



Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát dizertační práce

**Endokrinní funkce tukové tkáně:
úloha při vzniku a rozvoji
komplikací aterosklerózy**

Lenka Bošanská

Praha 2009

Doktorské studijní programy v biomedicině

*Univerzita Karlova v Praze
a Akademie věd České republiky*

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady:

Prof. MUDr. Stanislav Trojan, DrSc.

Školící pracoviště:

3. interní klinika 1. lékařské fakulty Univerzity

Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

Autor: MUDr. Lenka Bošanská

Školitel: Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

Školitel konzultant (byl – li):

Oponenti:

.....

.....

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná dne: v hod.

kde

.....

S dizertací je možno se seznámit na děkanátě

1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

OBSAH

Seznam použitých zkratk	4
Seznam tabulek a obrázků	5
SOUHRN	6
SUMMARY	7
1. ÚVOD	9
1.1 Obezita a kardiovaskulární onemocnění	9
1.2 Endokrinní funkce tukové tkáně	9
1.3 Kardiovaskulární riziko a katecholaminy: vztah k tukové tkáni	10
1.4 Cytoadhezivní molekuly a ateroskleróza	11
1.5 Obezita a subklinický zánět	12
2. CÍLE PRÁCE	13
3. METODIKA	14
3.1 Soubory vyšetřovaných osob	14
3.2 Měření sledovaných parametrů	15
4. VÝSLEDKY	17
4.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně	17
4.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a obezitou a vliv na metabolický fenotyp	20
4.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem	21
4.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem	23
5. DISKUZE	24
5.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně	24
5.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a obezitou a vliv na metabolický fenotyp	25
5.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem	26
5.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem	27
6. ZÁVĚR	28
7. LITERATURA	29
8. SEZNAM PUBLIKACÍ	33

Seznam použitých zkratk

BMI	- index tělesné hmotnosti (body mass index, hmotnost v kg / (výška v m) ²)
CAM	- cytoadhezivní molekuly
CD68	- marker monocytů/makrofágů
CRP	- C-reaktivní protein
HOMA index	- index inzulínové rezistence (homeostasis model assessment of insulin resistance)
ICAM-1	- intercelulární cytoadhezivní molekula 1 (intercellular adhesion molecule 1)
IFCC	- Světová federace klinické chemie a laboratorní medicíny (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)
MCP-1	- monocytární chemoatraktivní protein 1 (monocyte chemoattractant protein-1)
MMP-9	- metaloproteináza 9 (metalloproteinase 9)
MPO	- myeloperoxidáza (myeloperoxidase)
NS	- nesignifikantní
RNA	- ribonukleová kyselina (ribonucleic acid)
RT-PCR	- polymerázová řetězová reakce v reálném čase (real-time polymerase chain reaction)
s.c.	- subkutánní
SEM	- střední chyba průměru (standard error of mean)
TNF- α	- tumor nekrotizující faktor α
VCAM-1	- vaskulární cytoadhezivní molekula 1 (vascular adhesion molecule 1)
visc.	- viscerální

Seznam tabulek a obrázků

Tabulka 1.	17
Antropometrické, biochemické a hormonální parametry obezních pacientek a kontrolních štíhlých žen	
Tabulka 2.	20
Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientek s obezitou, s mentální anorexií a kontrolních štíhlých žen	
Tabulka 3.	21
Frekvence alel jednonukleotidových polymorfizmů u pacientek s obezitou, s mentální anorexií a kontrolní skupiny žen	
Tabulka 4.	22
Charakteristiky pacientů s feochromocytomem	
Tabulka 5.	22
Hladiny CRP a adipokinů u pacientů před a po léčbě	
Tabulka 6.	23
Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientů s chronickou závislostí na heroinu a kontrolní skupiny	
Obrázek 1.	18
Množství proteinu ICAM-1 a VCAM-1 v subkutánní a viscerální tukové tkáni	
Obrázek 2.	19
mRNA exprese E-selektinu (a), ICAM-1 (b) a VCAM-1 (c) v subkutánní a viscerální tukové tkáni	
Obrázek 3.	19
mRNA exprese markeru monocytů/makrofágů CD 68 (a) a monocytárního chemoatraktivního proteinu 1 (MCP-1) (b) v subkutánní a viscerální tukové tkáni	

SOUHRN

Tuková tkáň představuje velmi zajímavý endokrinně aktivní orgán. Zejména u pacientů s obezitou může být tuková tkáň zdrojem zvýšených kvant prozánětlivých působků a cytoadhezivních molekul, které sehrávají významnou úlohu v iniciaci rozvoje aterosklerózy. V posledních letech probíhají intenzivní výzkumy zaměřené na mechanismy vzniku endoteliální dysfunkce, subklinického zánětu a poruch endokrinní funkce tukové tkáně. Tato problematika je sledována také vzhledem k velkému významu z pohledu klinické praxe, zvyšuje se počet pacientů, kteří trpí onemocněním kardiovaskulárního systému a nebo mají zvýšené riziko předčasného rozvoje aterosklerózy. Přesné mechanismy těchto dějů však zatím nebyly objasněny.

Proto byl tématem této práce výzkum endokrinní funkce tukové tkáně u osob se zvýšeným rizikem rozvoje aterosklerózy, jako jsou pacienti s obezitou, se sekundární hypertenzí a nadprodukcí katecholaminů při feochromocytomu nebo skupina drogově závislých pacientů. Snažili jsme se objasnit, jakou mírou přispívají jednotlivé typy tukové tkáně svou produkcí k hladinám solubilních cytoadhezivních molekul. U části pacientů jsme zjišťovali výskyt polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin a jejich vliv na metabolické parametry.

Naše výsledky potvrdily, že jak subkutánní tak i viscerální tuková tkáň jsou místem produkce cytoadhezivních molekul, které jsou považovány za markery endotelové dysfunkce. Prokázali jsme rozdíly mezi subkutánní a viscerální tkání: byla potvrzena souvislost obezity a zvýšených genových expresí a produkce proteinu pro dva typy cytoadhezivních molekul ve viscerální tukové tkáni. Naše výsledky mohou částečně vysvětlit těsný vztah viscerální obezity a kardiovaskulárních komplikací. Na základě výsledků sledování polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin předpokládáme jejich vliv na metabolický fenotyp pacientů. Manifestace určitého genotypu se však liší u pacientů s rozdílným nutričním stavem organismu. U podskupiny pacientů s feochromocytomem bylo zvýšení hmotnosti po chirurgickém odstranění tumoru překvapivě provázeno signifikantním poklesem hladin C-reaktivního proteinu, markeru systémového zánětu. V tomto procesu jsme neprokázali přímou účast hormonů tukové

tkáně, a snížení hladin CRP je tak pravděpodobně projevem přerušení působení zvýšených hladin katecholaminů na produkci CRP. Může být známkou pozitivního efektu léčby feochromocytomu na progresi aterosklerózy a kardiovaskulární riziko. U jedinců závislých na heroinu jsme podle očekávání zjistili zvýšené markery endoteliální dysfunkce a současně poruchu endokrinní funkce tukové tkáně, která se, kromě jiných faktorů, může částečně podílet na systémovém prozánětlivém stavu.

Výsledky této práce mohou přispět k detailnímu vysvětlení všech mechanismů a souvislostí mezi endokrinní funkcí resp. dysfunkcí tukové tkáně a rozvojem aterosklerózy. Porozumění a schopnost terapeuticky ovlivnit negativní humorální působení tukové tkáně by mohlo znamenat přímý prospěch pro řadu nemocných s vysokým rizikem rozvoje kardiovaskulárních onemocnění.

SUMMARY

Adipose tissue represents a multi-functional endocrine organ. Obesity may lead to the increased release of proinflammatory factors and adhesion molecules from adipose tissue, thus playing an important role in the development of atherosclerosis. Recent research studies were focused on the mechanisms of the endothelial dysfunction, low-grade inflammation and adipose tissue endocrine function dysregulation, and their mutual relationships. These processes are of a great interest due to their clinical relevance and increasing numbers of patients suffering from cardiovascular diseases or being at high risk of early atherosclerosis progression. Exact mechanisms and interrelationships of these factors are yet to be fully clarified.

Therefore, this project was focused on the endocrine function of adipose tissue in individuals at high risk of early atherosclerosis development such as patients with obesity, secondary hypertension and increased levels of catecholamines due to pheochromocytoma and injection drug users. The contribution of subcutaneous and visceral fat depots to the circulating pool of adhesion molecules was examined. Adiponectin and resistin gene polymorphisms in patients with diverse body weight were also examined and their influence on metabolic phenotype was assessed.

Our results confirmed the previous findings that both subcutaneous and visceral fat depots are producers of adhesion molecules, known as markers of endothelial dysfunction. We were able to show the differences between various fat depots and to demonstrate the relationship between obesity and increased adhesion molecules gene expression and protein content in visceral adipose tissue. Our results may partially explain the close relationship of the visceral obesity and cardiovascular diseases. Our assessment of adiponectin and resistin gene polymorphisms indicated their possible influence on the metabolic phenotype of patients. Nevertheless, manifestation of respective genotypes differed in patients with different nutritional status. In patients with pheochromocytoma, successful surgical treatment led to a weight gain that was surprisingly accompanied by attenuation of the inflammatory state as measured by the decrease of C-reactive protein levels. We failed to demonstrate a direct involvement of the changes in adipokines levels in this process. Drop of the C-reactive protein levels thus could be a result of catecholamine levels normalization and it may reflect positive effect of pheochromocytoma removal on atherosclerosis progression and cardiovascular risk. In injection drug users, increased levels of endothelial dysfunction markers were found accompanied by dysregulated endocrine function of adipose tissue which may contribute to proinflammatory state of these patients.

