



Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce

Sekrece inzulínu u žen se syndromem polycystických ovarií

MUDr. Tereza Grimmichová

Praha 2009

Obsah

Seznam užitých zkratk	str.4
Souhrn	str.5
Summary	str.6
Úvod	
1) Syndrom polycystických ovarii	str.7-8
2) Sekrece inzulínu a diabetes mellitus 2. typu	str.8-9
3) Pulzní sekrece inzulínu	str.10-12
4) Inkretiny	str.12-14
5) Syndrom polycystických ovarii a sekrece inzulínu	str.14-16
Cíle práce	str.17
Soubory a metodika	str.18-20
Výsledky	str.21-23
Diskuse	str.23-29
Závěry	str.30
Literatura	str.31-38
Vlastní publikační činnost	str.39-41

Seznam užitých zkratk

ApEn - approximate entropy
BMI – index tělesné hmotnosti (body mass index)
DM 1- diabetes mellitus 1. typu
DM 2 - diabetes mellitus 2. typu
GIP - glukózo-dependentní inzulínotropní polypeptid
GLP-1 - glukagonu podobný peptid 1 (glukagon-like peptid 1)
HOMA-IR - homeostatic model assessment of insulin resistance
IFG - porušená lačná glykémie (impaired fasting glucose)
IGT - porušená glukózová tolerance (impaired glucose tolerance)
IR - inzulínová rezistence
IS - inzulínová senzitivita
ivGTT - intravenózní glukózový toleranční test
KI - konfidenční interval
LADA - latent autoimmune diabetes in adults
Min- minuta
MODY - maturity onset diabetes of the young
OGIS - oral glucose insulin sensitivity index
oGTT - orální glukózový toleranční test
PCO – polycystické ovarium
PCOS - syndrom polycystických ovarii
PGT - porušená glukózová tolerance
QUICKI - quantitative insulin sensitivity check index
SHBG - pohlavní hormony vázající protein (sex-hormone binding protein)
S _I - index inzulínové senzitivity
VMK - volné mastné kyseliny

Souhrn

Syndrom polycystických ovaríí (PCOS) je jednou z nejčastějších endokrinopatií u 5-10 % žen ve fertilním věku. PCOS se považuje za rizikový faktor rozvoje porušené glukózové tolerance a diabetes mellitus 2. typu. Hyperinzulinémie a inzulinová rezistence je častým nálezem u žen s PCOS. V našich studiích jsme se proto zaměřili na různé aspekty sekrece inzulinu u žen s PCOS. Zvolili jsme i různé vyšetřovací metody a výpočty, které se navzájem doplňují a poskytují podrobnější charakteristiku možné dysfunkce β -buněk. Naším cílem bylo u žen s PCOS 1) vyšetřit jak je funkce β -buněk ovlivněna rodinnou zátěží DM 2, 2) vyšetřit pulzní sekreci inzulinu, 3) vyšetřit sekreci inkretinů a 4) vyšetřit prevalenci poruch sacharidového metabolismu a možnosti jejich predikce.

- 1) Sníženou inzulinovou senzitivitu jsme pozorovali pouze u žen s PCOS, které měly pozitivní rodinnou anamnézu DM 2 ve srovnání se zdravými ženami. Tyto ženy, pokud mají normální glukózovou toleranci, jsou schopny kompenzovat sníženou inzulinovou senzitivitu zvýšenou sekrecí inzulinu.
- 2) Štíhlé ženy s PCOS měly podobnou charakteristiku pulzní sekrece inzulinu až na tendenci k širším pulzům inzulinu ve srovnání se zdravými kontrolami. Inzulinová senzitivita nesouvisela s parametry popisujícími pulzní sekreci inzulinu.
- 3) U štíhlých žen s PCOS jsme pozorovali zvýšenou hladinu GIP a nižší koncentraci aktivního GLP-1 během pozdní fáze oGTT ve srovnání se štíhlými zdravými kontrolami.
- 4) Porušená lačná glykémie byla přítomna u 12 %, PGT u 9,4 % a DM 2 u 1,6 % osob. Nenašli jsme žádný vhodný parametr sloužící k časnému odhalení PGT a/nebo DM 2 u žen s PCOS. Proto doporučujeme provést oGTT u každé pacientky s PCOS.

Summary

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common endocrinopathies occurring in 5-10% women in their fertile years. The incidence of impaired glucose tolerance and diabetes mellitus type 2 is significantly increased in PCOS. Hyperinsulinaemia and insulin resistance are present in a relevant number of PCOS women. In our projects we therefore concentrated on various aspects of insulin secretion in PCOS women. We used different approaches and calculations, which are complementary to each other and provide a more detailed insight into possible beta cell dysfunction. Aims of our studies were 1) examine how the beta cell function is influenced by the family history of DM 2, 2) examine the insulin pulsatile secretion, 3) examine the secretion of incretins and 4) examine the prevalence of glucose intolerance and its potential prediction in PCOS women.

- 1) Decreased insulin sensitivity was observed only in PCOS women with the positive family history of DM 2 in comparison to healthy controls. If these women have normal glucose tolerance, they compensate the decreased insulin sensitivity by the increased insulin secretion.
- 2) Lean PCOS women had similar insulin pulsatile secretion patterns with the exception of broader insulin peaks in comparison to healthy controls. Insulin sensitivity was not associated with any of the parameters describing insulin pulsatile secretion.
- 3) We observed higher GIP and lower active GLP-1 concentrations during the late phase of oGTT in PCOS women in comparison to healthy women.
- 4) Impaired fasting glucose was present in 12 %, IGT in 9,4 % and DM 2 in 1,6 % PCOS women. We did not find any proper parameter, that could be useful for the early detection of IGT and/or DM 2 in women affected with PCOS. Therefore, we recommend to perform oGTT in each patient with the diagnosis of PCOS.

Úvod

1) Syndrom polycystických ovarii

Syndrom polycystických ovarii (PCOS) je jednou z nejčastějších endokrinopatií u 5-10 % žen ve fertilním věku (Carmina a Lobo 1999). Původní diagnostická kritéria definovaná panelem expertů National Institute of Health (NIH) v roce 1990 doporučovala stanovit diagnózu PCOS při přítomnosti hyperandrogenismu a/nebo hyperandrogenémií a chronické anovulaci. Současně musela být vyloučena další onemocnění, která by mohla podobné klinické projevy způsobit. Jsou to především tumory nadledvin nebo ovarii s nadprodukcí androgenů, kongenitální adrenální hyperplázie, hyperprolaktinémie, tyreoidální dysfunkce či Cushingův syndrom (Zawadski a Dunaif 1992). V roce 2003 na konferenci Evropské společnosti pro lidskou reprodukci a embryologii (ESHRE) a Americké společnosti pro reprodukční medicínu (ASRM) v Rotterdamu (Revised 2003 consensus) byla upravena původní diagnostická kritéria. Pro diagnózu PCOS musela být splněna dvě z následujících tří kritérií: 1) oligo- a/nebo anovulace, 2) klinické nebo biochemické známky hyperandrogenismu, 3) sonografický nález polycystických ovarii. V roce 2006 byla Androgen Excess Society navržena modifikace těchto kritérií, podle níž je nezbytnou podmínkou pro stanovení diagnózy PCOS biochemické nebo klinické známky hyperandrogenismu (hirsutismus). Dalším diagnostickým kritériem je přítomnost buď oligoanovulace nebo sonografického obrazu PCO. Jako třetí bod musí být vyloučena onemocnění, která by mohla mít podobné klinické projevy (Azziz et al. 2006).

Podle klasických Adamsových kritérií je obraz PCO přítomen při sonografickém popisu aspoň 8 subkapsulárně uložených folikulárních cyst o průměru do 10 mm a ovariálního stromatu tvořícího více než 25 % objemu ovaria (Adams et al. 1985). Tato kritéria byla opět modifikována ESHRE (Balen et al.

2004). Jako PCO se nověji označuje obraz ovarii, která obsahují aspoň 12 folikulů měřících v průměru 2-9 mm nebo která jsou zvětšená ($> 10 \text{ cm}^3$). Není třeba hodnotit distribuci folikulů ani objem stromatu.

Zásadním symptomem PCOS je nadbytek androgenů, avšak etiologie PCOS zůstává nejasná. Předpokládá se genetický podklad vzhledem k tomu, že je znám familiární výskyt. Pravděpodobně se jedná o oligogenně až polygenně podmíněný syndrom. Studie se shodují, že podstatnou roli hraje ovariální dysfunkce vedoucí k nadbytku androgenů a další genetické defekty regulující sekreci a působení inzulínu a energetický metabolismus. Zevní faktory jako pohybová aktivita či dieta dále ovlivňují projevy PCOS a jejich intenzitu (Franks et al. 1997; Kashar-Miller a Azziz 1999; Abbott et al. 2002).

2) Sekrece inzulínu a diabetes mellitus 2. typu

V patofyziologii vzniku a rozvoje DM 2 se uplatňuje jak porucha sekrece inzulínu, tak inzulínová rezistence (IR). Pro rozvoj poruchy glukózové tolerance je důležitá porucha souhry těchto dvou procesů. Bergman v r. 1981 prvně postuloval zpětnou vazbu mezi inzulínovou senzitivitou a sekrecí inzulínu (Bergman et al. 1981). Tento vztah byl pak potvrzen dalšími autory, kteří prokázali, že parametry popisující sekreci inzulínu ($AIR_{\text{glukóza}}$ (časná odpověď sekrece inzulínu při ivGTT), AIR a slope v argininovém testu) a senzitivitu k inzulínu (S_I při ivGTT) jsou navzájem závislé (Kahn et al. 1993). Tato závislost u vyšetřených zdravých osob byla nejlépe popsána pomocí hyperbolické funkce. Násobek sekrece inzulínu a inzulínové senzitivity (tzv. dispoziční index) je konstantní veličina, pokud je zachována stejná úroveň glukózové tolerance

(Ahren a Pacini 2004). Normální glukózová tolerance je při zhoršení inzulínové senzitivity (IS) udržena za cenu zvýšené sekrece inzulínu.

