 6(6):

- 869-876.
78. Prakash J, Srivasta N, Awasthi S, Aqarwal C, Natu S, Rajpal N, Mittal B. Association of PPAR- γ gene polymorphisms with obesity and obesity-associated phenotypes in North Indian population. *Am j Hum Biol.* 2012; 24(4): 454-9.
 79. Hess S, Linde Y, Ovadia O, Safrai E, Shalev DE, Swed A *et al.* Backbone cyclic peptidomimetic melanocortin-4 receptor agonist as a novel orally administrated drug lead for treating obesity. *J Med Chem* 2008; 51: 1026–1034.
 80. Rene P, Le Gouill C, Pogozheva ID, Lee G, Mosberg HI, Farooqi IS *et al.* Pharmacological chaperones restore function to MC4R mutants responsible for severe early-onset obesity. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 335: 520–532.
 81. Farooqi IS. Monogenic human obesity. *Front Horm Res* 2008; 36: 1–11.
 82. Getting SJ. Targeting melanocortin receptors as potential novel therapeutics. *Pharmacol Ther* 2006; 111: 1–15.
 83. Fani L, Bak S, Delhanty P, Rossum E F C, Akker E L T. The melanocortin-4 receptor as target for obesity treatment: a systematic review of emerging pharmacological therapeutic options. *International Journal of Obesity.* 2014; 38: 163-169.
 84. Kawaguchi H, Masuo K, Katsuya T, Sugimoto K, Rakugi H, Agihara T, Tuck M L. β 2- and β 3 – Adrenoceptor Polymorphisms Relate to Subsequent Weight Gain and Blood pressure Elevation in Obese Normotensive Individuals. *Hypertension Research.* 2006;39:951-959.
 85. Sharma A M, Pisco T, Hardt S, Kunz I, Friedrich C L. Hypothesis: β - Adrenergic Receptor Blockers and Weight Gain. *Hypertension.* 2001; 37: 250-254.
 86. Tsai S J. Brain derived neurotrophic factor: a bridge between major depression and Alzheimer's disease? *Med Hypotheses.* 2003; 61:110-113.
 87. Krabbe K S, Nielsen A R, Krogh- Mnadsen R, Plomgaard P, Rasmussen P, Erikstrup C, Fischer C P, Lindegaard B, Petersen A M, Taudorf S, Secher N H, Pilegaard H, Bruunsgaard H, Pedersen B K. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2007;50:431-438.
 88. Ma X Y, Qiu Q W, Smith C E, Parnell L D, Jiang Z Y, Ordovas J M, Tucker K L, Lai Ch Q. Association between BDNF rs6265 and Obesity in the Boston Puerto Rican Health Study. *Journal of Obesity.* 2012; ID 102942, 8 stran.
 89. Hotta K, Nakamura M, Nakamura T, Matsuo T, Nakata Y *et al.* Association between obesity and polymorphisms in SEC16B, TMEM18, GNPDA2, BDNF, FAIM2 a

- MC4R in Japanese population. *Journal of Human Genetics* (2009); 54: 727-731.
90. Almen M S, Jacobsson J A, Shaik J H, Olszewski P K, Cedernaes J, Alsio J, Sreedharan S, Levine A S, Fredriksson R, Marcus C, Schioth H B. The obesity gene, TMEM18 is of anconet origin, found in majority of neuronal cells in all major brain regions and associated with obesity in severely obese children. *BMC Med Genet.* 2010; 11:58.
 91. Bernhard F, Landgraf K, Kloting N, Berthold A, Buttner P, Friebe D, Kiess W, Kovacs P, Bluher M, Korner A. Functional relevance of genes implicated by obesity genome-wide association study signals for human adipocyte biology. *Diabetologia.* 2013; 56(2):311-322.
 92. Enerbäck S (2009). The origins of brown adipose tissue. *N Engl J Med* **360** (19): 2021–2023.
 93. Kajimura S, Seale P, Kubota K, *et al.*; Seale, Patrick; Kubota, Kazuishi; Lunsford, Elaine; Frangioni, John V.; Gygi, Steven P.; Spiegelman, Bruce M. (August 2009). Initiation of myoblast/brown fat switch through a PRDM16-C/EBP- beta transcriptional complex. *Nature* 460 (7259): 1154–8.
 94. Nicholls DG, Bernson VS, Heaton GM. The identification of the component in the inner membrane of brown adipose tissue mitochondria responsible for regulating energy dissipation. *Experientia Suppl.*, 1978; 32: 89–93.
 95. Vitali, A. *et al.* The adipose organ of obesity-prone C57BL/6J mice is composed of mixed white and brown adipocytes. *J. Lipid Res.* 53, 619–629 (2012).
 96. Erickson HP (2013). Irisin and FNDC5 in retrospect: An exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte*, 2013; 2 (4): 289–293.
 97. Wu, J., Cohen, P. & Spiegelman, B.M. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes Dev.* 27, 234–250 (2013).
 98. Petrovic, N. *et al.* Chronic peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J. Biol. Chem.* 285, 7153–7164 (2010).
 99. Wu, J. *et al.* Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* 150, 366–376 (2012).
 100. Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nature Medicine*, 2013; 19: 1252-1263.