Results of this project may represent another step on the way to the detailed explanation of the mechanisms and relationships between adipose tissue endocrine function or dysfunction and atherosclerosis development. Better understanding and ability to prevent or treat the negative metabolic effects of adipose tissue-derived molecules would be of great importance for numbers of patients at high risk of cardiovascular diseases.

1. ÚVOD

1.1 Obezita a kardiovaskulární onemocnění

Obezita je multifaktoriálně podmíněná metabolická choroba, kdy individuálně podmíněná predispozice vede v případě pozitivní energetické bilance k hromadění tukových zásob. Ve většině případů se setkáváme s prostou obezitou, která vzniká v důsledku relativně vyššího příjmu energie potravou a/nebo nižšího výdeje energie (Hainer 1997).

Kardiovaskulární onemocnění představují hlavní příčinu morbidity a mortality ve vyspělých zemích a jsou tak i velmi závažným socioekonomickým problémem (Mathers 2006). Dle velkých epidemiologických studií (Framingham Heart Study, Nurses Health Study, Buffalo Health Study) představuje zvýšená tělesná hmotnost významný rizikový faktor ischemické choroby srdce i kardiovaskulárních onemocnění celkově (Eckel 1998; Rashid 2003). Za více rizikovou je u obézních jedinců i jedinců s nadváhou považována abdominální akumulace tuku, která podobně jako výrazné oscilace hmotnosti v důsledku neúspěšných pokusů o redukci hmotnosti, souvisí s progresí aterosklerózy (Kannel 1996).

1.2 Endokrinní funkce tukové tkáně

Tuková tkáň představuje multifunkční endokrinní orgán produkující řadu proteinových faktorů charakteru hormonů, cytokinů, růstových faktorů a dalších, které se souhrnně nazývají adipokiny (Guerre-Millo 2002). Látky vznikající v tukové tkáni mohou lokálním nebo celkovým působením po uvolnění do cirkulace ovlivnit regulační mechanismy energetického metabolismu a zánětlivých a imunitních procesů (Hauner 2005).

V roce 1994 byl objeven proteinový hormon leptin produkovaný převážně adipocyty (Zhang 1994), který se podílí na udržování energetické homeostázy organismu (Halaas 1995). Sérové hladiny leptinu a exprese mRNA pro leptin v tukové tkáni u lidí pozitivně korelují s BMI a obsahem tuku (Haluzik 1999; Anderlova 2006). Zvýšené hladiny leptinu byly také zjištěny u pacientů s manifestní aterosklerózou, anginou pectoris nebo u akutního infarktu myokardu (Taneli 2006). Přesný mechanismus působení leptinu není zatím detailně popsán, výsledky studií však svědčí pro možný proaterogenní potenciál leptinu (Singh 2007).

Adiponektin je proteinový hormon produkovaný převážně adipocyty bílé tukové tkáně. Gen pro lidský adiponektin byl identifikován na chromozomu 3q27. Polymorfizmy genu pro adiponektin mohou být spojeny se sníženou sérovou hladinou adiponektinu, výskytem inzulinové rezistence a rizikem rozvoje diabetes mellitus 2. typu (Gonzalez-Sanchez 2005). Sérové hladiny adiponektinu jsou sniženy u obézních jedinců, vyšší hladiny nacházíme u jedinců s normální hmotností nebo dokonce malnutricí (Esposito 2003; Housova 2005). V současné době jsou v popředí zájmu inzulin-senzitizující a protizánětlivé účinky adiponektinu. Adiponektin působí jako antiaterogenní faktor, snižuje syntézu C-reaktivního proteinu v endotelových buňkách, inhibuje migraci monocytů a makrofágů a jejich transformaci na pěnové buňky v cévní stěně (Ouchi 2001; Devaraj 2008).

Rezistin je proteinový hormon, který je kromě adipocytů produkován i monocyty a makrofágy. Podobně jako u adiponektinu, byla i u rezistinu zkoumána spojitost mezi polymorfizmy genu pro rezistin a obezitou nebo inzulinovou rezistencí (Steppan 2004). První experimentální studie nasvědčovaly tomu, že zvýšené hladiny rezistinu vyvolávají inzulinovou rezistenci, další studie však tyto výsledky zcela nepotvrdily. V poslední době je rezistin spojován především se zánětlivým stavem organismu (Lehrke 2004; Reilly 2005).

Přestože účinky adipocytárních hormonů leptinu, adiponektinu a rezistinu zatím nebyly do detailů objasněny, výsledky studií nasvědčují tomu, že jsou přímo nebo nepřímo zapojené i v etiopatogeneze aterosklerózy (Kawanami 2004; Shimada 2004).

1.3 Kardiovaskulární riziko a katecholaminy: vztah k tukové tkáni

U řady endokrinopatií, od asymptomatických forem až ke klinicky vyjádřeným formám, byl popsán zvýšený výskyt rizikových faktorů aterosklerózy a kardiovaskulárních onemocnění. U pacientů s feochromocytomem, katecholaminy produkujícím tumorem z chromafinních buněk dřeně nadledvin, jsou kardiovaskulární příhody dokonce nejčastější příčinou úmrtí (Khorram-Manesh 2005; Daub 2007). Přesný podklad a mechanismy akcelerované aterosklerózy u těchto pacientů zatím nejsou známy. Je zřejmé, že zahrnují mimo jiné zvýšený krevní tlak, jeho výraznější kolísání a

poruchy diurnální variability, poruchy glukózového metabolismu a pravděpodobně i další faktory, jako zvýšené prozánětlivé markery (Zelinka 2007).

Experimentální studie prokázaly, že nadbytek katecholaminů může významně ovlivnit endokrinní funkci tukové tkáně (Bottner 2000). Inhibiční efekt katecholaminů na produkci leptinu byl potvrzen jak v experimentálních, tak i klinických studiích (Kosaki 1996; Goossens 2008). Případný nadbytek katecholaminů nebo naopak změny počtu a funkce adrenergních receptorů na povrchu adipocytů vedoucí k rezistenci na katecholaminy mohou negativně ovlivnit celé spektrum metabolických procesů (Arner 1999; Bottner 1999).

1.4 Cytoadhezivní molekuly a ateroskleróza

Cytoadhezivní molekuly (CAM) jsou transmembránové proteiny exprimovány různými buňkami organismu, které umožňují vzájemné interakce mezi buňkami a buňkou a extracelulární matrix (Hope 2003). Endotel reaguje na působení prozánětlivých cytokinů zvýšenou syntézou cytoadhezivních molekul. V experimentálních studiích u lidí bylo prokázáno zvýšené množství cytoadhezivních molekul E-selektinu, ICAM-1 a VCAM-1 na povrchu endotelu nad aterosklerotickými pláty (Duplaa 1996).

Ateroskleróza je v současné době vnímána jako chronický zánětlivý proces, který je odpovědí na poškození intimy cévní stěny. Endotelová dysfunkce, subendoteliální zánět, reparativní imunologické procesy a jejich příčiny jsou v posledních letech předmětem intenzivního výzkumu (Mahmoudi 2007). Byly hledány proteinové faktory cirkulující v krvi, které by byly použitelné jako indikátory akcelerované aterosklerózy u klinicky zdravé populace. Z tohoto hlediska se řada studií zabývala i významem cytoadhezivních molekul (Blankenberg 2003).

Hladiny solubilních cytoadhezivních molekul ve studiích korelují s řadou rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění jako kouření, hypertenze nebo dyslipidémie (Blankenberg 2003). V dalších studiích byly zjištěny zvýšené hladiny solubilních cytoadhezivních molekul u pacientů s aterosklerózou, diabetes mellitus 2. typu nebo obezitou (Price 1999; Pontiroli 2004). Někteří autoři sledovali změny hladin cytoadhezivních molekul po zlepšení kompenzace diabetu nebo po redukci hmotnosti (Yudkin 2000;

Pontiroli 2004). Studie přináší i protichůdné a někdy obtížně interpretovatelné závěry, ne vždy jsou ovlivněny všechny uvedené cytoadhezivní molekuly.

1.5 Obezita a subklinický zánět

Tuková tkáň produkcí množství prozánětlivých faktorů a cytokinů přímo i nepřímo přispívá k celkovému subklinickému zánětu provázejícímu obezitu, diabetes nebo aterosklerózu. Dosavadní studie nasvědčují tomu, že produkce některých látek tukovou tkání – zejména faktorů prozánětlivých a metabolicky škodlivých – je u obézních jedinců zvýšená (Trayhurn 2005). Přestože patofyziologické mechanismy ještě zdaleka nejsou objasněny, je známo, že některé faktory se podílejí na rozvoji aterosklerózy (např. MCP-1, ICAM-1, VCAM-1, E-selektin). Jejich hladiny mohou být u obézních jedinců zvýšené, podíl produkce tukové tkáně na jejich sérových hladinách však zatím není znám (Berg 2005; Fain 2005; Trayhurn 2005).