Je známo, že u řady jedinců s IR se nikdy nerozvine DM 2, protože mají dostatečnou sekreční kompenzaci. IR sama o sobě tedy ke vzniku DM 2 nestačí. Porucha sekrece inzulínu je důležitým mechanismem, který se uplatňuje při vzniku a rozvoji DM 2 (Stumvoll et al. 2007). Funkce beta buněk a schopnost sekreční kompenzace jsou geneticky podmíněné (Elbein et al. 1999). Porucha sekrece inzulínu byla prokazatelná u normoglykemických potomků diabetiků 2. typu v některých studiích častěji než porucha inzulínové senzitivity (Pimenta et al. 1995). V prospektivních studiích pak bylo prokázáno, že IR a porušená sekrece inzulínu jsou nezávislými prediktory poruchy glukózové tolerance (Weyer et al. 2001). V longitudinální studii bylo prokázáno, že sekrece inzulínu u osob, u nichž se v průběhu sledování rozvinul DM 2, poklesla mnohem výrazněji nežli inzulínová senzitivita (Weyer et al. 1999).

Většina pacientů s DM 2 (85-90 %) je obézních s abdominální predispozicí ukládání tuku (Wajchenberg 2000). U pacientů s DM 2, kteří snížili svou tělesnou hmotnost, došlo ke zlepšení inzulínové senzitivity. Naopak nebylo pozorováno zlepšení porušené sekrece inzulínu (Gerich 2000). U pacientů, kteří mají zvýšené riziko rozvoje DM 2 jako jsou příbuzní prvního stupně pacientů s DM 2, je popsána porušená sekrece inzulínu. Naopak IR byla pozorována v některých studiích v podobném zastoupení jak u pacientů s rodinnou zátěží DM 2 tak u zdravých kontrol bez této rodinné anamnézy. Někteří autoři předpokládají, že porucha funkce β -buněk se objevuje časněji před rozvinutím IR, která je více ovlivněna faktory zevního prostředí (Gerich 2003).

3) Pulzní sekrece inzulínu

U mnoha hormonů byla popsána pulzní sekrece, která má význam jak za fyziologických tak za patologických stavů. Inzulín je z β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu uvolňován převážně v pulzech nasedajících na bazální (nepulzní) sekreci (Schmitz et al. 2002). Nalačno tvoří množství inzulínu uvolněné v průběhu pulzů přibližně 70 % celkové sekrece inzulínu. Při stimulaci glukózou se podíl pulzní sekrece inzulínu na celkové sekreci zvyšuje nejméně na 75 % (Porksen 2002; Porksen et al. 1997).

Pulzní sekrece inzulínu je charakterizována rychlými a pomalými (ultradiánními) pulzy. Rychlé pulzy o nízké amplitudě s periodicitou 5-15 min nasedají na pomalé oscilace o větší amplitudě s periodicitou 60-140 min (Porksen 2002). Rychlé pulzy inzulínu mají v portálním řečišti mnohem vyšší amplitudu než posthepatálně v systémovém řečišti. Proto se předpokládá, že rychlé pulzy inhibují zejména jaterní produkci glukózy a že jejich posthepatální efekt na utilizaci glukózy je jen malý (Meneilly et al. 1997; Porksen 2002). Pulzní podání inzulínu ve srovnání s kontinuálním účinněji inhibuje jaterní glukoneogenezi (Bratusch-Marrain et al. 1986; Komjati et al. 1986).

V izolovaných perfundovaných pankreatech jsou rychlé pulzy inzulínu detekovatelné v médiu i při stabilní hladině glukózy. Proto se předpokládá, že rychlé pulzy inzulínu mohou být řízené tzv. intrapancreatickým neuronálním pacemakerem nezávisle na oscilacích glykémie (Stagner et al. 1980). Intrapankreatický neuronální pacemaker je tvořen intrapancreatickými ganglii, které mají spontánní pacemakerovou aktivitu (King et al. 1989). Nervová regulace sekrece inzulínu je důležitá pro koordinovanou pulzní sekreci inzulínu ze všech ostrůvků pankreatu. In vivo se při regulaci rychlých pulzů uplatňuje oscilace glykémie a/nebo nervové vlivy. Při srovnání rychlých pulzů inzulínu nalačno a po stimulaci glukózou je zřejmé že, frekvence rychlých pulzů inzulínu odpovídá na

změnu intervalu podávání infúze glukózy (entrainment); pulzy inzulínu jsou pravidelnější a jsou zřetelněji oddělené (Porksen et al. 2000). Entrainment je definován jako změna frekvence pulzní sekrece inzulínu v reakci na změnu podnětu (např. synchronizace pulzní sekrece inzulínu s periodou 10 min při podání glukózy každou 10 min). Předpokládá se, že samotný neuronální intrapankreatický pacemaker je citlivý na změny hladiny glukózy (Porksen et al. 2000).

Porucha entrainmentu je popisována u DM 2, kde nedochází k odpovídající sekreci inzulínu v odpověď na periodické podání infúze glukózy. Tento jev označujeme jako odpojení oscilací glykémie od oscilací inzulínemie. Odpojení bylo pozorováno již u prediabetických stavů (Hollingdal et al. 2000).

Mezi oscilacemi glykémie a pomalými pulzy inzulínu je jednoduchá zpětná vazba (Sturis et al. 1991). Pomalé pulzy inzulínu ovlivňují periferní využití glukózy. Při supresi endogenní produkce inzulínu somatostatinem byla glykémie výrazněji snižována po pulzním podání inzulínu ve srovnání s konstantní rychlostí podávání inzulínu (Matthews et al. 1983; Schmitz et al. 1986; Paolisso et al. 1991). Některé studie však nepozorovaly významnější účinek pulzně podaného inzulínu (Verdin et al. 1984; Kerner et al. 1988). Rozdílné výsledky mohou být dány odlišným časováním podání inzulínu, dobou trvání studie a optimální hladinou glukagonu (cca 75 pg/ml), která je nutná k účinnosti pulzní sekrece inzulínu (Paolisso et al. 1991; Courtney et al. 2003). Pulzní podání inzulínu snížilo spotřebu inzulínu o 40 % oproti konstantnímu podání u pacientů s DM 1 a DM 2 (Bratusch-Marrain et al. 1986, Paolisso et al. 1988^{a,b}). Pulzní sekrecí je ovlivněn účinek inzulínu (inzulínová senzitivita) v periferních tkáních, což je dáno mj. kinetikou inzulínových receptorů, kdy kontinuální podání inzulínu ve srovnání s pulzním podáním vede k výraznější down-regulaci inzulínových receptorů (Porksen 2002). Méně výrazné oscilace hladin inzulínu popisované u DM 2

mohou pravděpodobně vést k down-regulaci inzulínových receptorů (Lang et al. 1981). Mnoho studií popsalo poruchu pulzní sekrece inzulínu jak u pacientů s DM 2 (Porksen 1999), tak u příbuzných prvního stupně pacientů s DM 2 (O'Rahilly et al. 1988), u obezity (Peiris et al 1992, Zarkovic et al. 2000) nebo u starších jedinců (Meneilly et al. 1999).

4) Inkretiny

Sekrece inzulínu je ovlivněna dalšími substancemi jako jsou např. aminokyseliny, gastrointestinální peptidy a neurotransmitery. Hormonální kontrola zprostředkovaná gastrointestinálními peptidy se významně podílí na regulaci sekrece inzulínu. Inkretiny, glukagon-like peptid 1 (GLP-1) a glukózo-dependentní inzulínotropní polypeptid (GIP), se uvolňují po požití jídla z neuroendokrinních buněk gastrointestinálního traktu. Stimulují glukózou stimulovanou sekreci inzulínu. Při navození stejné hladiny glykémie po perorálním podání glukózy je sekrece inzulínu o 30 - 60 % vyšší než při parenterálním podání glukózy (tzv. inkretinový efekt) (Nauck et al. 1986). Inkretiny zvyšují biosyntézu a aktivují transkripci inzulínového genu. Dále stimulují proliferaci β -buněk, zabraňují jejich apoptóze a podporují neogenesi ostrůvků pankreatu. Koncentrace GIP jsou v periferní cirkulaci desetinásobně vyšší než hladiny GLP-1, avšak GLP-1 je účinnější inkretin. Účinek obou inkretinů má u lidí aditivní charakter (Drucker 2006).

GLP-1 podporuje využití glukózy v játrech a svalové tkáni nezávisle na inzulínu. GLP-1 tlumí sekreci glukagonu přímo ovlivněním receptorů na α -buňkách a/nebo nepřímo stimulací sekrece inzulínu a somatostatinu (Drucker 2006; Wajchenberg 2007). Inhibice sekrece glukagonu pomůže při dosažení normální glykémie či hypoglykémie. GLP-1 má anorexigenní účinek, omezuje příjem potravy a chuť

k jídlu (Ranganath 2008). GLP-1 zpomaluje vyprazdňování žaludku, což vede k nižšímu vzestupu postprandiální glykémie. Současná distenze žaludku slouží jako periferní signál sytosti a snižuje gastrinem stimulovanou sekreci žaludeční kyseliny i exokrinní sekreci pankreatu. Pro žaludeční motilitu a sekreci je důležitá parasympatická inervace, neboť po vagotomii došlo k vymizení těchto GLP-1 účinků (Holst 2007).