101. 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.
102. Obstfeld AE, Soguru 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.
103. 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.
104. Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab.*, 2012;15:635-645.
105. Jornayvaz FR, Shulman GI. Diacylglycerol activation of protein kinase C ϵ and hepatic insulin resistance. *Cell Metab.* 2012; 15:574-584.
106. 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.
107. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell.* 2012;148: 852-871.
108. Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science*, 2011;332: 1519-1523.
109. Johnson AMF, Olefsky JM. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell*, 2013; 152(4):673-684.
110. Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanism underlying the resistance to diet- induced obesity in germ- free mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2007;104:979-984.
111. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 2006;444:1027-1031.
112. Burcelin R, Garidou L, Pomié C. Immuno-microbiota cross and talk: the new paradigm of metabolic diseases. *Semin. Immunol.*, 2012;24:67-74.
113. Amar J, Chabo C, Waget A, Klopp P, Vachoux C, Bermúdez-Humarán LG, Smirnova N, Mergé M, Sulpice T, Lahtinen S. Intestinal mucosal adherence and translocation of

- commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes:molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol. Med.*,2011;3:559-572.
114. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. "Leptin: a review of its peripheral actions and interactions". *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2002, 26 (11): 1407–1433.
 115. Burquera B, Couce ME, Long J, Lamsan J, Laakso K, Jensen MD, Parisi JE, Lloyd RV. The long form of the leptin receptor (OB-Rb) is widely expressed in the human brain. *Neuroendocrinology.* 2000Mar;71(3):187-95.
 116. Kievit P, Howard JK, Badman MK, BalthasarN, Coppari R, Mori H, et al. Enhanced leptin sečnsitivity and improved glucose homaostasis in mice lacking suppressor of cytokine signaling-3 in POMC-expressing cells. *Cell Metab.* (2006);4:123-132.
 117. Aleffi S, Petrai I, Bertolani C, Parola M, Colombatto S, Novo E, et al. Upregulation of proinflammatory and proangiogenic cytokines by leptin in human hepatic stellate cells. *Hepatology.* 2005;45:1339-1348.
 118. Faggioni R, Jones-Carson J, Reed DA, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C et al. Leptin-deficirent (ob/ob) mice are protected from T cell-mediated hepatotoxicity:role of tumor necorsis factor alpha and IL-18. *Púroc. Natl.Acad.Sci.U.S.A..* 2000;97:2367-2372.
 119. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA (2002). "Leptin: a review of its peripheral actions and interactions". *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002; 26 (11): 1407–1433.
 120. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA (2002). "Leptin: a review of its peripheral actions and interactions". *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002; 26 (11): 1407–1433.
 121. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Zimmers TA, Leonidas GK, Furlanetto RW, Mooney RA. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3) potential mediator of interleukin-3-dependent insulin resistanceš in hepatocytes.
 122. Brandt C, Pedersen BK. The Role of Exercise-InducedMyokines in Muscle Homeostasis and the Defense against Chronic Diseases. *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* 2010; ID 520258.
 123. Matthews VB, Allen TL, Risis Sm Chan MH, Henstridge DC, Watson N, Zaffino LA, Babb JR, Boon J, Meikle PJ, Jowett JB, Watt MJ, Jansson JO, Bruce CR, Febbraio MA. Interleukin-6-deficient mice develop hepatic inflammation and systemic insulin resistance.*Diabetologia.*2010;53(11):2431-41.

124. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P "Tumor necrosis factor signaling". *Cell Death Differ.* 2003; 10 (1): 45–65.
125. Zhang HH, Kalbleib M, Ahmad F, Manganiello VC, Greenberg AS. Tumor necrosis factor- α stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP. *Diabetes* 2002;51(10):2929-35.
126. Stanley TL, Zanni MV, Johnsen S, Rasheed S, Makimura H, Lee H, Khor VK, Ahima RS, Grinspoon SK. TNF. α antagonism with etanercept decreases glucose and increases the proportion of high molecular weight adiponectin in obese subjects with features of the metabolic syndrome. *J Clin EndocrinolMetab.* 2011;96(1):E146-50.
127. Ost A, Danielsson A, Liden M, Eriksson U, Fredrik HN, Stralfors P. Retinol-binding protein-4 attenuates insulin-induced phosphorylation of IRS1 and ERK1/2 in primary human adipocytes. *The FASEB Journal.* 2007;21(13):3696-3704.
128. Yang Q, graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, Kotani K, Quadro L, Kahn BB. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature.*2005; 436:356-362.
129. Farjo KM, Farjo RA, Halsey S, Moiseyev G, Ma GX. Retinol-binding protein 4 induces inflammation in human endothelial cells by a NADPH oxidase- and nuclear factor kappa b-dependent and retinol.independent mechanism. *Mol. Cell. Biol.* 2012;32:5103-5115.
130. Steppan CM, Wang J, Whiteman EL, Birnmaum MJ, Lazar MA. Activation of SOCS-3 by resistin. *Mol Cel Biol.* 2005;25(4):1569-75.
131. Benomar Y, Gertler A, de Lacy p, Crepin D, Hamouda HO, Riffault L et al. Central resistin overexposure induces insulin resistance through toll-like receptor 4. *Diabetes.* 2013;62:102-114.
132. Kwon H, Pessin J. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol.* 2013;4:71.
133. Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, Zimmet P, Jowett J, Collier G, Walder K, Segal D. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology.* 2007; 148 (10): 4687–94.
134. Goralski KB, Mc Carthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *J. J. Biol. Chem.* 2007;282:28175-28188.

135. Ernst MC, Issa M, Goralski KB, Sinal CJ. Chemerin exacerbates glucose intolerance in mouse models of obesity and diabetes. *Endocrinology*, 2010;151:1998-2007.
136. Takahashi M, Takahashi Y, Takahashi K, Zolotaryov FN, Hong KS, Kitazawa R, Iida K, Okimura Y, Kaji H, Kitazawa S, Kasuga M, Chihara K . Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes". 2008,*FEBS Lett.* 582 (5): 573–8.
137. Cash JL, Hart R, Russ A, Dixon J, Colledge WH, Doran J, et. al. Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through Chem R23. *J. exp. Med.* 2008;205:767-775.
138. Seung Hwan Han, Quon J. M., Jeong-a Kim et al. Adiponectin and cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 2007, 5: 531-8.
139. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froquel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilisation and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002;8(11):1288-1295.
140. 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.
141. Lago F, Gómez R, Gómez-Reino JJ, Dieguez C, Gualillo O. Adipokines as novel modulators of lipid metabolism. *Trends in biochemical sciences*, 2009; 34 (10): 500-510.
142. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, Shuldiner AR, Fried SK, McLenithan JC, Gong DW. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006;290(6):E1253-61.
143. 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.
144. De Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, Ndubuizu K, Patil S, Schwartz A, Kligman M, Fried SK, Gong DW, Shuldiner AR, Pollin TI, McLenithan JC. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes* 2007;56:1655-1661.

145. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I: Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005, 307:426-430.
146. Pagano C, Pilon C, Olivieri M, Mason P, Fabris R, Serra R, Milan G, Rossato M, Federspil G, Vettor R: Reduced plasma visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obesity is not related to insulin resistance in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, 91:3165-3170.
147. Grunfeld C: Leptin and the immunosuppression of malnutrition. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:3038-3039.
148. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, Tilg H: Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol* 2007, 178:1748-1758.
149. Aldhahi W, Hamdy O. Adipokines, inflammation and the endothelium in diabetes. *Curr. Diab. Rep.*, 2003;3:293-298.
150. Matarese G, Sanna V, Lechler RI, Sarbetnick N, Fontana S, Zappacosta S, La Cava A. Leptin accelerates autoimmune diabetes in female NOD mice. *Diabetes*, 2002;51:1356-1361.
151. Rolandsson O, Hagg E, Hampe C, Sullivan EP, Nilsson M, Jansson G, Hallmans G, Lernmark A. Glutamate decarboxylase (GAD65) and tyrosine phosphatase-like protein (IA-2) autoantibodies index in regional population is related to glucose intolerance and body mass index. *Diabetologia*,1999;42:555-559.
152. Verbeeten KC, Elks CE, Daneman D, Ong KK. Association between childhood obesity and subsequent type 1 diabetes: a systematic review and metaanalysis. *Diabetic Medicine*,2011;28(1):10-8.
153. OECD. Health at a Glance 2009:OECD Indicators. Paris:Organisation for Economic cooperation and development Press,2009:38-51.
154. Purnell JQ, Hokanson JE, Marcovina SM, Steffes MW, Cleary PA, Brunzell JD. Effect of excessive weight-gain with intensive therapy of type 1 diabetes on lipid levels and blood pressure: results from the DCCT. *Diabetes control and complications trial. JAMA*,1998;280:140-6.
155. Nandea KJ, Regensteiner JC, Bauer TA, Brown MS, Dorosz JL, Hull A, Zeitler P,

- Draznin B, Reusch JEB. Insulin resistance in adolescents with type 1 diabetes and its relationship to cardiovascular function. *Vlin Endocrinol Metab*, 2010;95(2):513-521.
156. Donga E, van Dijk M, Hoogma RP, Corssmit EP, Romijn JA. Insulin resistance in multiple tissues in patients with type 1 diabetes mellitus on long-term continuous subcutaneous insulin infusion therapy. *Diabetes metab Res Rev.*, 2013;29(1):33-8.
157. 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.
158. 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.
159. Šmahelová A, Zadák Z, Hyšpler R, Haas T: An importance of vegetable sterols in diabetics (in Czech). *Vnitřní lékařství*.2004;50: 147-152.
160. Stewart WK, Fleming LW, Robertson PC. Massive obesity treated by intermittent fasting. A metabolic and clinical study. *Am J Med*. 1966; 40: 967–86.
161. Ball MF, Canary JJ, Kyle LH. Tissue changes during intermittent starvation and caloric restriction as treatment for severe obesity. *Archives of internal medicine*. 1970; 125: 62–8.
162. Klempel MC, Kroeger CM, Bhutani S et al. Intermittent fasting combined with calorie restriction is effective for weight loss and cardio-protection in obese women. *Nutrition J*. 2012; 11: 98.
163. M.G. Carlson, W.L. Snead, P.J. Campbell. Fuel and energy metabolism in fasting humans. *Am J Clin Nutr*, 60 (1994), pp. 29–36.
164. 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.
165. 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.
166. 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.
167. L.K. Heilbronn, A.E. Civitarese, I. Bogacka, S.R. Smith, M. Hulver, E. Ravussin. Glucose tolerance and skeletal muscle gene expression in response to alternate day