Tuková tkáň kromě adipocytů obsahuje fibroblasty, preadipocyty, makrofágy a cévní struktury. Za normálních podmínek tvoří makrofágy přibližně 5 – 10 % buněčné populace tukové tkáně, v důsledku zvýšení hmotnosti u obezity se však může jejich počet několikanásobně zvýšit (Weisberg 2003). Adipocyty a makrofágy v tukové tkáni se vzájemně ovlivňují a zejména v případě obezity pak dochází k potenciaci zánětlivé odpovědi a výslednému synergickému působení (Berg 2005). Otázkou zůstává, jestli adipocyty a nebo spíše imunokompetentní buňky jsou tím hlavním zdrojem cytoadhezivních molekul a dalších proaterogenních faktorů vznikajících ve viscerálním tuku obézních jedinců.

2. CÍLE PRÁCE

Tuková tkáň produkcí prozánětlivých faktorů a cytokinů přímo i nepřímo přispívá k celkovému subklinickému zánětu provázejícímu obezitou, diabetes mellitus 2. typu nebo aterosklerózu. Řada studií nasvědčuje tomu, že porucha endokrinní funkce tukové tkáně se přímo podílí na vzniku endoteliální dysfunkce a rozvoji aterosklerózy. Bližší poznání mechanismu humorálního působení tukové tkáně může přispět k identifikaci vhodných diagnostických markerů časných stádií endoteliální dysfunkce a aterosklerózy a umožnit tak cílenou primární prevenci u rizikových osob.

Cílem práce byl proto výzkum endokrinní funkce tukové tkáně u osob se zvýšeným rizikem rozvoje aterosklerózy, jako jsou pacienti s obezitou, se sekundární hypertenzí při feochromocytomu nebo malnutricí při chronické drogové závislosti. Kromě sérových koncentrací hormonů a cytoadhezivních molekul vznikajících v tukové tkáni jsme sledovali i exprese relevantních genů v podkožní resp. viscerální tukové tkáni. U části pacientů jsme zjišťovali výskyt polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin a jejich vliv na metabolické parametry. U pacientů s nadprodukcí katecholaminů a chronickou drogovou závislostí jsme sledovali parametry subklinického zánětu, který se podílí na iniciaci procesu aterosklerózy.

Konkrétním cílem práce bylo odpovědět na následující otázky:

- Je tuková tkáň místem produkce cytoadhezivních molekul? Pokud ano, liší se jejich produkce mezi subkutánní a viscerální tukovou tkání, která je považována za více škodlivou?
- Jaká je frekvence jednonukleotidových polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin u pacientek s obezitou, s mentální anorexií a u kontrolních žen a jak ovlivní genotyp metabolické parametry?
- Jakou úlohu sehrává endokrinní aktivita tukové tkáně při změnách metabolického profilu a prozánětlivého stavu u pacientů s nadprodukcí katecholaminů a po jejich normalizaci?
- Podílí se porucha endokrinní funkce na chronickém subklinickém zánětu a předčasném rozvoji endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu? Budou tyto změny ovlivněny roční odvykací léčbou s podáváním metadonu?

3. METODIKA

3.1 Soubory vyšetřovaných osob

Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně

Do studie bylo zařazeno 25 obézních žen a 14 štíhlých žen. Obézní pacientky byly dle BMI rozděleny do dvou skupin: skupina 1 s BMI 30 – 40 kg/m² a skupina 2 s BMI nad 40 kg/m². U všech účastníků studie bylo provedeno antropometrické měření, ráno nalačno byly provedeny krevní odběry ke stanovení sledovaných parametrů. Vzorky subkutánní a viscerální tukové tkáně byly odebrány na začátku plánovaného chirurgického výkonu (bandáž žaludku resp. cholecystektomie). Vzorky pro stanovení exprese mRNA byly uloženy ve stabilizačním roztoku (RNA later, Qiagen GmbH, SRN) a uchovány v – 70°C do dalšího zpracování.

Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou

Do studie bylo zařazeno 77 obézních žen, 28 žen s mentální anorexií a 38 zdravých štíhlých žen. U žen kontrolní skupiny nebyl zaznamenán rodinný výskyt diabetes mellitus 2. typu nebo obezity. K diagnostice poruchy příjmu potravy byl použit Diagnostický a statistický manuál duševních poruch (DSM-IV). U všech žen bylo provedeno antropometrické měření, vypočítán BMI a provedeny krevní odběry ráno nalačno ke stanovení biochemických a hormonálních parametrů a sledovaných genových polymorfizmů.

Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem

Do studie bylo zařazeno 18 pacientů, 11 mužů a 7 žen, s nově diagnostikovaným feochromocytomem. Diagnóza byla stanovena dle standardního diagnostického postupu a verifikována pooperačně histologicky. Pacienti byli vyšetřeni vstupně při stanovení diagnózy a 6 měsíců po chirurgickém odstranění tumoru. U všech pacientů byly změřeny antropometrické parametry, provedeno 24-hodinové monitorování krevního tlaku a proveden odběr krve ke stanovení biochemických a hormonálních parametrů.

Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem

Do studie bylo zařazeno 16 pacientů, 9 mužů a 7 žen, chronicky závislých na heroinu a 16 zdravých jedinců odpovídajícího věku a pohlaví. U 60 % drogově závislých jedinců byla zjištěna pozitivita hepatitidy B a/nebo C. U všech subjektů bylo provedeno antropometrické měření a krevní odběr ráno nalačno ke stanovení sledovaných parametrů. 9 pacientů závislých na heroinu bylo vyšetřeno po 1 roce substituční léčby metadonem.

Vyšetřované osoby byly sledovány a vyšetřovány ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze a poskytly svůj informovaný souhlas. Studie byly provedeny v souladu s Helsinskou deklarací a se souhlasem Etické komise Všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

3.2 Měření sledovaných parametrů

Stanovení hormonálních a biochemických parametrů

Sérové koncentrace solubilních cytoadhezivních molekul ICAM-1, VCAM-1, E-selektinu, myeloperoxidázy (MPO) a metaloproteinázy 9 (MMP-9) byly stanoveny multiplexovou imunoanalýzou kitem Human_Cardiovascular_Disease LINCOplex Kit na přístroji Luminex®200 (LINCO Research, USA). Sérové hladiny leptinu, rezistinu, adiponektinu, inzulinu, TNF- α byly stanoveny metodou ELISA resp. RIA pomocí komerčních kitů (Bio Vendor, ČR, Linco Research, USA, Cis Bio International, Francie). Hladina CRP byla měřena pomocí kitu Ultra-Sensitive CRP ELISA kit (Diagnostic Systems Laboratories, USA).

Expresse mRNA a obsah proteinů sledovaných molekul v tukové tkáni

Celková RNA byla získána ze 60 – 100 mg subkutánní nebo viscerální tukové tkáně homogenizací a izolací použitím kitu MagNA Pure Compact RNA Isolation Kit (Roche Diagnostics, Německo). Podrobněji viz práce Lacinové a kol. (Lacinova 2008). Koncentrace a čistota RNA byla měřena spektrofotometricky (BioPhotometr Eppendorf AG, Německo). Integritu vlákna RNA jsme hodnotili vizualizací 18S a 28S RNA proužků na 1 % agarózovém gelu s přídatkem ethidium bromidu.

cDNA byla syntetizována reverzní transkripcí dle protokolu výrobce kitu Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas Life Science, Litva). Intenzita genové exprese jednotlivých vzorků byla kvantifikována polymerázovou řetězovou

reakcí v reálném čase (RT-PCR) na přístroji ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems, USA) s použitím specifické hydrolyzační sondy TaqMan® Gene Expression Assays. Zvýšení fluorescence bylo měřeno v reálném čase a byla stanovena tzv. C_T hodnota – počet cyklů, ve kterých fluorescence dosáhne prahové hodnoty (threshold cycle). Zjištěné výsledky byly normalizovány k expresi RNA pro 18S. Relativní genová exprese byla určena dle následující rovnice: $2^{-\Delta\Delta(CT \text{ cytokine} - CT \text{ 18S RNA})}$.

Přibližně 100 – 200 mg tukové tkáně bylo homogenizováno ve 250 μ l ledového homogenizačního pufru (Wu 2001). Obsah proteinu cytoadhezivních molekul v homogenátu tukové tkáně byl stanoven pomocí kitu HumanCardiovascularDisease LINCOPlex Kit na přístroji Luminex®200 (LINCO Research, USA) a normalizován k celkovému obsahu proteinu. Koncentrace proteinu jednotlivých vzorků byla určena po přidání barevného činidla dle protokolu výrobce (Bio-Rad Laboratories, USA).

Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin

DNA byla izolována z 500 μ l odebrané krve použitím kitu MagNA Pure Nucleid Acid Isolation Kit na přístroji MagNA Pure Compact (obojí Roche Diagnostic, GmbH, Mannheim, Německo). Koncentrace DNA byla stanovena při absorbanci 260 nm (BioPhotometr Eppendorf AG, Německo). Jednonukleotidové polymorfizmy genů pro adiponektin (45 T>G, 276 G>T) a rezistin (62 G>A, -180 C>G) byly vyhledávány použitím PCR na přístroji MyCycler™ Thermo Cycler Instrument (Bio-Rad, USA) a následnou restriční analýzou (RFLP). Produkty PCR a RFLP byly detekovány elektroforeticky na 2 % agarózovém gelu s přídavkem 1 % ethidium bromidu a verifikovány sekvenací na přístroji ABI PRISM 310 (Applied Biosystems, USA).