GIP postrádá účinky na vyprazdňování žaludku (Vilsboll et al. 2003^a) a ovlivněním receptorů na adipocytech má v tukové tkáni podobné účinky jako inzulin. Zvyšuje utilizaci glukózy, aktivitu lipoproteinové lipázy, syntézu VMK a jejich zabudování do tukové tkáně. Naopak GIP inhibuje lipolýzu (Flatt 2008). Myši s defektním receptorem pro GIP (GIPR^{-/-}) měly méně tukové tkáně, nepřibíraly na váze po příjmu vysokotučné potravy a měly lepší inzulinovou senzitivitu. Nadměrný příjem tuků potravou vede ke zvýšené sekreci GIP. Hypersekrece GIP působí zvýšené ukládání triacylglycerolů do adipocytů, což vede k rozvoji obezity provázené IR a následně DM 2. U lidí GIP při exogenním podání pravděpodobně zvyšuje příjem potravy a snižuje výdej energie (Drucker 2006; Ranganath 2008).

U pacientů s DM 2 je popisována snížená sekrece GLP-1 se zachovanou inzulinotropní aktivitou. Vzhledem k tomu, že pacienti se zvýšeným rizikem rozvoje DM 2 jako jsou příbuzní prvního stupně pacientů s DM 2 a pacientky s gestačním diabetem v anamnéze, neměli porušenou sekreci GLP-1. Předpokládá se, že porucha sekrece GLP-1 je spíše funkčního charakteru vyplývající z metabolického stavu

DM 2. Agonisté GLP-1 a inhibitory dipeptidyl peptidázy IV (prodlužují biologický poločas inkretinů inhibicí jejich degradace) jsou také úspěšně využívány k léčbě

DM 2. Snižují glykémii, hladinu glykovaného hemoglobinu, VMK, tělesnou váhu a chuť k jídlu. Zlepšují také IS (Zander et al. 2002). GIP má naopak u pacientů s

DM 2 sníženou inzulinotropní aktivitu a jeho sekrece byla popisována jako normální, snížená či zvýšená (Flatt 2008). U příbuzných prvního stupně pacientů s DM 2 s normální glukózovou tolerancí byl pozorován snížený inzulinotropní účinek GIP ve srovnání se zdravými kontrolami bez této rodinné anamnézy. Předpokládala se primární genetická porucha účinku GIP (Meier 2001). Nicméně později byla prokázána porucha inzulinotropního účinku GIP nejen u pacientů s DM 2, ale i u pacientů s jinými typy diabetu, jako je DM 1, sekundární diabetes při chronické pankreatitidě, diabetes typu MODY či LADA. Porucha sekrece GIP dle citované studie je spíše následkem metabolického stavu při diabetickém onemocnění, ačkoliv význam genetických faktorů nelze vyloučit (Vilsboll et al. 2003^b). K léčbě DM 2 nelze GIP využít vzhledem k rezistenci β -buněk na jeho účinek (Drucker 2006; Ranganath 2008).

5) Syndrom polycystických ovarií a sekrece inzulinu

PCOS se považuje za rizikový faktor rozvoje porušené glukózové homeostázy. Porušená glukózová tolerance (PGT) se vyskytuje až u 30 % a diabetes mellitus 2. typu až u 10 % těchto žen (Ehrmann et al. 1999; Legro et al. 1999). Hyperinzulinémie a IR je častým nálezem u žen s PCOS. Popisovaná hyperinzulinémií u žen s PCOS zvyšuje produkci ovariálních androgenů. Inzulin zvyšuje také biologickou dostupnost testosteronu supresí syntézy SHBG. Testosteron může nepřímo přispívat k inzulinové rezistenci. Nadbytek androgenů vede k přednostnímu ukládání viscerálního tuku, který je rizikovější pro rozvoj IR, kardiovaskulárního onemocnění a metabolického syndromu (Nestler et al. 1991; Holte 1994). Dále testosteron usnadňuje uvolnění VMK z abdominální tukové tkáně a pravděpodobně přímo snižuje inzulinem

zprostředkovanou utilizací glukózy ve svaly, zvyšuje jaterní glukoneogenezi a snižuje jaterní extrakci inzulínu, což přispívá k periferní hyperinzulinémii (Holte et al. 1995).

Hyperinzulinémie byla u žen s PCOS prvně popsána v 80. letech minulého století (Burghen et al. 1980). Je důsledkem kombinace inzulínové rezistence (IR), kompenzatorní vyšší sekrece inzulínu a snížené clearance inzulínu v játrech (Dunaif 1997; Holte et al. 1994; Holte et al. 1995). U části pacientek s PCOS může být primární porucha spíš v nadměrné sekreci inzulínu než ve snížené inzulínové senzitivitě (Holte et al. 1994). Inzulínová rezistence se vyskytuje u řady, ale ne u všech pacientek s PCOS. Vzájemné souvislosti jsou zastřeny často přítomnou obezitou. Pacientky s PCOS jsou totiž podle různých sestav v 15 - 50 % obézní (Pasquali et al. 2003) a to většinou s preferenční lokalizací tuku v abdominální oblasti. Není vyloučené, že na rozdílných výsledcích studií o výskytu IR u PCOS se podílejí i zřetelné etnické vlivy (např. vyšší výskyt IR a abdominální obezity u hispánsko-americké populace). Práce pocházející z USA nebo Asie popisují IR nezávisle na BMI, tedy u štíhlých i obézních žen, a tak považují IR za poruchu patřící k projevu PCOS (Dunaif et al. 1992; Toprak et al. 2001), zatímco v pracích evropských autorů se setkáváme s názorem, že IR je spíš získaným faktorem v důsledku obezity (Ovesen et al. 1993). Vysvětlením vystupňované sekrece inzulínu může být zvýšená citlivost na glukózu nebo zvýšená celková masa β -buněk. U žen s PCOS jsou popsány nižší hladiny glykovaného hemoglobinu ve spojení s hyperinzulinémií (Holte et al. 1995; Holte 1998).

Porucha pulzní sekrece inzulínu a nepravidelná sekrece inzulínu je považována za časný znak poruchy funkce β -buňky (Bingley et al. 1992; O'Rahilly et al. 1988; Schmitz et al. 2001). Rychlé pulzy inzulínu u žen s PCOS byly hodnoceny v jedné studii popisující inzulínovou pulzní sekreci před a po léčbě ethinyl-estradiolem

v kombinaci s cyproteron-acetátem. Frekvence rychlých pulzů inzulínu a celkové množství uvolněného inzulínu a inzulínu uvolněném během jednoho pulzu byla srovnatelná mezi ženami s PCOS a zdravými kontrolami (Armstrong 2001).

V jediné studii na omezeném souboru pacientek s PCOS nebyla pozorována porušená sekrece inkretinů, i přestože ženy s PCOS měly vyšší koncentraci inzulínu a C-peptidu (Gama et al. 1996).

Cíle práce

- 1) Vyšetřit jak je funkce β -buněk ovlivněna rodinnou zátěží DM 2 u žen s PCOS
- 2) Vyšetřit pulzní sekreci inzulínu u žen s PCOS
- 3) Vyšetřit sekreci inkretinů u žen s PCOS
- 4) Vyšetřit prevalenci poruch sacharidového metabolismu u žen s PCOS a možnosti jejich predikce

Soubory a metodika

1) Ve studii zabývající se rodinnou zátěží DM 2 u pacientek s PCOS a ovlivněním inzulínové sensitivity (IS) a funkce β buněk bylo zahrnuto 22 žen s PCOS, z toho 8 pacientek (věk $27,5 \pm 3,2$ let; BMI $23,54 \pm 6,04$ kg/m²) mělo příbuzného prvního stupně nemocného DM 2 (PCOS RA+) a 14 pacientek (věk $24,2 \pm 4,8$ let; BMI $22,52 \pm 2,8$ kg/m²) bylo bez rodinné anamnézy DM 2 (PCOS RA-). Zdravých kontrol bylo celkově 13 ve věku $28,7 \pm 5,6$ let a s BMI $21,82 \pm 2,24$ kg/m². Byla provedena následující vyšetření: bazální odběry krve nalačno, oGTT, euglykemický hyperinzulinemický clamp a argininový test. Výsledky jsou uvedeny jako průměrné hodnoty \pm SD.

2) Ve studii zabývající se pulzní sekrecí inzulínu bylo celkově vyšetřeno 8 žen s PCOS ve věku 25,1 let (KI 21,8-29,5); BMI 21,9 kg/m² (KI 20,2-23,5) a 7 zdravých žen (věk 30,2 (KI 25,1-38,1) let; BMI 20,1 (KI 18,9-21,2) kg/m²). Obě skupiny pacientek podstoupily nalačno bazální odběry a odběry každou minutu celkově po 60 minut k hodnocení rychlých pulzů inzulínu. Pulzní sekrece inzulínu byla hodnocena dekonvoluční analýzou (software AutoDecon) a pravidelnost sekrece inzulínu pomocí metody approximate entropy (ApEn). Inzulínová senzitivita byla hodnocena indexem QUICKI. Výsledky jsou uvedeny jako průměrné hodnoty a 95% konfidenční interval (KI).

3) Ve studii sledující sekreci inkretinů u žen s PCOS bylo celkově zahrnuto 21 žen s PCOS s normální glukózovou tolerancí a bez rodinné anamnézy DM 2 (věk $25,8 \pm 4,1$ let; BMI $21,6 \pm 1,7$ kg/m²) a 13 zdravých žen (věk $28,5 \pm 7,2$ let; BMI $20,3 \pm 2,5$ kg/m²). Odběry krve nalačno na stanovení hladiny glukózy, inzulínu a C-peptidu proběhly v 0.min před podáním 75 g glukózy při oGTT a dále pokračovaly odběry krve po podání glukózy v 30., 60., 90., 120., 150., a 180.min. Hladiny aktivního GLP-1 a celkového GIP byly stanoveny v 0., 30., 60., 120. a 180. min. IS byla hodnocena nalačno indexem QUICKI a během oGTT za využití OGIS. Výsledky jsou uvedeny jako průměrné hodnoty \pm SD.