- fasting. *Obes Res*, 13 (2005), pp. 574–581.
168. 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.
169. 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.
170. 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.
171. 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.
172. Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen LK, Mustonen J, Sen CK, Lakka TA, Uusitupa MI. Aerobic exercise and the lipid profile in type 1 diabetic men: a randomized controlled trial. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:1541-8.
173. Tielemans SMAJ, Soedamah -Muthu SS, De Neve M, Toeller M, Chaturvedi N, Fuller JH, Stamatakis E. Association of physical activity with all-cause mortality and incident and prevalent cardiovascular disease among patients with type 1 diabetes: the EURODIAB prospective complications study. *Diabetologia* 2013;56:82-91.
174. Tsalikian E, Mauras N, Beck RW, Tamborlane WV, Janz KF, Chase HP, Wysocki T, Weinzimer SA, Buckingham BA, Kollman C, Xing D, Ruedy KJ. Impact of exercise on overnight glycemic control in children with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr* 2005;147:528-34.
175. Brazeau AS, Rabasa-Lhoret R, Strychar I, Mircescu H. Barriers to physical activity among patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008;31:2108-9.
176. Yardley YE, Kenny GP, Perkins BA, Riddell MC, Malcolm J, Boulay P, Khandwala F, Sigal RJ. Effects of performing resistance exercise before versus after aerobic exercise on glycaemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2012;35:669-75.
177. Ek A, Hedman J, Marcus C, Nowicka P. Early psychopathology of obesity. A study with preschoolers and their parents. *Appetite*. 2014;76(1):197-198.
178. Fuertes-Zamorano N, Sánchez- Pernaute A, Torres Garcia AT, Rubio Herrera MA. Bariatric surgery in type 1 diabetes mellitus; long-term experience in two cases. *Nutr*

- Hosp.2013;28(4):1333-1336.
179. Ferrannini E, Mari A. How to measure insulin sensitivity. *J Hypertens.* 1998; 16 (7):895-906.
 180. Pelikánová T. Glykemický clamp- praktické provedení a využití. *DMEV.* 2001;4(3):172-182.
 181. Caspar-Bauguil S, Galinier A, Allenbach S, Pujol MC, Salvayre R, Cartier A, Lemieux I, Richard D, Biron S, Marceau P, Casteilla L, Pénicaud L, Mauriege. Pro-inflammatory Phospholipid Arachidonic Acid/Eicosapentaenoic Acid Ratio of Dysmetabolic Severely Obese Women. *Obesity Surgery*, 2012; 22 (6): 935-944.
 182. Wohl P, Pelikánová T, Skibová J. Cirkadiánní 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.
 183. Gjessing PF , Fuskevåg OM , Hagve M, Revhaug A , Irtun Ø. Hyperinsulinemic euglycemic step clamping with tracer glucose infusion and labeled glucose infusate for assessment of acute insulin resistance in pigs. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism.* 2010; 298 (6): E1305-E1312.
 184. Tappy L, Owen OE, Boden G. Effect of hyperinsulinemia on urea pool size and substrate oxidation rates. *Diabetes.* 1988; 37(9):1212-6.
 185. Rizza RA, Lawrence JM, Gerich JE. Dose- response characteristic for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am J Physiol.*1981; 240 (6):E630-9.
 186. Valera Mora ME, Scarfone A, Calvni M, Greco AV, Mingrone GG: Insulin clearance in obesity. *J Am Coll Nutr.* 2003; 22: 487-493.
 187. Paramsothy P, Knopp RH, Kahn SE, Retzlaff BM, Fish B, Ma L, Ostlund RE Jr. Plasma sterol evidence for decreased absorption and increased synthesis of cholesterol in insulin resistance and obesity. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(5):1182-8.
 188. 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.
 189. Brindisi MC, Guiu B, Duvillard L, Athias A, Rollot F, Bouillet B, Beacco M, Hillon P, Cercueil JP, Verges B, Petit JM. Liver fat content is associated with an increase in