Statistické zpracování

Statistická analýza dat byla provedena pomocí programu SigmaStat (Jandel Scientific, USA). K hodnocení významnosti rozdílů mezi skupinami v jednotlivých podstudiiích byly použity: párový a nepárový *t*-test resp. Mann-Whitney Rank Sum Test, analýza rozptylu (One-Way ANOVA), korelační testy a frekvenční analýza.

4. VÝSLEDKY

4.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně

Do studie bylo zařazeno 25 obézních žen (skupina 1 s BMI 30–40 kg/m², skupina 2 s BMI > 40 kg/m²) a 14 kontrolních žen. U obézních žen jsme zaznamenali vyšší BMI, HOMA index, hladiny CRP, glykémie a inzulínu a snížené hladiny HDL-cholesterolu ve srovnání s kontrolní skupinou. Glykovaný hemoglobin, LDL-cholesterol ani krevní tlak se mezi skupinami nelišily. Hladina celkového cholesterolu byla snižena u obézní skupiny 2 proti kontrolám, hladina triglyceridů byla zvýšená u obézní skupiny 1 pacientek s BMI 30 – 40 ve srovnání s kontrolami. Sérové koncentrace E-selektinu a ICAM-1 byly vyšší u obézní skupiny 2 s BMI nad 40 kg/m² oproti kontrolní skupině. Výsledky viz tabulka 1.

Tabulka 1. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry obézních pacientek a kontrolních štíhlých žen

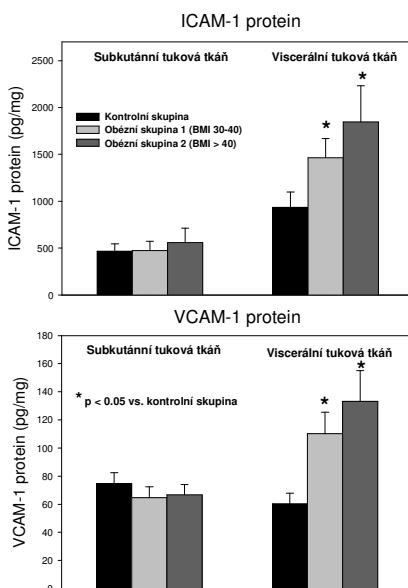
	Kontrolní skupina (n = 14)	Obézní skupina 1 BMI 30-40 (n = 12)	Obézní skupina 2 BMI > 40 (n=13)
Věk (roky)	49,9 ± 2,9	48,7 ± 2,4	43,5 ± 2,3
BMI (kg/m ²)	23,8 ± 0,6	35,7 ± 0,9 **	46,2 ± 0,8 ** °°
C-reaktivní protein (mg/l)	3,0 ± 0,7	23,3 ± 6,3 *	20,2 ± 3,4 **
Glykémie (mmol/l)	4,1 ± 0,25	5,6 ± 0,2 **	6,6 ± 0,9 *
Glykovaný hemoglobin HbA1c (dle IFCC) (%)	3,8 ± 0,06	3,8 ± 0,15	4,7 ± 0,4
Celk. cholesterol (mmol/l)	5,1 ± 0,3	4,7 ± 0,15	4,4 ± 0,2 *
LDL-cholesterol (mmol/l)	3,4 ± 0,2	2,9 ± 0,16	2,8 ± 0,2
Triglyceridy (mmol/l)	1,1 ± 0,15	1,8 ± 0,2 *	1,5 ± 0,14
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,2 ± 0,06	0,9 ± 0,05 **	0,9 ± 0,08 *
Inzulín (mIU/l)	8,6 ± 1,2	20,8 ± 3,5 *	21,6 ± 5,9 *
HOMA index	1,4 ± 0,2	4,7 ± 1,2 *	4,9 ± 1,4 *
Systol. krevní tlak (mmHg)	121 ± 3,5	129 ± 3,6	130 ± 4,4
Diastol. krevní tlak (mmHg)	74 ± 2,4	82 ± 2,2	82 ± 3,6
Solubilní E-selektin (ng/ml)	14,7 ± 1,4	16,4 ± 1,7	25,1 ± 3,2 *
Solubilní ICAM-1 (ng/ml)	147,1 ± 9,5	155,1 ± 10,9	194,4 ± 17,6 *
Solubilní VCAM-1 (ng/ml)	891,2 ± 78,2	908,1 ± 36,3	965,5 ± 70,3

*p<0,05; **p<0,001 obézní vs.kontrolní skupina; °°p<0,001 obézní sk.2 vs. obézní sk.1

V subkutánní tukové tkáni nebyly zaznamenány rozdíly v expresích mRNA E-selektinu, ICAM-1 a VCAM-1 a množství proteinu ICAM-1 a VCAM-1 mezi skupinami obézních a štíhlých žen. Ve viscerálním tuku byla exprese mRNA i množství proteinu pro ICAM-1 a VCAM-1 významně zvýšená u obou skupin obézních žen ve srovnání s kontrolní skupinou (Obrázek 1 a 2). Exprese mRNA pro E-selektin a MCP-1 se mezi skupinami nelišila. Exprese CD68 byla u obézních pacientek signifikantně zvýšená ve viscerální, nikoliv však v subkutánní tukové tkáni (Obrázek 3).

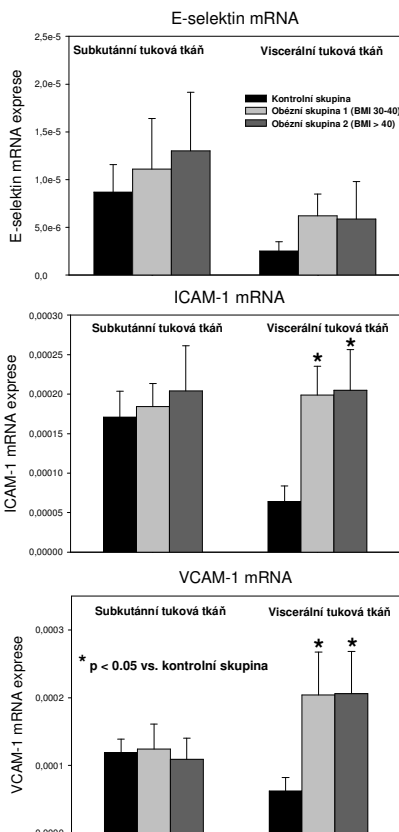
Korelace mezi jednotlivými sledovanými parametry byly hodnoceny v kombinované populaci všech skupin. V subkutánní tukové tkáni hladina proteinu ICAM-1 významně korelovala s hladinou solubilní ICAM-1. Exprese mRNA pro ICAM-1 a VCAM-1 v subkutánním tuku pozitivně korelovaly s expresí CD68. Ve viscerálním tuku pozitivně korelovaly exprese mRNA i množství proteinu pro ICAM-1 a VCAM-1 s BMI. Exprese mRNA všech CAM pozitivně korelovaly s expresí CD68 mRNA. Exprese CD68 pozitivně korelovala s BMI v subkutánní i ve viscerální tukové tkáni.

Obrázek 1. Množství proteinu ICAM-1 a VCAM-1 v subkutánní a viscerální tukové tkáni



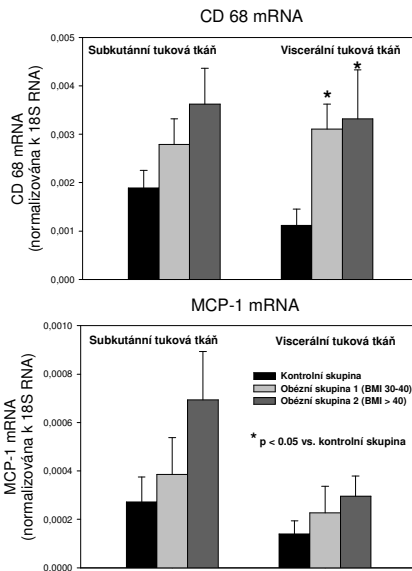
Obrázek 2.

mRNA exprese E-selektinu (a), ICAM-1 (b) a VCAM-1 (c) v subkutánní a viscerální tukové tkáni



Obrázek 3.

mRNA exprese markeru monocytů/makrofágů CD 68 (a) a monocytařního chemoatraktivního proteinu 1 (MCP-1) (b) v subkutánní a viscerální tukové tkáni



4.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou a vliv na metabolický fenotyp

Charakteristiky pacientek jsou uvedeny v tabulce 2. BMI byl vyšší u obézních žen a nižší u pacientek s mentální anorexií ve srovnání s kontrolami. Glykémie, hladina inzulínu a HOMA index byly vyšší ve skupině obézních žen ve srovnání s dalšími skupinami. Hladina cholesterolu a TNF- α se mezi skupinami významně nelišila. Sérová hladina adiponektinu byla snížena u obézních žen a naopak zvýšená u žen s mentální anorexií ve srovnání s kontrolní skupinou. Sérová hladina rezistinu byla zvýšená u obézní skupiny a snížena u žen s mentální anorexií ve srovnání s kontrolami.