4) Ve studii sledující prevalenci inzulínové rezistence a zastoupení poruchy glukózové tolerance a/nebo DM 2 u žen s PCOS bylo celkově zahrnuto 244 žen s PCOS ve věku $27 \pm 7,5$ let s BMI $27,5 \pm 6,9$ kg/m². Tyto ženy byly srovnány s kontrolním souborem zdravých žen (n= 57; $26,8 \pm 5,8$ let; BMI $21,3 \pm 2,1$ kg/m²). Glykémie, kompletní lipidogram, inzulinémie a hladina C-peptidu byla stanovena z bazálního odběru nalačno. Dále ženy podstoupily oGTT. Inzulínová senzitivita byla hodnocena dle HOMA-IR a QUICKI. Inzulínová rezistence byla definována jako hodnota HOMA-IR vyšší než 95. percentil u zdravých kontrol ($2,29$ mmol x mIU/l²). Výsledky jsou uvedeny jako průměrné hodnoty \pm SD

Užité metody a výpočty

HOMA-IR (homeostatic model assessment of insulin resistance) (Matthews et al. 1985): $\text{bazální inzulinémie (mIU/l)} \times \text{bazální glykémie (mmol/l)} / 22,5$

QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index) (Katz et al. 2000):

$1 / ((\log \text{ bazální inzulinémie (mIU/l)}) + \log \text{ bazální glykémie (mg/dl)})$

OGIS (oral glucose insulin sensitivity index) (Mari et al. 2001):

popisuje clearance glukózy při postprandiální části oGTT

Jaterní extrakce inzulinu (Tura et al. 2001): množství inzulinu (%) vstupující do jater: podíl jaterní clearance inzulinu (l/min) a průtoku krve játry (l/min). Jaterní extrakce inzulinu byla počítána bazálně a během oGTT jako molární poměr hladiny C-peptidu k inzulinemii podle „model-derived method“

oGTT (orální glukózový toleranční test): glykémie, inzulinémie a hladina C-peptidu je stanovena z bazálního vzorku krve nalačno. Po podání 75 g glukózy p.o. pokračují odběry krve v 30., 60., 90., 120., 150., a 180. minutě.

Euglykemický hyperinzulinemický clamp (DeFronzo et al. 1979)

Při euglykemickém hyperinzulinemickém clampu je pacientovi zavedena jedna kanyla do kubitální žíly sloužící k infúzi 15% glukózy a současněmu podání inzulinu o rychlosti $1 \text{ mIU} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ s cílem dosáhnout průměrné glykémie 5,0 mmol/l. Druhý žilní vstup je na dorsu ruky a slouží k odběrům arterializované krve (ruka s kanylou je uložena pod vyhřívací poduškou) na stanovení inzulinémie před zahájením clampu, v 90., 105. a 120. minutě vyšetření a glykémie každou 5. min celkově po 120 minut. Uvedené výpočty jsou počítány z 20ti-minutového intervalu mezi 90. a 120. minutou, kdy je dosaženo ustáleného stavu s glykemií přibližně 5,0 mmol/l (CV do 5%).

M: spotřeba glukózy ($\mu\text{mol}/(\text{kg} \cdot \text{min})$) - množství infundované glukózy nutné k udržení cílové glykémie 5,0 mmol/l (CV do 5%)

ISI: index inzulinové senzitivity ($\mu\text{mol} \cdot \text{l}/(\text{kg} \cdot \text{min} \cdot \text{mIU})$) = M/I (I je průměrná inzulinémie ve sledovaném časovém intervalu) zkorigováno na kg váhy

MCRg: metabolická clearance glukózy ($\text{ml}/(\text{kg} \cdot \text{min})$) - podíl množství infundované glukózy nutné k udržení cílové glykémie a průměrné glykémie ve sledovaném časovém intervalu

Argininový test (Larsson et al. 1998)

Při argininovém testu jsou zavedeny kanyly do obou kubitálních žil. Jeden krevní vstup slouží k odběrům krve a podání bolusu argininu a druhý vstup je určen k

podání infúze glukózy. Bazální odběry na stanovení hladiny inzulinu a glukagonu jsou odebrány -5. a -2. minutu, následně je podán bolus 5 g argininu (0. min). Odběry pokračují 2., 3., 4. a 5. minutou po podání argininu. Po dokončení první řady odběrů se začne podávat infúze s 15% glukózou s cílem zvýšit glykémii na 13-15 mmol/l. Po dosažení cílové glykémie se opakuje druhá řada odběrů v stejném schématu jako předchozí odběry.

AIR: akutní odpověď inzulinu na arginin (mIU/l) - průměrná inzulinémie mezi 2.-5. minutou po podání bolusu argininu minus průměrná bazální inzulinémie.

AIR_{gbas}: akutní odpověď inzulinu na arginin při bazální glykémii

AIR_{g14}: akutní odpověď inzulinu na arginin při navozené hyperglykémii (průměr 14 mmol/l)

Slope: $\Delta \text{AIR} / \Delta \text{G}$; $\Delta \text{AIR} = \text{AIR}_{g14} - \text{AIR}_{gbas}$; ΔG je vzestup glykémie vyvolaný infúzí glukózy. Je to ukazatel potenciace sekrece inzulinu při hyperglykémii

Dispoziční index (Kahn et al. 1993): v naší studii je měřen z hodnot ISI (euglykemický hyperinzulinemický clamp), AIR_{gbas}, AIR_{g14} a Slope_{AIR} (argininový test)

Pulzní sekrece inzulinu (Veldhuis a Johnson 1994)

Po zavedení kanyly do kubitální žíly byla krev odebírána každou minutu celkově po 60. minut k hodnocení rychlých pulzů inzulinu. Pulzní sekrece inzulinu byla hodnocena dekonvoluční analýzou (software AutoDecon). **Dekonvoluční analýza** je matematická procedura, která hodnotí simultánně sekreci a eliminaci vybraného hormonu za pomoci konvolučního integrálu (Veldhuis a Johnson 1994). Software AutoDecon dále poskytuje informace o frekvenci pulzů inzulinu během 60 min, intervalu mezi pulzy, množství inzulinu uvolněné během jednoho pulzu (mIU/l), amplitudě pulzu (maximální sekreční výdej v jednom pulzu, mIU/l/min), AUC₀₋₆₀ (plocha pod křivkou, celková sekrece inzulinu během 60 min, mIU/l), poločase eliminace inzulinu, obecném poločase (mIU/min) a bazální sekreci (mIU/l/min). K hodnocení pravidelnosti sekrece inzulinu byla použita metoda **approximate entropy (ApEn)**. Větší pravidelnost (nižší hodnota ApEn) svědčí pro větší autonomii hodnocené hormonální sekrece a naopak větší nepravidelnost (vyšší hodnota ApEn) předpokládá významnější vnější vlivy (Pincus et al. 1999).