- cholesterol synthesis independent of statin therapy use in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2012;224(2):465-8.
190. Bijland S1, Mancini SJ, Salt IP. Role of AMP-activated protein kinase in adipose tissue metabolism and inflammation. *Clin Sci*. 2013,124 (8):491-507.
191. Auger 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, Ricart C. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Medical Genetics* 2011; 12:60.
192. 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.
193. Tan BK, Pua S, Syed F, Lewandowski KC, O'Hare JP, Randeve HS. Decreased plasma omentin-1 levels in diabetes mellitus Type 1. *Diabet Med*. 2008; 25(10):1254-5.
194. Yan P, Liu D, Long M, Ren Y, Pang J, Li R (2011). Changes of serum omentin levels and relationship between omentin and adiponectin concentrations in type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011; 119 (4): 257-263.
195. Moreno-Navarrete J M, Catalán V, Ortega F, Gómez-Ambrosi J, Ricart W, Frühbeck G, Fernández-Real J M. Circulating omentin concentration increases after weight loss. *Nutrition & Metabolism*. 2010; 7:27.
196. Tan B K, Adya R, Farhatullah S, Lewandowski K C, Hare P O, Lehnert H, Randeve HS. Omentin-1, a novel adipokine, is decreased in overweight insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome. Ex vivo and in vivo regulation of omentin-1 by insulin and glucose. *Diabetes* 2008; 57: 801-808.
197. Saremi A, Asgari M, Ghorbani A. Effects of aerobic training on serum omentin-1 and cardiometabolic risk factors in overweight and obese men. *Journal of sports and sciences* 2010; 28(9): 993-998.
198. Barth S, Klein P, Horbach T, Dotsch J, Rauh M, Rascher W, Knerr J. Expression of Neuropeptide Y, Omentin and Visfatin in Visceral and Subcutaneous Adipose Tissues in Humans: Relation to Endocrine and Clinical Parameters. *Obesity Facts* 2010; 3:245-251.
199. 27. Moreno-Navarrete Jmm, Ortega F, Castro A, Sabater M, Ricart W, Fernández-Real JM. Circulating Omentin as a Novel Biomarker of Endothelial Dysfunction.

- Obesity (Silver Spring) 2011; 19(8):1552-9.
200. 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.
 201. Bjorntorp P, Bergman H, Varnauskas E. Plasma free fatty acid turnover in obesity. *Acta Med Scand.* 1969;185:351–356.
 202. Boden G, Chen X, Ruiz J, et al. Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest.* 1994;93:2438–2446.
 203. Zancanaro C, Cigolini M, Bonora E, Moghetti P, Cacciatori V, Querena M, Muggeo M. Plasma free fatty acid concentration during hyperglycemic glucose clamp with and without somatostatin infusion in obese subjects with normal glucose tolerance. *Int J Obes.* 1990;14(7):551-7.
 204. 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 .
 205. Wang G. Raison d'être of insulin resistance: the adjustable threshold hypothesis. *J R Soc Interface.* 2014; 11(101): 20140892.
 206. Kelley E D, Mandarino L J. Fuel selection in Human skeletal muscle in insulin resistance. *Diabetes.* 2000; 49: 677-683.
 207. McClave S A, Lowen C C, Kleber M J, Mc Connell J W, Jung Y L, Goldsmith J L. Clinical Use of the respiratory quotient obtained from indirect calorimetry. *Journal of parenteral and enteral nutrition.* 2003;27 (1): 21-28.
 208. Matarese LE. Indirect calorimetry: Technical aspects. *Journal of the American dietetic association.* 1997; 97(10): 154-160.
 209. Donga E, Dekkers OM, Corssmit EP, Romijn JA. Insulin resistance in patients with type 1 diabetes mellitus assessed by glucose clamp studies: systematic review and meta-analysis. *Eur J Endocrinol.* 2015;173 (1): 101-109.
 210. Donga E, van Dijk M, Hoogma RO, Corssmit EP, Romijn JA. Insulin resistance in multiple tissues in patients with type 1 diabetes mellitus on long-term continuous subcutaneous insulin infusion therapy. *Diabetes Metab Res Rev.* 2013;29 (1): 33-38.
 211. Shay CH M. Insulin resistance and type 1 diabetes: Determinants and clinical consequences. Dissertation 2009, University of Pittsburgh.

212. 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.
213. 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.
214. Roden M. How free fatty acids inhibit glucose utilisation in human skeletal muscle. *Physiology*. 2004; 19(3): 92-96.
215. 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 metaoblism in obese patients with type 1 diabetes mellitus. *Physiol Res*. 2013;62: 267-276.
216. Jarvisalo M, Raitakari O, Gylling H, MIettinen T A. Cholesterol absorption and synthesis in children with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 200629(10): 2300-4.
217. Gylling H, Laaksonen D E, Atalay M, Hallikinen M, Niskanen L, MIettinen TA. Markers of absorption and synthesis of cholesterol in men with type 1 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rew*. 2007;23(5):372-7.
218. Pihlajamaki J, Gylling H, Miettinen T A, Laakso M. Insulin resistance is associated with increased cholesterol synthesis and decrease cholesterol absorption in normoglycemic men. *Journal of lipid research*. 2004; 45:507-512.