Tabulka 2. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientek s obezitou, s mentální anorexií a kontrolních štíhlých žen

	Kontrolní skupina (n = 38)	Mentální anorexie (n = 28)	Obézní pacientky (n = 77)
BMI (kg/m ²)	22,3 ± 0,4	15,7 ± 0,4 ** **	43,5 ± 1,1 ** °°
Glykémie (mmol/l)	4,1 ± 0,2	3,9 ± 0,05 **	5,6 ± 0,2 ** °°
Inzulín (mIU/l)	15,5 ± 1,9	11,5 ± 1,1 **	32,6 ± 2,6 ** °°
HOMA index	3,0 ± 0,4	2,0 ± 0,2 **	8,65 ± 0,8 ** °°
Glykovaný hemoglobin HbA1c (dle IFCC) (%)	3,7 ± 0,07	3,4 ± 0,1 * **	4,2 ± 0,1 * °°
Celk.cholesterol (mmol/l)	4,9 ± 0,1	4,8 ± 0,2	4,9 ± 0,1
Adiponektin (μg/ml)	33,2 ± 4,4	58,4 ± 7,2 * **	17,0 ± 1,2 ** °°
Rezistin (ng/ml)	6,3 ± 0,5	3,9 ± 0,3 * **	8,1 ± 0,6 * °°
TNF- α (ng/ml)	0,9 ± 0,2	1,4 ± 0,3	2,3 ± 0,9

* p < 0,05 resp. ** p < 0,001 vs. kontrolní skupina

+ p < 0,05 resp. ** p < 0,001 vs. obézní skupina

° p < 0,05 resp. °° p < 0,001 vs. skupina s mentální anorexií

Frekvence sledovaných genotypů se mezi jednotlivými skupinami nelišila (viz tabulka 3). Celkově se častěji vyskytovaly: alela G v locusu 62, alela C v locusu -180 genu pro rezistin (RETN), alela T v locusu 45 a alela G v locusu 276 genu pro adiponektin (ADP), než alely A, G, G a T v odpovídajících locusech (p<0,0001). Pro další analýzu byla každá skupina dle genotypu rozdělena na podskupiny. Pacientky s mentální anorexií a nositelky minoritní alely T v pozici 276 genu ADP měly vyšší sérové hladiny celkového cholesterolu ve srovnání s nositelkami G/G genotypu (p<0,05). Nositelky minoritní alely G v pozici -180 RETN měly vyšší BMI ve

srovnání s nositelkami C/C genotypu ($p < 0,05$). U obézních pacientek byla přítomnost minoritní alely T pro ADP 276 spojena s vyšší sérovou hladinou adiponektinu než u obézních G/G homozygotů ($p < 0,05$). Obézní pacientky s minoritní alelou A v pozici 62 RETN měly vyšší hladiny cholesterolu ve srovnání s nositelkami G/G genotypu ($p < 0,001$). V kontrolní skupině měly nositelky minoritní alely T genu ADP 276 nižší hladiny glykovaného hemoglobinu ve srovnání s G/G genotypem ($p < 0,05$). Přítomnost minoritní alely A v pozici 62 RETN byla také spojena s nižší hladinou glykovaného hemoglobinu ve srovnání s genotypem G/G ($p < 0,001$).

Tabulka 3. Frekvence alel jednonukleotidových polymorfizmů u pacientek s obezitou, s mentální anorexií a kontrolní skupiny žen (RETN = gen pro rezistin; ADP = gen pro adiponektin)

		Kontrolní skupina (n = 38)	Pacientky s mentální anorexií (n = 28)	Obézní pacientky (n = 77)
RETN 62	Alela G	94 %	100 %	96 %
	Alela A	6 %	0 %	4 %
RETN -180	Alela C	81 %	65 %	65 %
	Alela G	19 %	35 %	35 %
ADP 45	Alela T	95 %	100 %	94 %
	Alela G	5 %	0 %	6 %
ADP 276	Alela G	83 %	71 %	72 %
	Alela T	17 %	29 %	28 %

4.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem

Charakteristiky pacientů vstupní při diagnóze feochromocytomu a 6 měsíců po operační léčbě jsou uvedeny v tabulce 4. Vstupně byl systolický a diastolický krevní tlak, celkový cholesterol, glykémie a glykovaný hemoglobin u pacientů vyšší než normální rozmezí naší laboratoře. Odstranění feochromocytomu vedlo po 6 měsících k signifikantnímu vzestupu BMI, k poklesu průměrných hodnot systolického a diastolického krevního tlaku a ke snížení hladin lačné glykémie a glykovaného hemoglobinu. Ostatní parametry se po léčbě významně nezměnily.

Tabulka 4. Charakteristiky pacientů s feochromocytomem (n = 18)

	Před léčbou	Po léčbě	
Pohlaví (ženy/muži)	7/11	7/11	
Věk (roky)	45,7 ± 2,9	46,5 ± 2,7	
BMI (kg/m ²)	24,3 ± 0,8	25,5 ± 0,9 **	** p < 0,001
Systolický krevní tlak (mmHg)	137 ± 4	126 ± 3 *	* p < 0,05
Diastolický krevní tlak (mmHg)	84 ± 4	82 ± 2	NS
Prům. systolický krevní tlak/24h. (mmHg)	134 ± 4	118 ± 2 **	** p < 0,001
Prům. diastolický krevní tlak/24h.(mmHg)	83 ± 3	74 ± 1 *	* p < 0,01
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,7 ± 0,3	5,5 ± 0,3	NS
Triglyceridy (mmol/l)	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,2	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	1,6 ± 0,06	1,4 ± 0,06	NS
Glykémie (mmol/l)	7,0 ± 0,4	4,7 ± 0,1 **	** p < 0,001
Glykovaný hemoglobin (dle IFCC) (%)	4,5 ± 0,3	3,8 ± 0,2 **	* p = 0,01
Hladiny inzulínu (μIU/ml)	19,2 ± 2,1	15,5 ± 1,5	NS
Hladiny adrenalinu v moči (nmol/g kr.)	377,9 ± 155	19,1 ± 2,8 *	* p < 0,05
Hladiny noradrenalinu v moči (nmol/g kr)	2676 ± 438	176,9 ± 15,3 **	** p < 0,001

6 měsíců po chirurgickém odstranění tumoru došlo u pacientů k významnému poklesu C-reaktivního proteinu. Naproti tomu nebyly zaznamenány signifikantní změny sérových hladin leptinu, adiponektinu nebo rezistinu a to i přes to, že po léčbě došlo u pacientů k statisticky významnému zvýšení BMI (Tabulka 4 a 5).

Tabulka 5. Hladiny CRP a adipokinů u pacientů před a po léčbě

	Před léčbou (n = 18)	Po léčbě (n = 18)	
CRP (mg/l)	0,492 ± 0,123	0,235 ± 0,051 *	* p < 0,05
Leptin (ng/ml)	6,76 ± 1,78	8,79 ± 2,86	NS
Adiponektin (μg/ml)	20,01 ± 2,49	18,34 ± 2,49	NS
Rezistin (ng/ml)	5,34 ± 0,5	5,56 ± 0,55	NS

U pacientů před léčbou byla zjištěna pozitivní korelace sérových hladin leptinu s věkem, BMI, triglyceridy a hladinami inzulínu a negativní korelace s průměrným diastolickým tlakem za 24 hodin. Po odstranění feochromocytomu korelovaly hladiny leptinu s věkem, BMI a triglyceridy. Nebyly zjištěny jiné významné korelace hladin leptinu s jinými parametry, např. ani s hladinami adrenalinu a noradrenalinu v moči. Sérové hladiny rezistinu pozitivně korelovaly s hladinou celkového cholesterolu po léčbě.

Mezi hladinami CRP a adipokiny nebyly zjištěny významné korelace. Hladina CRP pozitivně korelovala se systolickým a diastolickým krevním tlakem, s celkovým cholesterolem a hladinami adrenalinu ve sběru moči za 24 hodin u pacientů po chirurgické léčbě. Nebyly zjištěny další statisticky významné korelace mezi CRP, adipokiny, katecholaminy a dalšími sledovanými parametry.

4.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroínu: vliv substituční léčby metadonem

BMI pacientů s chronickou závislostí na heroínu se významně nelišil od zdravých kontrolních jedinců. Naproti tomu byly u pacientů závislých na heroínu zjištěny 4-násobně vyšší hladiny C-reaktivního proteinu ve srovnání s kontrolní skupinou (Tabulka 6). Roční substituční léčba s podáváním metadonu vedla u pacientů závislých na heroínu k signifikantnímu zvýšení hladin celkové bílkoviny. Naproti tomu, po roce léčby nebyly u závislých pacientů zaznamenány signifikantní změny BMI nebo CRP.

Sérové hladiny solubilních cytoadhezivních molekul E-selektinu, ICAM-1 a VCAM-1 a hladiny myeloperoxidázy (MPO) a metaloproteinázy 9 (MMP-9) byly u jedinců závislých na heroínu významně zvýšeny proti kontrolní skupině (Tabulka 6). Po roční odvykací léčbě významně klesla hladina MMP-9 ($p < 0,05$). Naopak, odvykací léčba nevedla ke změnám koncentrací cytoadhezivních molekul. Sérové hladiny adiponektinu byly vstupně u pacientů závislých na heroínu významně sníženy ve srovnání s kontrolní skupinou. Sérové hladiny rezistinu byly naopak u závislých jedinců 2-násobně zvýšeny (Tabulka 6). Roční léčba metadonem neovlivnila signifikantně hladiny adiponektinu ani rezistinu. Mezi cirkulujícími hladinami adiponektinu a rezistinu a hladinami cytoadhezivních molekul, myeloperoxidázy nebo metaloproteinázy nebyly zjištěny signifikantní korelace.