Výsledky

- 1) Ve studii zabývající se ovlivněním funkce β -buněk rodinnou zátěží DM 2 měly pacientky s PCOS a s pozitivní rodinnou anamnézou DM 2 (PCOS RA+) signifikantně vyšší hladinu triglyceridů ($p < 0,005$) a nižší hladinu HDL-cholesterolu ($p < 0,005$) ve srovnání s ženami s PCOS bez rodinné zátěže DM 2 (PCOS RA-) a kontrolní skupinou. PCOS RA+ i PCOS RA- měly vyšší hladinu testosteronu ($p < 0,002$) a LH ($p < 0,002$) ve srovnání s kontrolní skupinou. PCOS RA+ měly nižší hladinu DHEAS než PCOS RA- a kontrolní skupina ($p < 0,0001$). Bazální glykémie se nelišila mezi skupinami na rozdíl od bazální inzulinémie, která byla signifikantně vyšší u PCOS ve srovnání se zdravými probandkami ($p < 0,04$). PCOS RA+ měly vyšší hodnoty HOMA-IR ($p < 0,05$) a snížený index inzulinové senzitivity (stanovený euglykemickým clampem) ve srovnání se zdravými kontrolami bez rozdílu mezi PCOS RA- a kontrolní skupinou ($p < 0,07$). AIR_{gbas} při argininovém testu byla zvýšená u PCOS RA+ ve srovnání s PCOS RA- ($p < 0,05$), AIR_{gl4} a slope AIR nebylo odlišné mezi skupinami. PCOS RA- měly signifikantně vyšší hladinu glukagonu ve srovnání se zdravými ženami ($p < 0,02$). PCOS RA+ a PCOS RA- se nelišily mezi sebou v hodnotách dispozičního indexu.
 - 2) Ve studii zabývající se pulzní sekrecí inzulínu měly ženy s PCOS vyšší hladinu testosteronu ($p < 0,02$), prolaktinu ($p < 0,05$), 17-OHP ($p < 0,03$) a estradiolu ($p < 0,05$) a nižší hladinu SHBG ($p < 0,0006$). Nejistili jsem rozdíl v bazální glykémii, inzulinémii, hladině C-peptidu a QUICKI mezi PCOS a zdravými kontrolami. Ženy s PCOS i kontrolní skupina měly průměrnou frekvenci 10 rychlých pulzů inzulínu s rozmezím od 6 do 13 pulzů během 60 minut. Nepozorovali jsme rozdíl v počtu pulzů, bazální sekreci inzulínu, amplitudě pulzů, množství inzulínu uvolněném během jednoho pulzu a intervalu mezi pulzy u pacientek s PCOS ve srovnání s kontrolní skupinou. Poločas eliminace inzulínu jsme stanovili na 3,3 min (KI 2,8-4,1) u žen s PCOS a 3,2 min (KI 2,6-4,1) u kontrol. U žen s PCOS byla tendence celkově k širším pulzům inzulínu určeno tzv. obecným poločasem (1,97 (KI 1,1-3,37) vs 0,89 (KI 0,51-1,49) mUI/min; $p < 0,07$). Bazální sekrece inzulínu korelovala negativně s HDL-cholesterolem ($r = -0,85$; $p < 0,004$), QUICKI ($r = -0,77$; $p < 0,002$) a pozitivně s hladinou triglyceridů ($r = 0,75$; $p < 0,03$). AUC_{0-60} korelovala negativně s QUICKI ($r = -0,99$; $p = 0,0001$), HDL-cholesterolem ($r = -0,89$; $p < 0,0006$) a pozitivně s hladinou triglyceridů ($r = 0,78$; $p < 0,009$). Amplituda pulzu inzulínu ($r = -0,61$; $p < 0,03$) a množství inzulínu uvolněné během jednoho pulzu ($r = -0,59$; $p < 0,03$) korelovaly negativně s QUICKI. Obecný poločas pulzu inzulínu koreloval pozitivně s koncentrací prolaktinu ($r = 0,76$; $p < 0,008$) a kortizolu ($r = 0,64$; $p < 0,03$). Množství inzulínu uvolněné během jednoho pulzu korelovalo pozitivně s hladinou testosteronu ($r = 0,61$; $p < 0,05$) a negativně s SHBG ($r = -0,88$; $p < 0,0004$). Pravidelnost sekrece inzulínu
- hodnocena ApEn se nelišila mezi PCOS a zdravými kontrolami (1,14 (1,095-1,178) vs 1,079 (0,94-1,164); $p < 0,2$). ApEn pozitivně korelovalo s hladinou prolaktinu ($r = 0,68$; $p < 0,03$) a s BMI ($r < 0,04$).
- 3) Ve studii sledující sekreci inkretinů u žen s PCOS nebyla pozorována rozdílná inzulinová senzitivita a jaterní extrakce inzulínu nalačno a během oGTT ve srovnání s kontrolní skupinou. Ženy s PCOS měly signifikantně vyšší hladinu testosteronu ($p < 0,00009$) a index volného testosteronu ($p < 0,002$) než zdravé kontroly, i přestože SHBG nebylo signifikantně rozdílné mezi skupinami. Bazální glykémie byla stejná u žen s PCOS a zdravých kontrol ($p < 0,69$). Ženy s PCOS měly vyšší hladinu C-peptidu než zdravé kontroly ($p < 0,05$) a měly tendenci k vyšší inzulinémii ($p < 0,12$). Hladina celkového GIP byly signifikantně vyšší u žen s PCOS ve srovnání s kontrolní skupinou ($p < 0,001$). Hladina aktivního GLP-1 měly signifikantně odlišný charakter v závislosti na čase během oGTT u žen s PCOS ve srovnání se zdravými ženami. Koncentrace aktivního GLP-1 byly podobné u žen s PCOS a kontrolami během časné fáze oGTT do 60 min. Nicméně hladiny GLP-1 dosáhly signifikantně nižších hladin u žen s PCOS oproti skupině zdravých žen v 180.min ($p < 0,05$). Hladina C-peptidu pozitivně korelovala s celkovou hladinou GIP v 0. ($r = 0,40$; $p < 0,04$), 60.min ($r = 0,46$; $p < 0,01$) a 180.min ($r = 0,60$; $p < 0,002$). Nebyla pozorována korelace mezi GLP-1 a C-peptidem. Celkový GIP ani aktivní GLP-1 nekorelovaly s inzulinem.
 - 4) Ve studii sledující prevalenci poruch sacharidového metabolismu byla IR pozorována celkově u 40,2 % žen s PCOS. Ve skupině bylo 49,2 % štíhlých, 22,9% s nadváhou a 27,9 % obézních žen s PCOS. IR byla nalezena u 14,6 % štíhlých, 42,5 % s nadváhou a u 71,8 % obézních žen s PCOS ($\chi^2 = 61,81$; $p < 0,0001$). Zdravé kontroly měly nadváhu ve 4 % a obezitu v 10,5 %. IR byla přítomna u 7,2 % kontrolních probandek. Inzulin-rezistentní pacientky s PCOS byly ve srovnání s IS pacientkami signifikantně starší ($p < 0,003$), obéznější ($p < 0,0001$) a měly vyšší jak systolický ($p < 0,0001$) tak diastolický tlak ($p < 0,0001$). Měly také vyšší hladinu triglyceridů ($p < 0,02$), celkového cholesterolu ($p < 0,05$), lačnou glykémii ($p < 0,0001$), inzulinémii ($p < 0,0001$), hladinu C-peptidu ($p < 0,0001$) a nižší koncentraci HDL-cholesterolu ($p < 0,01$). Inzulin-rezistentní a inzulin-senzitivní pacientky s PCOS se nelišily v hladinách celkového testosteronu, androstendionu, 17-hydroxy-progesteronu, estradiolu, LH a FSH. Inzulin-rezistentní ženy s PCOS však měly signifikantně nižší hladinu SHBG ($p < 0,0001$) a vyšší index volného testosteronu ($p < 0,000001$). Porucha glukózové tolerance (PGT) byla zjištěna u 23 žen s PCOS (9,4 %) a DM 2 u 4 žen s PCOS (1,6 %). Porušená lačná glykémie (IFG) byla pozorována u 30 žen s PCOS (12,3 %); oGTT u těchto žen odhalilo poruchu glukózové tolerance u 6 pacientek a DM 2 u

jedné pacientky. Pro predikci PGT/DM 2 jsme využili antropometrické, klinické a biochemické parametry z bazálních odběrů krve. Hladina cholesterolu (s hraniční hodnotou 4,19 mmol/l) dosáhla senzitivity 91,7 % a specificity 38,7 %, sérová hladina triglyceridů (0,705 mmol/l) senzitivity 91,7 % a specificity 38,7 %, systolický tlak (110 mmHg) senzitivity 90 % a specificity 25 % a diastolický tlak (69,1 mmHg) senzitivity 91,7 % a specificity 28 %. Hodnota HOMA-IR 0,673 měla senzitivitu 92,6 %, ale specificita dosáhla pouze 11 %.

Diskuse

Syndrom polycystických ovaríí se považuje za rizikový faktor rozvoje porušené glukózové tolerance a diabetes mellitus 2. typu (Ehrmann et al. 1999; Legro et al. 1999). V našich studiích jsme se proto zaměřili na různé aspekty sekrece inzulínu u žen s PCOS. Zvolili jsme i různé vyšetřovací metody a výpočty, které se navzájem doplňují a poskytují podrobnější charakteristiku možné dysfunkce β -buněk.

Ve první studii jsme sledovali ovlivnění funkce β -buněk rodinnou zátěží DM 2. IS byla měřena pomocí hyperinzulinemického euglykemického clampu a sekrece inzulínu byla hodnocena argininovým testem. Získali jsme tak dva vzájemně nezávislé parametry popisující IS a sekreci inzulínu umožňující výpočet dispozičního indexu. Bazální inzulinémie byla signifikantně vyšší u žen s PCOS ve srovnání se zdravými kontrolami. U žen s PCOS, které měly rodinnou zátěž DM 2 jsme prokázali sníženou inzulinovou senzitivitu, nicméně dispoziční index se nelišil od PCOS RA-. Předpokládali jsme, že u žen s PCOS RA+ nalezneme poruchu sekrece inzulínu, ale tento předpoklad nebyl potvrzen. Pouze sekrece inzulínu po

podání bolusu argininu při bazální glykémii byla vyšší u PCOS RA+ než PCOS RA-. Kompenzační sekrece inzulínu se nelišila mezi PCOS a zdravými kontrolami. Naše výsledky jsou v souladu se studiemi popisujícími neporušený kompenzační mechanismus u osob s normální glukózovou tolerancí (Kahn et al. 1993). Studie u žen s PCOS jsou diskrepantní. Některé práce popisují snížený dispoziční index obecně bez závislosti na obezitě či rodinné anamnéze DM 2 (Dunaif a Finegood 1996), zatímco jiní autoři pozorovali zhoršenou funkci β -buněk pouze u pacientek s PCOS s rodinnou anamnézou DM 2 (Ehrmann et al. 1995). Další autoři popsali zvýšenou časnou fázi sekrece inzulínu a zvýšený dispoziční index u štíhlých i obézních pacientek s PCOS. Tato studie nebrala v potaz rodinnou anamnézu DM 2 (Holte et al. 1994).

Ve druhé studii jsme zvolili ne zcela běžně využívané hodnocení pulzní sekrece inzulínu a pravidelnosti sekrece inzulínu. Sledovali jsme rychlé pulzy inzulínu, které mají důležitou roli při regulaci glykémie. Dále jsme hodnotili pravidelnost sekrece inzulínu vypovídající o možných zevních vlivech. Předpokládá se, že porucha pulzní sekrece inzulínu se objevuje časně již u prediabetických stavů ještě dříve než je prokazatelná porušená první fáze sekrece inzulínu (O'Rahilly et al. 1988; Porksen 2002). Nepozorovali jsme rozdíl mezi počtem a amplitudou pulzů inzulínu, množstvím inzulínu uvolněného během jednoho pulzu, intervalem mezi pulzy a pravidelností sekrece inzulínu. Ženy s PCOS měly tendenci k širším pulzům inzulínu. Nepravidelnější sekrece inzulínu (vyšší hodnota ApEn) a širší pulzy inzulínu korelovaly pozitivně s hladinami prolaktinu.

Za podmínek in vitro exprimují β -buňky receptory pro prolaktin. Prolaktin podporuje růst ostrůvků pankreatu a stimuluje sekreci inzulínu (Ben-Jonathan et al. 2006). Prolaktin také reguluje inzulínovou senzitivitu. Ženy s PCOS a hyperprolaktinemií byly více inzulín-rezistentní než ženy s PCOS a s normální hladinou prolaktinu (Bahceci et al. 2003).