9. Literatura – knihy a učebnice

1. Ledvina M, Stoklasová A, Cerman J. Biochemie pro studující medicíny I, II díl. Karolinum, Praha 2006.
2. MURRAY, Robert K., et al. Harperova biochemie. Z angl. 23. vyd. přel. Lenka Fialová et. al. 4. vyd. v ČR. Praha: H & H, 2002.
3. Hainer V., Kunešová M. et al. Obezita-etiotogeneza, diagnostika a terapie. Galén Praha, 1997.
4. Bureš J, Horáček J. Základy vnitřního lékařství. Galén Praha 2003.
5. Pelikánová T, Bartoš V. Praktická diabetologie. Maxdorf Praha, 2010.
6. Svačina Š. Obezitologie a teorie metabolického syndromu. Triton, Praha 2013.

10. Seznam zkratek

AA	Kyselina arachidonová
Acetyl-CoA	Acetyl – koenzym A
ACP	Acyl carrier protein
AMK	Aminokyselina
AMPK	5' AMP-activated protein kinase
Anti-GAD65	Protilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové
Anti-IA2	Protilátky proti tyrozinkináze
ATP	Adenosintrifosfát
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
BMI	Body mass index
cAMP	Cyklický adenosin mono-fosfát
CCL	CC chemokine ligand
CNS	Centrální nervový systém
C-peptid	Connecting peptid
CRP	C - reaktivní protein
CSII	Continual subcutaneous insulin infusion
DM1, DM2	Diabetes mellitus 1. či 2. typu
DPPIV	Dipeptidyl peptidáza IV typu
EDTA	Ethylendiammintetraoctová kyselina
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EPA	Kyselina eikosapentaenová
FABP	Fatty acid binding protein
FTM	Fat tissue mass
GIP	Gastric minhibitory peptide
GLP-1	Glucagon like peptide -1
GLUT	Glukózový transportér
HbA1c	Glykovaný hemoglobin
HDL	High density lipoproteins
HEC	Hyperinzulinemický euglykemický clamp
HLA	Human leucocyte antigens
HMG-CoA	β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA
HOMA	Homeostasis model assessment

IAA	Protilátky proti inzulínu
IDL	Intermediary density lipoproteins
IFCC	Mezinárodní federace klinické chemie
IGF-1	Inzulin growth factor-1
IL-6	Interleukin 6
IR	Inzulinová rezistence
IRI	Imunoreaktivní inzulin
IRS	Insulin receptor substrate -1
IU	Mezinárodní jednotky používané k vyjádření množství inzulínu
Kcal	Kilokalorie
LADA	Latent autoimmune diabetes of adults
LCAT	Lecithincholesterol transferáza
LDL	Low density lipoproteins
LPL	Lipoproteinová lipáza
LPS	Lipopolysacharid
LTM	Lean tissue mass
MAPK/ERK	Mitogen-activated proteinkinases/extracellular signal-regulated kinases
MC4R	Melanocortin-4 receptor
MCR	Metabolická clearance glukózy
MHC	Major histocompatibility complex
N	Počet
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease
NEFA, NEMK	Neesterifikované mastné kyseliny
NfκB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NO	Oxid dusnatý
NOS	Syntáza oxidu dusnatého, + e (endotelová)
NPC1L1	Nieman- Pick C1like 1 protein
PPAR	Peroxisom proliferator activated receptors
RIA	Radioimunoassay
REE	Resting Energy Expenditure
SOCS-3	Suppressor of cytokine signaling -3
TAG	Triacylglyceroly
TLR4	Toll-like receptor 4
UCP1	Uncoupling protein 1

VCAM	Vascular cell adhesion molecule
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VLDL	Very low density lipoproteins