Tabulka 6. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientů s chronickou závislostí na heroínu a kontrolní skupiny

	Kontrolní skupina (n = 16)	Pacienti závislí na heroínu (n = 16)
BMI (kg/m ²)	22,1 ± 0,8	21,9 ± 0,6
Celková bílkovina (g/l)	78,9 ± 2,2	75,1 ± 2,1
C-reaktivní protein (mg/l)	2,9 ± 0,9	12,8 ± 2,9 *
Adiponektin (ug/ml)	26,1 ± 3,2	17,8 ± 2,1 *
Rezistin (ng/ml)	4,6 ± 0,5	8,4 ± 0,9 *
ICAM-1 (ng/ml)	111,4 ± 6,6	228,3 ± 30,5 *
VCAM-1 (ng/ml)	926,7 ± 55,9	1364 ± 135,5 *
E-selektin (ng/ml)	11,2 ± 1,0	24,0 ± 2,3 *
MPO (ng/ml)	37,6 ± 7,0	126,1 ± 21,7 *
MMP-9 (ng/ml)	149,7 ± 16,0	265,3 ± 36,1 *

* $p < 0,05$ vs. kontrolní skupina

5. DISKUZE

5.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně

Nejvýznamnějším výsledkem této studie je přímý průkaz souvislosti obezity a zvýšených expresí mRNA i produkce proteinu ICAM-1 a VCAM-1 ve viscerální, ne však v subkutánní tukové tkáni. Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni pozitivně koreluje s BMI a stupněm tkáňové infiltrace imunokompetentními buňkami. Naše výsledky částečně vysvětlují mechanismus těsného vztahu viscerální obezity a kardiovaskulárních komplikací.

Cirkulující hladiny cytoadhezivních molekul představují markery aktivace endotelu a jejich hladiny jsou zvýšené u obézních jedinců (Ferri 1999; Pontiroli 2004). V naší studii jsme zaznamenali zvýšenou hladinu solubilního E-selektinu a ICAM-1 u obézních žen s BMI > 40 kg/m² ve srovnání s kontrolní skupinou.

Tuková tkáň exprimuje cytoadhezivní molekuly (Tsakadze 2004; Brake 2006), což potvrzují i naše výsledky. Přestože jsme zjistili pouze korelaci množství proteinu ICAM-1 s hladinou solubilní formy, hladina cirkulujících CAM pravděpodobně odráží jejich produkci adipocyty, endotelovými a imunokompetentními buňkami tukové tkáně, jako i buňkami mimo tukovou tkáň. Parakrinním působením mohou cytoadhezivní molekuly vznikající v tukové tkáni ovlivňovat regulaci zánětlivých procesů a migraci a aktivaci makrofágů v tukové tkáni obézních jedinců (Brake 2006). V naší studii jsme prokázali pozitivní korelaci mezi expresí cytoadhezivních molekul ve viscerální tukové tkáni a BMI a markerem monocytů a makrofágů CD68, což je v souladu s předpokládaným vztahem mezi abdominální obezitou, infiltrací tukové tkáně makrofágy a endoteliální dysfunkcí. Z našich výsledků tak nepřímou vyplývá, že kromě adipocytů jsou významnými producenty CAM aktivované imunokompetentní buňky přítomné v tukové tkáni (Fain 2007). Výsledky svědčí pro účast viscerální tukové tkáně v patofyziologických procesech souvisejících s obezitou a přispívají k bližšímu vysvětlení mechanismů vzniku kardiovaskulárních onemocnění u jedinců s abdominální obezitou (Eckel 1998).

Dle našich předchozích výsledků je zřejmé, že exprese mRNA pro CAM je regulována odlišně v subkutánní než ve

viscerální tukové tkáni (Bošanská 2008). Expres mRNA pro ICAM-1, VCAM-1 a E-selektin byla v podkožní tukové tkáni žen s obezitou 2. a 3. stupně ve srovnání s kontrolní skupinou žen snížena. Snížení hmotnosti po 3-týdenní redukční dietě vedlo ke zvýšení exprese mRNA pro ICAM-1 a VCAM-1 v subkutánním tuku. Výsledky této práce tak nesvědčí pro přímý vliv produkce CAM v podkožní tukové tkáni na rozvoj endoteliální dysfunkce u obézních jedinců. Je však nutno vzít v úvahu relativně nízký počet pacientů v jednotlivých skupinách a také měření pouze mRNA a nikoliv přímo proteinu pro CAM, což mohlo částečně ovlivnit výsledky studie.

Monocytní chemoatraktivní protein 1 (MCP-1) působí na chemotaxi monocytů a je také markerem zánětu u pacientů se zvýšeným rizikem koronární příhody (Martinovic 2005). V naší studii nebyly mezi skupinami významné rozdíly v mRNA expresi MCP-1. Předchozí studie prokázaly proporcionální zvýšení CD68 u obézních jedinců (Weisberg 2003), což je v souladu s pozitivní korelací CD68 a BMI v naší studii. Otázkou zůstává, zda hlavním zdrojem cytoadhezivních molekul ve viscerálním tuku obézních jedinců jsou adipocyty a nebo spíše imunokompetentní buňky.

5.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou a vliv na metabolický fenotyp

Cílem studie bylo určit frekvenci polymorfizmů 45 T>G a 276 G>T genu pro adiponektin (ADP) a 62 G>A a -180 C>G genu pro rezistin (RETN) u pacientek s obezitou, s mentální anorexií a u kontrolních žen s normální hmotností. Sledovali jsme vliv genotypů na sérové hladiny adiponektinu a rezistinu a další parametry.

Přítomnost minoritní alely T v pozici ADP 276 zvýšila hladinu adiponektinu u obézních pacientek a snížila hladinu glykovaného hemoglobinu u kontrolní skupiny. Tyto výsledky jsou v souladu s dříve publikovanými studiemi (Gonzalez-Sanchez 2005; Fredriksson 2006). Naproti tomu, přítomnost minoritní alely T v pozici ADP 276 zvýšila u pacientek s mentální anorexií hladinu cholesterolu, ale neovlivnila hladinu adiponektinu. Vliv přítomné minoritní alely T genu ADP 276 je pravděpodobně modifikován nutričním stavem organismu. Nositelství minoritní alely A v pozici RETN 62 zvýšilo hladinu cholesterolu u obézních pacientek ve srovnání s G/G homozygoty. U zdravých osob došlo ke snížení hladin glykovaného hemoglobinu, což je v souladu s nižší frekvencí

alely A v pozici RETN 62 u pacientů s diabetes mellitus 2. typu ve srovnání s jedinci bez diabetu (Tan 2003).

Asociace mezi přítomností minoritní alely G v pozici RETN -180 genu a vyšším BMI u pacientek s mentální anorexií dosud popsána nebyla. Tento polymorfismus, podobně jako i nositelství minoritní alely T v pozici ADP 276 by mohly představovat protektivní faktory některých metabolických abnormalit. Vzhledem k relativně malému počtu subjektů v naší studii nelze vyloučit ani další vztahy mezi genotypem a změnami metabolických parametrů.

Výsledky této studie nasvědčují tomu, že polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin mohou ovlivnit metabolický fenotyp pacientů s obezitou nebo mentální anorexií. Manifestace určitého genotypu se pravděpodobně liší u pacientů s rozdílným nutričním stavem organismu.

5.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem

Nejvýznamnějším výsledkem naší studie je disociace mezi chronickým prozánětlivým stavem, zvýšením hmotnosti a endokrinní funkcí tukové tkáně u pacientů po chirurgickém odstranění feochromocytomu. Odstranění katecholaminy produkujícího tumoru vede k porušení rovnováhy mezi příjmem a výdejem energie. Předchozí studie prokázaly, že zvýšení hmotnosti vede v tukové tkáni ke zvýšení produkce prozánětlivých faktorů (Canello 2005; Anderlova 2006). V naší studii byl vzestup hmotnosti provázen snížením prozánětlivého stavu, což vyjadřuje pokles hladin CRP. Tento výsledek je překvapivý vzhledem k řadě studií prokazujících korelaci hladin CRP s BMI (Haffner 2003; Dolezalova 2007). U našich pacientů však došlo jen k mírnému zvýšení hmotnosti. Kromě toho jsme zjistili pozitivní korelace mezi hladinou CRP a množstvím adrenalinu v moči za 24 hodin u našich pacientů po léčbě. Snížení CRP je pravděpodobně projevem přerušení působení hladin katecholaminů na produkci CRP a může být známkou pozitivního efektu léčby feochromocytomu na progresi aterosklerózy.

Pro hodnocení změn endokrinní funkce tukové tkáně jsme použili sérové hladiny leptinu, adiponektinu a rezistinu, měřené u pacientů před léčbou a 6 měsíců po léčbě. Hladiny adipokinů se mění v závislosti na změnách hmotnosti a souvisí také s mírou systémového zánětu (Shimada 2004; Reilly 2005; Patel 2008).

Překvapivě odstranění feochromocytomu hladiny adipokinů neovlivnilo. Naše výsledky nesvědčí pro přímý vliv adipocytárních hormonů leptinu, adiponektinu a rezistinu na subklinický zánět u pacientů s feochromocytomem.