Pozorovali jsme pozitivní korelaci mezi hodnotami ApEn a BMI. Naše výsledky jsou v souladu s jinými autory, kteří popisují méně pravidelnou sekreci inzulínu

u pacientů s obezitou a úpravu pravidelnosti sekrece inzulínu po redukci váhy (Zarkovic et al. 2000).

K určení inzulínové senzitivity u žen s PCOS a zdravých kontrol jsme využili indexu QUICKI. Pacientky s PCOS i kontroly se nelišily v IS. Pozorovali jsme negativní korelaci mezi IS a bazální sekrecí inzulínu. Naopak nebyla prokazatelná žádná korelace mezi IS a frekvencí nebo intervalem inzulínových pulzů. Výsledky studií popisujících vztah mezi IS měřeno euglykemickým clampem a frekvencí inzulínových pulzů se rozcházejí. Jedna ze studií uvádí, že zvýšená frekvence rychlých pulzů inzulínu korelovala pozitivně s tíží IR u pacientů s abdominální obezitou. Počet rychlých pulzů inzulínu se snížil a IS se upravila po redukci váhy (Peiris et al. 1992). Na druhou stranu, frekvence inzulínových pulzů nekorelovala s IS u zdravých kontrol (Courtney et al. 2003) nebo u žen s PCOS (Armstrong et al. 2001). Rozdílné výsledky mohou být způsobeny odlišným souborem pacientek a/nebo použitím různých metod hodnotících pulzní sekreci inzulínu.

V další studii jsme se zaměřili na roli inkretinů v patogenezi poruchy sacharidového metabolismu u žen s PCOS. Jediná studie popisující sekreci inkretinů u malé skupiny štíhlých žen s PCOS nenalezla rozdíl v hladinách GIP nebo GLP-1 mezi PCOS a kontrolami, i přestože ženy s PCOS měly vyšší koncentraci inzulínu a C-peptidu (Gama et al. 1996). V naší studii štíhlé ženy

s PCOS měly zvýšené hladiny celkového GIP a C-peptidu během oGTT ve srovnání se zdravými kontrolami. Hladina celkového GIP, na rozdíl od hladin aktivního GLP-1, signifikantně korelovala s koncentrací C-peptidu. Důvod nepřítomné korelace mezi GLP-1 a inzulínem či C-peptidem není jasný. Obě skupiny pacientek měly stejnou IS vypočítanou na lačno (QUICKI) i během oGTT (OGIS). Jiní autoři také popsali zvýšenou hladinu C-peptidu během oGTT, která nebyla doprovázená sníženou IS měřenou euglykemickým clampem u žen s PCOS (Ciampelli et al. 1997). Aktivní GLP-1 prokazoval signifikantně odlišnou charakteristiku v závislosti na čase u žen s PCOS ve srovnání s kontrolní skupinou. GLP-1 koncentrace byly podobné u žen s PCOS a kontrolami v časně fázi oGTT do 60 min, ale hladina GLP-1 dosáhla signifikantně nižších hladin u žen s PCOS ve srovnání se zdravými ženami v 180 min oGTT. Ačkoliv se jedná o zajímavý výsledek, nejsme schopni tento fenomén jasně vysvětlit. Regulace sekrece GLP-1 není plně objasněna.

Rozdílné výsledky našich vyšetření v porovnání se studií Gama et al. (Gama et al. 1996) mohou být dány malým souborem pacientek a/nebo odlišnou metodou stanovení inkretinů. Na druhou stranu jsou naše výsledky souhlasné s autory popisující zvýšené hladiny GIP a snížené koncentrace

GLP-1 u pacientů s DM 2 (Jones et al. 1989; Vilsbolls et al. 2001; Holst a Gromada 2004). U osob s porušenou glukózovou tolerancí i u zdravých příbuzných prvního stupně pacientů s DM 2 byla podobně pozorována při oGTT zvýšená hladina celkového GIP doprovázená zvýšenou hladinou C-peptidu (Theodorakis et al. 2004). Jedna z hypotéz vysvětlující zvýšené hladiny C-peptidu u žen s PCOS uvažuje nadměrnou aktivitu entero-inzulární osy (Holte 1998). Můžeme předpokládat, že zvýšená sekrece GIP nadměrně stimuluje β -buňky k produkci většího množství inzulínu. Nepřiměřeně zvýšená sekrece inzulínu pak při normální IS vede ke snížení glykémie. Pro tuto hypotézu svědčí nižší hladiny glykovaného hemoglobinu (Holte et al. 1994) a snížené vnímání hypoglykemických symptomů (Gennarelli et al. 1997) prokázané u žen s PCOS. Hladina GIP může být zvýšená jako kompenzace jeho snížené aktivity. Snížený inzulínotropní efekt GIP byl popsán nejen u pacientů DM 2, ale také u jejich příbuzných prvního stupně s normální glukózovou tolerancí (Meier et al. 2001). Proto se předpokládalo, že porucha GIP je primárním genetickým defektem DM 2. Při vyšetření širšího spektra pacientů s různými typy DM, byla nalezena snížená odpověď na podání GIP také u osob s diabetem typu MODY nebo se sekundárním diabetem (Vilsboll et al. 2003^b). Porušená aktivita GIP může tedy být naopak důsledkem metabolického stavu při onemocnění DM (Nauck et al. 2004).

Jak již bylo zmíněno dříve, u žen s PCOS je zvýšené riziko rozvoje PGT a/nebo DM 2. Stanovením pouze lačné glykémie nemusíme zachytit až 30% pacientů s DM 2 a nelze stanovit diagnózu porušené glykémie nalačno (WHO 2006). Proto je doporučováno provést oGTT bez ohledu na BMI u

každé pacientky při stanovení diagnózy PCOS a dále každé 2-3 roky (Salley et al. 2007). V poslední studii jsme použili data shromážděná v dřívějších letech na souboru 244 pacientek s PCOS vyšetřených pomocí oGTT a hodnotili jsme výskyt poruch glukozové homeostázy a možnosti jejich predikce z jednoduchých klinických a biochemických parametrů. Ke stanovení IS jsme využili jednoduchého výpočtu z bazálních hodnot inzulínu a glykémie tzv. HOMA-IR. Porušenou lačnou glykémii jsem pozorovali u 12 %, PGT u 9,4 % a DM 2 u 1,6 % žen s PCOS. Inzulínová rezistence byla přítomna u 40 % žen s PCOS a u 7,2 % zdravých kontrol. Prevalence IR úzce korelovala s obezitou. Inzulín-rezistentní ženy s PCOS oproti inzulín-senzitivním byly starší, obezdnější a měly významnější výskyt rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění (vyšší hodnoty krevního tlaku, celkového cholesterolu, triglyceridů a nižší hladinu HDL-cholesterolu). Vyšší výskyt IR je popisován u obezdných PCOS pacientek (Deugarte et al. 2005; Carmina a Lobo 2004). Naše ženy s PCOS byly celkově štíhlejší, což může vysvětlovat menší procento inzulín-rezistentních pacientek ve srovnání s uvedenými studiemi. Nižší výskyt IR může být také způsoben rozdílem mezi námi použitými diagnostickými kritérii PCOS dle ESHRE/ASMR ve srovnání s NIH kritérii v citovaných studiích. Je známo, že u některých fenotypů PCOS dle definice ESHRE/ASMR není IR doprovodným symptomem. Na druhou stranu, 40 % výskyt IR může být nadhodnocen. Tzv. cutoff point pro IR je stanoven dle kontrolní skupiny žen, které se přihlásily na inzerát o vyšetření glycidového metabolismu. Mohlo by se jednat o ženy, které se více

zajímají o zdravý životní styl a ochotněji se zúčastňují podobných studií. Hodnoty IR u nich mohou být nižší než v běžné populaci.

Pokusili jsme se také o nalezení biochemických či klinických parametrů, které by mohly sloužit k časnému odhalení pacientek se zvýšeným rizikem rozvoje poruchy glukózového metabolismu. U žen s PCOS byla nejvyšší senzitivita s 8-10 % falešně negativní chybou pozorována pro hodnoty celkového cholesterolu, triglyceridů, bazální glykémie, systolického a diastolického tlaku v normálním rozmezí, nicméně specifická byla nízká, což je nevyhovující pro screeningové vyšetření. Tzv. cutoff hodnota HOMA-IR 0,7 prokazovala nejvyšší senzitivitu pro stanovení poruchy sacharidového metabolismu, nicméně specifická byla příliš nízká, neboť zachytila i řadu tzv. rizikových žen, které mají normální výsledek při oGTT. Proto jsme uzavřeli, že ani tento ukazatel nelze využít jako screeningové vyšetření.

Závěr

- 1) Sníženou inzulínovou senzitivitu jsme pozorovali pouze u žen s PCOS, které měly pozitivní rodinnou anamnézu DM 2 ve srovnání se zdravými ženami. Tyto ženy, pokud mají normální glukózovou toleranci, jsou schopny kompenzovat sníženou inzulínovou senzitivitu zvýšenou sekrecí inzulínu.
- 2) Štíhlé ženy s PCOS měly podobnou charakteristiku pulzní sekrece inzulínu až na tendenci k širším pulzům inzulínu ve srovnání se zdravými kontrolami. Prolaktin, kortizol a androgeny měly vztah k jednotlivým parametrům charakterizující pulzní sekreci inzulínu. Inzulínová senzitivita nesouvisela s parametry popisujícími pulzní sekreci inzulínu.
- 3) U štíhlých žen s PCOS jsme pozorovali zvýšené hladiny C-peptidu, celkového GIP a nižší koncentraci aktivního GLP-1 během pozdní fáze oGTT ve srovnání se štíhlými zdravými kontrolami.
- 4) Z jednoduchých klinických a biochemických parametrů (antropometrie, krevní tlak, glykémie nalačno, lipidogram) neměl u žen s PCOS žádný dostatečnou senzitivitu a specifickou, aby mohl být využit k predikci PGT a/nebo DM 2. Proto doporučujeme používat diagnostický oGTT u všech pacientek s PCOS.