5.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem

Nejdůležitějším zjištěním této studie je skutečnost, že pacienti chronicky závislí na heroinu mají signifikantně zvýšené hladiny solubilních cytoadhezivních molekul, myeloperoxidázy (MPO), enzymu produkujícího škodlivé volné kyslíkové radikály, a zvýšenou hladinu metaloproteinázy 9 (MMP-9), enzymu podílejícího se na destabilizaci aterosklerotických plátů (Nabata 2008).

Výsledky dříve publikovaných studií nasvědčují tomu, že porucha endokrinní funkce tukové tkáně významně přispívá k rozvoji endoteliální dysfunkce a aterosklerózy (Berg 2005). U pacientů s aterosklerózou koronárních tepen jsou hladiny rezistinu zvýšené a rezistin je považován za významný prediktivní faktor koronární aterosklerózy, nezávislý na hladině CRP (Reilly 2005). Pro účast adiponektinu v etiopatogenezi aterosklerózy existuje ještě více důkazů a jeho antiaterogenní účinky jsou v centru pozornosti experimentálních i klinických studií (Haluzik 2004a; Devaraj 2008). Podobně jako u jiných pacientů s předčasnou progresí aterosklerózy jsme u pacientů závislých na heroinu zjistili zvýšené hladiny rezistinu a snížené hladiny adiponektinu (Haluzik 2004b; Shimada 2004). Změny hladin hormonů tukové tkáně by mohly být v přímé souvislosti s rozvojem endoteliální dysfunkce u těchto pacientů.

U pacientů s hepatitidou byly popsány zvýšené hladiny některých cytoadhezivních molekul (Bruno 2005), proto jsme zvažovali i možnost vlivu této nemoci, přítomné u části chronicky závislých pacientů v naší studii, na endoteliální funkci. Dle výsledků subanalýzy nebyly při srovnání hepatitis pozitivních pacientů s hepatitis negativní skupinou zjištěny rozdíly v hladinách CAM.

Pravděpodobné vysvětlení změn hladin cytoadhezivních molekul u jedinců závislých na heroinu tak představuje kombinace chronického systémového zánětu provádějícího zánětlivé onemocnění (např. hepatitidu) a dysfunkci tukové tkáně. Otázkou zůstává, jestli porucha endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu sehrává kauzální roli.

6. ZÁVĚR

Tuková tkáň jako producent řady hormonálních působků je významnou součástí regulačních systémů energetického metabolismu a současně i zánětlivých a imunitních procesů. Podobnost patofyziologických mechanismů obezity a aterosklerózy v podobě chronického subklinického zánětu byly jedním z podnětů pro současné intenzivní výzkumy poruch endokrinní funkce tukové tkáně a mechanismů endoteliální dysfunkce.

Tato práce byla zaměřena na výzkum endokrinní funkce tukové tkáně u rizikových osob z hlediska rozvoje aterosklerózy. U obézních pacientů jsme sledovali hladiny cirkulujících adipokinů a cytoadhezivních molekul a hodnotili podíl tukové tkáně na jejich celkové produkci. Dále jsme zjišťovali výskyt polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin a jejich vliv na metabolické parametry. U pacientů se sekundární hypertenzí a u drogově závislých pacientů jsme hledali souvislosti mezi dysfunkcí tukové tkáně a vybranými parametry subklinického zánětu.

Naše výsledky potvrzují významný vliv obezity na zvýšenou produkci cytoadhezivních molekul ve viscerální tukové tkáni, což také souviselo se stupněm její infiltrace imunokompetentními buňkami. Věříme, že tyto výsledky přispívají k vysvětlení těsného vztahu viscerální obezity a kardiovaskulárních onemocnění. Nejen u obézních, ale i u drogově závislých jedinců jsme zjistili zvýšené markery endoteliální dysfunkce a současně poruchu endokrinní funkce tukové tkáně, která se může podílet na systémovém prozánětlivém stavu. Navíc ani po roční léčbě nedošlo k normalizaci zvýšených hladin uvedených faktorů, zvýšené riziko tak přetrvává. Naopak, u pacientů se sekundární hypertenzí bylo zvýšení hmotnosti po normalizaci hladin katecholaminů překvapivě provázeno významným poklesem hladin C-reaktivního proteinu, markeru systémového zánětu. Přímoú účast hormonů tukové tkáně v tomto procesu jsme neprokázali.

Výsledky této práce tak přispívají k detailnějšímu vysvětlení souvislostí mezi endokrinní funkcí tukové tkáně a rozvojem aterosklerózy. Konečným cílem těchto výzkumů je co nejlépe porozumět a případně preventivně a/nebo terapeuticky ovlivnit negativní humorální působení tukové tkáně a zlepšit tak prognózu řady nemocných.

7. LITERATURA

- Anderlova K, Kremen J, et al. The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women. *Physiol Res* 2006; 55 (3): 277-83.
- Arner P. Catecholamine-induced lipolysis in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23 Suppl 1: 10-3.
- Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005; 96 (9): 939-49.
- Blankenberg S, Barbaux S, et al. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 170 (2): 191-203.
- Bošanská L, Lacinová Z, et al. Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních žen. *Čas Lék Česk* 2008; 147 (1): 32-7.
- Bottner A, Eisenhofer G, et al. Lack of leptin suppression in response to hypersecretion of catecholamines in pheochromocytoma patients. *Metabolism* 1999; 48 (5): 543-5.
- Bottner A, Haidan A, et al. Increased body fat mass and suppression of circulating leptin levels in response to hypersecretion of epinephrine in phenylethanolamine-N-methyltransferase (PNMT)-overexpressing mice. *Endocrinology* 2000; 141 (11): 4239-46.
- Brake DK, Smith EO, et al. ICAM-1 expression in adipose tissue: effects of diet-induced obesity in mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 291 (6): C1232-9.
- Bruno CM, Sciacca C, et al. Circulating adhesion molecules in patients with virus-related chronic diseases of the liver. *World J Gastroenterol* 2005; 11 (29): 4566-9.
- Canello R, Henegar C, et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. *Diabetes* 2005; 54 (8): 2277-86.
- Daub KF. Pheochromocytoma: challenges in diagnosis and nursing care. *Nurs Clin North Am* 2007; 42 (1): 101-11, viii.
- Devaraj S, Torok N, et al. Adiponectin Decreases C-Reactive Protein Synthesis From Endothelial Cells. Evidence for an Adipose Tissue-Vascular Loop. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008.
- Dolezalova R, Lacinova Z, et al. Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: comparison of circulating levels versus subcutaneous mRNA expression. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67 (5): 674-8.
- Duplaa C, Couffignal T, et al. Monocyte/macrophage recruitment and expression of endothelial adhesion proteins in human atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis* 1996; 121 (2): 253-66.

- Eckel RH, Krauss RM. American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee. *Circulation* 1998; 97 (21): 2099-100.
- Esposito K, Pontillo A, et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *Jama* 2003; 289 (14): 1799-804.
- Fain JN, Madan AK. Regulation of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) release by explants of human visceral adipose tissue. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29 (11): 1299-307.
- Fain JN, Nesbit AS, et al. Release in vitro of adipisin, vascular cell adhesion molecule 1, angiotensin 1-converting enzyme, and soluble tumor necrosis factor receptor 2 by human omental adipose tissue as well as by the nonfat cells and adipocytes. *Metabolism* 2007; 56 (11): 1583-90.
- Ferri C, Desideri G, et al. Early upregulation of endothelial adhesion molecules in obese hypertensive men. *Hypertension* 1999; 34 (4 Pt 1): 568-73.
- Fredriksson J, Carlsson E, et al. A polymorphism in the adiponectin gene influences adiponectin expression levels in visceral fat in obese subjects. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30 (2): 226-32.
- Gonzalez-Sanchez JL, Zabena CA, et al. An SNP in the adiponectin gene is associated with decreased serum adiponectin levels and risk for impaired glucose tolerance. *Obes Res* 2005; 13 (5): 807-12.
- Goossens GH, Jocken JW, et al. Short-term beta-adrenergic regulation of leptin, adiponectin and interleukin-6 secretion in vivo in lean and obese subjects. *Diabetes Obes Metab* 2008.
- Guerre-Millo M. Adipose tissue hormones. *J Endocrinol Invest* 2002; 25 (10): 855-61.
- Haffner SM. Pre-diabetes, insulin resistance, inflammation and CVD risk. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 61 Suppl 1: S9-S18.
- Hainer V, Janco A, et al. *Obezita*. Galén, Praha 1997, S. 126.
- Halaas JL, Gajiwala KS, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269 (5223): 543-6.
- Haluzik M, Colombo C, et al. Genetic background (C57BL/6J versus FVB/N) strongly influences the severity of diabetes and insulin resistance in ob/ob mice. *Endocrinology* 2004a; 145 (7): 3258-64.
- Haluzik M, Papezova M, et al. Serum leptin levels in patients with anorexia nervosa before and after partial refeeding, relationships to serum lipids and biochemical nutritional parameters. *Physiol Res* 1999; 48 (3): 197-202.
- Haluzik M, Parizkova J, et al. Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. *Physiol Res* 2004b; 53 (2): 123-9.

- Hauer H. Secretory factors from human adipose tissue and their functional role. *Proc Nutr Soc* 2005; 64 (2): 163-9.
- Hope SA, Meredith IT. Cellular adhesion molecules and cardiovascular disease. Part I. Their expression and role in atherogenesis. *Intern Med J* 2003; 33 (8): 380-6.
- Housova J, Anderlova K, et al. Serum adiponectin and resistin concentrations in patients with restrictive and binge/purge form of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90 (3): 1366-70.
- Kannel WB, D'Agostino RB, et al. Effect of weight on cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 1996; 63 (3 Suppl): 419S-22S.
- Kawanami D, Maemura K, et al. Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 314 (2): 415-9.
- Khorrman-Manesh A, Ahlman H, et al. Long-term outcome of a large series of patients surgically treated for pheochromocytoma. *J Intern Med* 2005; 258 (1): 55-66.
- Kosaki A, Yamada K, et al. Reduced expression of the leptin gene (ob) by catecholamine through a G(S) protein-coupled pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes* 1996; 45 (12): 1744-9.
- Lacinova Z, Dolinkova M, et al. Comparison of Manual and Automatic (MagNA Pure) Isolation Methods of Total RNA from Adipose Tissue. *Mol Biotechnol* 2008; 38 (3): 195-201.
- Lehrke M, Reilly MP, et al. An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans. *PLoS Med* 2004; 1 (2): e45.
- Mahmoudi M, Curzen N, et al. Atherogenesis: the role of inflammation and infection. *Histopathology* 2007; 50 (5): 535-46.
- Martinovic I, Abegunewardene N, et al. Elevated monocyte chemoattractant protein-1 serum levels in patients at risk for coronary artery disease. *Circ J* 2005; 69 (12): 1484-9.
- Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006; 3 (11): e442.
- Nabata A, Kuroki M, et al. C-reactive protein induces endothelial cell apoptosis and matrix metalloproteinase-9 production in human mononuclear cells: Implications for the destabilization of atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis* 2008; 196 (1): 129-35.
- Ouchi N, Kihara S, et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001; 103 (8): 1057-63.
- Patel SB, Reams GP, et al. Leptin: linking obesity, the metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Curr Hypertens Rep* 2008; 10 (2): 131-7.

- Pontiroli AE, Pizzocri P, et al. Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *Eur J Endocrinol* 2004; 150 (2): 195-200.
- Price DT, Loscalzo J. Cellular adhesion molecules and atherogenesis. *Am J Med* 1999; 107 (1): 85-97.
- Rashid MN, Fuentes F, et al. Obesity and the risk for cardiovascular disease. *Prev Cardiol* 2003; 6 (1): 42-7.
- Reilly MP, Lehrke M, et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005; 111 (7): 932-9.
- Shimada K, Miyazaki T, et al. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta* 2004; 344 (1-2): 1-12.
- Singh P, Hoffmann M, et al. Leptin induces C-reactive protein expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27 (9): e302-7.
- Steppan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *J Intern Med* 2004; 255 (4): 439-47.
- Tan MS, Chang SY, et al. Association of resistin gene 3'-untranslated region +62G-->A polymorphism with type 2 diabetes and hypertension in a Chinese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88 (3): 1258-63.
- Taneli F, Yegane S, et al. Increased serum leptin concentrations in patients with chronic stable angina pectoris and ST-elevated myocardial infarction. *Angiology* 2006; 57 (3): 267-72.
- Trayhurn P. Adipose tissue in obesity--an inflammatory issue. *Endocrinology* 2005; 146 (3): 1003-5.
- Tsakadze NL, Sen U, et al. Signals mediating cleavage of intercellular adhesion molecule-1. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287 (1): C55-63.
- Weisberg SP, McCann D, et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112 (12): 1796-808.
- Wu X, Hoffstedt J, et al. Depot-specific variation in protein-tyrosine phosphatase activities in human omental and subcutaneous adipose tissue: a potential contribution to differential insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 (12): 5973-80.
- Yudkin JS, Panahloo A, et al. The influence of improved glycaemic control with insulin and sulphonylureas on acute phase and endothelial markers in Type II diabetic subjects. *Diabetologia* 2000; 43 (9): 1099-106.
- Zelinka T, Petrak O, et al. Elevated inflammation markers in pheochromocytoma compared to other forms of hypertension. *Neuroimmunomodulation* 2007; 14 (1): 57-64.
- Zhang Y, Proenca R, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372 (6505): 425-32.

8. SEZNAM PUBLIKACÍ

Publikace s IF, které jsou podkladem dizertace:

Bosanska L, Petrak O, Zelinka T, Mraz M, Widimsky J jr., Haluzik M. The effect of pheochromocytoma treatment on subclinical inflammation and endocrine function of adipose tissue. *Physiol Res.* 2008 Jul 18. [Epub ahead of print]. IF = cca 1,5

Bosanska L, Michalsky D, Lacinova Z, Dostalova I, Bartlova M, Haluzikova D, Matoulek M, Kasalicky M, Haluzik M. The influence of obesity and different fat depots on adipose tissue gene expression and protein levels of cell adhesion molecules. *Physiological Research*, v tisku. IF = cca 1,5

Krizova J, Dolinkova M, Lacinova Z, Sulek S, Dolezalova R, Housova J, Krajickova J, Haluzikova D, Bosanska L, Papezova H, Haluzik M. Adiponectin and resistin gene polymorphisms in patients with anorexia nervosa and obesity and its influence on metabolic phenotype. *Physiol Res.* 2008;57(4):539-46. Epub 2007 Jul 26. IF = cca 1,5

Anderlova K, Dolezalova R, Housova J, Bosanska L, Haluzikova D, Kremen J, Skrha J, Haluzik M. Influence of ppar-alpha agonist fenofibrate on insulin sensitivity and selected adipose tissue-derived hormones in obese women with type 2 diabetes. *Physiol Res.* 2007; 56(5): 579-86. Epub 2006 Dec 19. IF = cca 1,5

Dolezalova R, Haluzik M, Bosanska L, Lacinova Z, Stulc T, Haluzik M. Effect of PPAR-gama agonist treatment on markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. *Physiol Res.* 2007; 56(6): 741-8. Epub 2006 Nov 6. IF = cca 1,5

Publikace bez IF, které jsou podkladem dizertace:

Bošanská L, Lacinová Z, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Doležalová R, Housová J, Křemen M, Haluzíková D, Matoulek M, Haluzík M. Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.

Čas Lék Česk. 2008; 147(1): 32-7.

Dolinková M, Křížová J, Lacinová Z, Doležalová R, Housová J, Krajíčková J, Bošanská L, Papežová H, Haluzík M. Polymorfismy genů pro adiponectin a rezistin u pacientek s mentální anorexií a obezitou – pilotní studie. Čas Lék Česk. 2006; 145(7): 562-6.

Publikace s IF, bez vztahu k tématu dizertace:

Kremen J, Dolinkova M, Krajickova J, Blaha J, Anderlova K, Lacinova Z, Haluzikova D, Bosanska L, Vokurka M, Svacina S, Haluzik M. Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role in postoperative insulin resistance.

J Clin Endocrinol Metab. 2006 Nov; 91(11): 4620-7. IF = cca 5,49

Hovorka R, Kremen J, Blaha J, Matias M, Anderlova K, Bosanska L, Roubicek T, Wilinska ME, Chassin LJ, Svacina S, Haluzik M. Blood glucose control by a model predictive control algorithm with variable sampling rate vs. a routine glucose management protocol in cardiac surgery patients: a randomized controlled trial. J Clin Endocrinol Metab. 2007 Aug; 92(8): 2960-4. IF = cca 5,49

Roubicek T, Dolinkova M, Blaha J, Haluzikova D, Bosanska L, Mraz M, Kremen J, Haluzik M. Increased angiotensinogen production in epicardial adipose tissue during cardiac surgery: possible role in a postoperative insulin resistance.

Physiol Res. 2007 Nov 30; [Epub ahead of print]. IF = cca 1,5

Publikace bez IF, bez vztahu k tématu dizertace:

Bošanská L, Haluzík M. Vliv blokády renin-angiotenzinového systému na inzulinovou rezistenci a incidenci diabetu: přehled současných znalostí. Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2007, 10(2), p. 68-74.

Roubíček T, Křemen J, Bošanská L, Svačina Š, Haluzík M. Hyperglykémie a inzulinorezistence u kriticky nemocných: příčiny,

důsledky a možnosti léčebného ovlivnění – review. Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2007, 10(3): s. 27-33.

Roubíček T, Křemen J, Bláha J, Matias M, Kopecký P, Rulíšek J, Anderlová K, Bošanská L, Mráz M, Chassin LJ, Hovorka R, Svačina Š, Haluzík M. Pilotní studie pro srovnání počítačového algoritmu s variabilním intervalem měření glykémie a standardního protokolu pro intenzivní inzulínovou terapii v peri- a pooperačním období u kardiochirurgických pacientů. Čas Lék Česk. 2007;146(11):868-73.

Křemen J, Bláha J, Kopecký P, Bošanská L, Kotlíková E, Roubíček T, Anderlová K, Svačina Š, Matias M, Rulíšek J, Hovorka R, Haluzík M. Léčba hyperglykemie u kriticky nemocných pacientů: srovnání standardního protokolu a počítačového algoritmu. Vnitř Lék. 2007 Dec;53(12):1269-73.