Literatura:

Revised 2003 consensus diagnostic criteria and long term health risks related to polycystic ovary syndrome (2004). *Fertil Steril* 81; 19-25.

Abbott, D.H., Dumesic, D.A., Franks, S. (2002). A developmental origin of polycystic ovary syndrome—a hypothesis. *J Endocrinol.* 174: 1-5.

Adams, J., Franks, S., Polson, D. W., Mason, H. D., Abdulwahid, N., Tucker, M., Morris, D. V., Price, J., Jacobs, H. S. (1985). Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin releasing hormone. *Lancet* 2(8469-70), 1375-1379.

Ahren, B., Pacini, G. (2004). Importance of quantifying insulin secretion in relation to insulin sensitivity to accurately assess beta cell function in clinical studies. *European Journal of Endocrinology*, 150 (97-104).

Armstrong, V.L., Wiggam, M.I., Ennis, C.N., Sheridan, B., Traub, A.I., Atkinson, A.B., Bell, P.M. (2001). Insulin action and insulin secretion in polycystic ovary syndrome treated with ethinyl oestradiol/cyproterone acetate. *Qjm* 94: 31-37.

Azziz, R., Carmina, E., Dewailly, D., Diamanti-Kandarakis, E., Escobar-Morreale H.F., Futterweit, W., Janssen, O.E., Legro, R.S., Norman, R.J., Taylor A.E., Witchel, S.F. (2006). Androgen Excess Society: Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* Nov; 91(11):4237-45.

Bahceci, M., Tuzcu, A., Bahceci, S., Tuzcu, S. (2003). Is hyperprolactinemia associated with insulin resistance in non-obese patients with polycystic ovary syndrome? *J Endocrinol Invest* 26: 655-659.

Balen, A.H., Laven, J.S., Tan, S.L., Dewailly, D. (2003). Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* Nov-Dec; 9(6):505-14.

Ben-Jonathan, N., Hugo, E.R., Brandebourg, T.D., Lapensee, C.R.(2006). Focus on prolactin as a metabolic hormone. *Trends Endocrinol Metab* 17: 110-116.

Bergman, R. N., L. S. Phillips, et al. (1981). Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man: measurement of insulin sensitivity and beta-cell glucose sensitivity from the response to intravenous glucose. *J Clin Invest* 68(6): 1456-67.

Boden, G., Shulman, G.I. (2002). Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. *Eur J Clin Invest* 32(Suppl 3): 14-23.

Bratusch-Marrain, P.R., Komjati, M., Waldhausl, W.K. (1986). Efficacy of pulsatile versus continuous insulin administration on hepatic glucose production and glucose utilization in type I diabetic humans. *Diabetes*, Vol 35, Issue 8 922-926.

Burghen, G. A., Givens, J. R., Kitabchi, A. E. (1980). Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 50(1), 113-116.

Carmina, E., Lobo, R. A. (1999). Polycystic ovary syndrome (PCOS): arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(6), 1897-1899.

Carmina, E., Lobo, R. A. (2004). Use of fasting blood to assess the prevalence of insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 82:661-5.

Courtney, C.H., Atkinson, A.B., Ennis, C.N., Sheridan, B., Bell, P.M. (2003). Comparison of the priming effects of pulsatile and continuous insulin delivery on insulin action in man. *Metabolism* 52: 1050-1055.

Ciampelli, M., Fulghesu, A.M., Cucinelli, F., Pavone, V., Caruso, A., Mancuso, S., Lanzone, A. (1997). Heterogeneity in beta cell activity, hepatic insulin clearance and peripheral insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction.* 12 1897-1901.

DeFronzo, R.A., Tobin, J.D., Andres, R. (1979). Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol. Sep*; 237(3): E214-23.

Deugarte, C.M., Bartolucci, A.A., Azziz, R. (2005) Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil Steril* 83:1454-60.

Diamanti-Kandarakis, E., Argyrakopoulou, G., Economou, F., Kandaraki, E., Koutsilieris, M. (2008). *J Steroi Biochem Mol Biol*, 109: 242-246.

Drucker, D.J. (2006). The biology of incretin hormones. *Cell Metabolism*, Mar., 3:153-165.

Drucker, D.J. (2007). The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J Clin Invest*, Jan; 117(1).

Dunaif, A., Segal, K. R., Shelley, D. R., Green, G., Dobrjansky, A., Licholai, T. (1992). Evidence for distinctive and intrinsic defects in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes*, 41(10), 1257-1266.

Dunaif, A. a Finegood, DT. (1996). β -cell dysfunction independent of obesity and glukose intolerance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 81: 942-7.

Dunaif, A. (1997). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev.* 18(6), 774-800.

Ehrmann, D. A., Barnes, R. B., Rosenfield, R. L., Cavaghan, M. K., Imperial, J. (1999). Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care*, 22(1), 141-146.

Ehrmann, DA., Kasza, K., Azziz, R., Legro, RS., Ghazzi, MN. (2005) Effects of race and family history of type 2 diabetes on metabolic status of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 66-71.

Elbein, S. C., S. J. Hasstedt, et al. (1999). Heritability of pancreatic beta-cell function among nondiabetic members of Caucasian familial type 2 diabetic kindreds. *J Clin Endocrinol Metab* 84(4): 1398-403.

Elbein, C.S, Wegner, K., Kahn, S.E. (2000). Reduced β -cell compensation to the insulin resistance associated with obesity in members of Caucasian familial type 2 diabetic kindreds. *Diabetes Care* 23:221-227.

Ferrannini, E. (1998). Insulin resistance versus insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes mellitus: problems and prospects. *Endocr Rev* 19: 477-90.

Flatt, P.R. (2008). Dorothy Hodgkin Lecture 2008. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) revisited: a new therapeutic target for obesity-diabetes? *Diabet Med*. 2008 Jul;25(7):759-64.

Franks, S., Gharani, N., Waterworth, D., Batty, S., White, D., Williamson, R., McCarthy, M. (1997). The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* 12, 2641-2648.

Gama, R, Norris, F., Wright, J., Morgan, L., Hampton, S., Watkins, S., Marks, V. (1996). The entero-insular axis in polycystic ovarian syndrome. *Annals of Clinical Biochemistry*. 33 (Pt 3) 190-195.

Gambineri, A., Pelusi, C., Vicennati, V., Pagotto, U., Pasquali, R. (2002). Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int J Obe*, 26: 883-896.

Gennarelli, G., Holte, J., Stridsberg, M., Niklasson, F., Berne, C., Backstrom, T. (1997). The counter-regulatory response to hypoglycaemia in women with the polycystic ovary syndrome. *Clinical Endocrinology (Oxf)*. 46 167-174.

Gerich, J.E. (2000). Insulin resistance is not necessarily an essential component of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol. Metab* 85: 2113-2115.

Gerich, J.E. (2003). Contributions of insulin resistance and insulin-secretory defects to the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc* 78: 447-456.

Hollingsdal, M., Juhl, C. B., Pincus, S. M., Sturis, J., Veldhuis, J. D., Polonsky, K. S., Porksen, N., Schmitz, O. (2000). Failure of physiological plasma glucose excursions to entrain high frequency pulsatile insulin secretion in type 2 diabetes. *Diabetes*, 49(8), 1334-1340.

Holst, J.J., Gromada J. (2004). Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 287 E199-206.

Holte, J., Bergh, T., Berne, C., Berglund, L., Lithell, H. (1994). Enhanced early insulin response to glucose in relation to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome and normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*, 78(5), 1052-1058.

Holte, J., Bergh, T., Berne, C., Wide, L., Lithell, H. (1995). Restored insulin sensitivity but persistently increased early insulin secretion after weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 80(9), 2586-2593.

Holte, J. (1998). Polycystic ovary syndrome and insulin resistance: Thrifty genes struggling with over-feeding and sedentary life style? *J. Endocrinol. Invest*. 21:589-601.

Johnson, M.L., Virostko, A., Veldhuis, J.D., Evans, W.S. (2004). Deconvolution analysis as a hormone pulse-detection algorithm. *Methods Enzymol*. 384:40-54.

Jones, I.R., Owens, D.R., Luzio, S., Williams, S., Hayes T.M. (1989). The glucose dependent insulinotropic polypeptide response to oral glucose and mixed meals is increased in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 32 668-677.

Kahn, S. E., Prigeon, R. L., McCulloch, D. K., Boyko, E. J., Bergman, R. N., Schwartz, M. W., Neifing, J. L., Ward, W. K., Beard, J. C., Palmer, J. P. (1993). Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function. *Diabetes*, 42(11), 1663-1672.

Katz, A., Namgi, S.S., Mather, K., Baron, A.D., Follmann, D.A., Sullivan, G., Quon, M.J. (2000). Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. Jul;85(7):2402-10.

Kerner, W., Bruckel, J., Zier, H., Arias, P., Thun, C., Moncayo, R., Pfeiffer, E.F. (1988). Similar effects of pulsatile and constant intravenous insulin delivery. *Diabetes Res Clin Pract*. 4: 269-274.

Komjati, M., Bratusch-Marrain, P., Waldhausl, W. (1986). Superior efficacy of pulsatile versus continuous hormone exposure on hepatic glucose production in vitro. *Endocrinology*, Jan;118(1):312-9.

Larsson, H., Ahren, B. (1998). Glucose-dependent arginine stimulation test for characterization of islet function: study on reproducibility and priming effect of arginine. *Diabetologia*; Jul;41(7):772-7

Legro, R. S., Kusanman, A. R., Dodson, W. C., Dunaif, A. (1999). Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance

in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(1), 165-169.

Mari, A., Pacini, G., Murphy, E., Ludvik, B., Nolan, J.J. (2001). A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care*, Mar; 24(3):539-48.

Matthews, D.R., Naylor, B.A., Jones, R.G., Ward, G.M., Turner, R.C. (1983). Pulsatile insulin has greater hypoglycemic effect than continuous delivery. *Diabetes*, 32: 617-621.

Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., Turner, R.C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, Jul;28(7):412-9.

Meier, J.J., Hucking, K., Holst, J.J., Deacon, C.F., Schmiegel, W.H., Nauck, M.A. (2001). Reduced insulinotropic effect of gastric inhibitory polypeptide in first-degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Diabetes*, 50; 2497-2504.

Meneilly, G. S., Ryan, A. S., Veldhuis, J. D., Elahi, D. (1997). Increased disorderliness of basal insulin release, attenuated insulin secretory burst mass, and reduced ultradian rhythmicity of insulin secretion in older individuals. *J Clin Endocrinol Metab*, 82(12), 4088-4093.

Mohlig, M., Spranger, J., Ristow, M., Pfeiffer, A.F., Schill, T., Schloesser, H.W., et al. (2006). Predictors of abnormal glucose metabolism in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 154:295-301.

Nauck, M. A., Homberger, E., Siegel, E. G., Allen, R. C., Eaton, R. P., Ebert, R., Creutzfeldt, W. (1986). Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab*, 63(2), 492-498.

Nauck, M.A., Baller, B., Meier, J.J. (2004). Gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes*, Dec; 53(3): S190-6.

O'Rahilly, S., Turner, R. C., Matthews, D. R. (1988). Impaired pulsatile secretion of insulin in relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med*, 318(19), 1225-1230.

Ovesen, P., Moller, J., Ingerslev, H. J., Jorgensen, J. O., Mengel, A., Schmitz, O., Alberti, K.G., Moller, N. (1993). Normal basal and insulin-stimulated fuel metabolism in lean women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 77(6), 1636-1640.

Paolisso, G., Sgambato, S., Torella, R., Varricchio, M., Scheen, A., D'Onofrio, F., Lefebvre, P.J. (1988^a). Pulsatile insulin delivery is more efficient than continuous infusion in modulating islet cell function in normal subjects and patients with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 66:1220-1226.

Paolisso, G., Sgambato, S., Gentile, S., Memoli, P., Giugliano, D., Varricchio, M., D'Onofrio, F. (1988^b). Advantageous metabolic effects of pulsatile insulin delivery in noninsulin-dependent diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 67: 1005-1010.

Paolisso, G., Scheen, A. J., Giugliano, D., Sgambato, S., Albert, A., Varricchio, M., D'Onofrio, F., Lefebvre, P. J. (1991). Pulsatile insulin delivery has greater metabolic effects than continuous hormone administration in man: importance of pulse frequency. *J Clin Endocrinol Metab*, 72(3), 607-615.

Pasquali, R., Pelusi, C., Genhini, S., Cacciari, M., Gambineri, A. (2003). Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod Update*, 9(4), 359-372.

Peiris, A. N., Stagner, J. I., Vogel, R. L., Nakagawa, A., Samols, E. (1992). Body fat distribution and peripheral insulin sensitivity in healthy men: role of insulin pulsatility. *J Clin Endocrinol Metab*, 75(1), 290-294.

Pimenta, W., M. Korytkowski, et al. (1995). Pancreatic beta-cell dysfunction as the primary genetic lesion in NIDDM. Evidence from studies in normal glucose-tolerant individuals with a first-degree NIDDM relative. *Jama* 273(23): 1855-61.

Pincus, S. M., Hartman, M. L., Roelfsema, F., Thorner, M. O., Veldhuis, J. D. (1999). Hormone pulsatility discrimination via coarse and short time sampling. *Am J Physiol*, 277(5Pt 1), E948-957.

Polonsky, K. S. (1993). Defects in beta-cell function in functional ovarian hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab*, 76(5), 1241-1247.

Porksen, N., Nyholm, B., Veldhuis, J. D., Butler, P. C., Schmitz, O. (1997). In humans at least 75% of insulin secretion arises from punctuated insulin secretory bursts. *Am J Physiol*, 273(5 Pt 1), E908-914.

Porksen, N., Juhl, C., Hollingdal, M., Pincus, S. M., Sturis, J., Veldhuis, J. D., Schmitz, O. (2000). Concordant induction of rapid in vivo pulsatile insulin secretion by recurrent punctuated glucose infusions. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 278(1), E162-170.

Porksen, N. (2002). The in vivo regulation of pulsatile insulin secretion. *Diabetologia*, 45(1), 3-20.

Ranganath, L.R. (2008). Incretins: Pathophysiological and therapeutic implications of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1. *J Clin Pathol*, 2008 Apr;61(4):401-9.

Salley, K.E., Wickham, E.P., Cheang, K.I., Essah, P.A., Karjane, N.W., Nestler, J.E. (2007). Glucose intolerance in polycystic ovary syndrome: a position statement of the Androgen Excess Society. *J Clin Endocrinol Metab*, Dec;92(12):4546-56.

- Schmitz, O., Arnfred, J., Nielsen, O.H., Beck-Nielsen, H., Orskov, H. (1986). Glucose uptake and pulsatile insulin infusion: euglycaemic clamp and [3-3H]glucose studies in healthy subjects. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 113: 559-563.
- Schmitz, O., Brock, B., Hollingdal, M., Juhl, C. B., Porksen, N. (2002). High-frequency insulin pulsatility and type 2 diabetes: from physiology and pathophysiology to clinical pharmacology. *Diabetes Metab*. 28(6 Suppl), 4S14-20.
- Schmitz, O., Juhl, C. B., Hollingdal, M., Veldhuis, J. D., Porksen, N., Pincus, S. M. (2001). Irregular circulating insulin concentrations in type 2 diabetes mellitus: an inverse relationship between circulating free fatty acid and the disorderliness of an insulin time series in diabetic and healthy individuals. *Metabolism*. 50(1), 41-46.
- Stagner, J. I., Samols, E., Weir, G. C. (1980). Sustained oscillations of insulin, glucagon, and somatostatin from the isolated canine pancreas during exposure to a constant glucose concentration. *J Clin Invest*. 65(4), 939-942.
- Stumvoll, M., B. J. Goldstein, et al. (2007). Pathogenesis of type 2 diabetes. *Endocr Res* 32(1-2): 19-37.
- Sturis, J., Van Cauter, E., Blackman, J. D., Polonsky, K. S. (1991). Entrainment of pulsatile insulin secretion by oscillatory glucose infusion. *J Clin Invest*. 87(2), 439-445.
- Toprak, S., Yonem, A., Cakir, B., Guler, S., Azal, O., Ozata, M., Corakci, A. (2001). Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovary syndrome. *Horm Res*. 55(2), 65-70.
- Tura, A., Ludvik, B., Nolan, J.J., Pacini, G., Thomaseth, K. (2001). Insulin and C-peptide secretion and kinetics in humans: direct and model-based measurements during OGTT. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 281; E966-974.
- Veldhuis, J. D., Johnson, M. L. (1994). Analytical methods for evaluating episodic secretory activity within neuroendocrine axes. *Neurosci Biobehav Rev*. 18(4), 605-612.
- Verdin, E., Castillo, M., Luyck, A.S., Lefebvre, P.J. (1984). Similar metabolic effects of pulsatile versus continuous human insulin delivery during euglycemic, hyperinsulinemic glucose clamp in normal man. *Diabetes*. 33: 1169-1174.
- Viltsboll, T., Krarup, T., Deacon, C.F., Madsbad, S., Holst, J.J. (2001). Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 50; 609-613.
- Viltsboll, T., Krarup, T., Madsbad, S., Holst, J.J. (2003^a). Both GLP-1 and GIP are insulinotropic at basal and postprandial glucose levels and contribute nearly equally to the incretin effect of a meal in healthy subjects. *Regulatory Peptides*. 114; 115-121.
- Viltsboll, T., Knop, F.K., Krarup, T., Johansen, A., Madsbad, S., Larsen, S., Hansen, T., Pedersen, O., Hoslt, J.J.(2003^b). The pathophysiology of diabetes involves a defective amplification of the late-phase insulin response to glucose by glucose-dependent insulinotropic polypeptide-regardless of etiology and phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 4897-903.
- Vollmer, K., Holst, J.J., Baller, B., Ellrichmann, M., Nauck, M.A., Schmidt, W.E., Meier, J.J. (2008). Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes*. 57; 678-687.
- Weyer, C., C. Bogardus, et al. (1999). The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 104(6): 787-94.
- Weyer, C., P. A. Tataranni, et al. (2001). Insulin resistance and insulin secretory dysfunction are independent predictors of worsening of glucose tolerance during each stage of type 2 diabetes development. *Diabetes Care* 24(1): 89-94.
- Zander, M., Madsban, S., Madsen, J.L., Holst, J.J. (2002). Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and β -cell function in type 2 diabetes: a parallel group study. *Lancet*, 359: 824-30.
- Zarkovic, M., Ciric, J., Penezic, Z., Trbojevic, B., Drezgic, M. (2000). Effect of weight loss on the pulsatile insulin secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 85: 3673-3677.
- Zawadzki, J.K., Dunaif, A. (1992). Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In: Dunaif, A., Givens, J.R., Haleltine, F.P., Merriam, G.R. *Polycystic ovary syndrome*. Boston: Blackwell Scientific Publications: 377-384.

Vlastní publikační činnost:

- 1) Vrbíková J., Dvorakova K., Grimmichova T., Hill M., Stanicka S., Cibula D., Bendlova B., Starka L., Vondra K. Prevalence of insulin resistance and prediction of glucose intolerance and type 2 diabetes mellitus in women with polycystic ovary syndrome. Clin Chem Lab Med, 2007, 45: 639-44. **IF 1,741**
- 2) Vrbíková J., Grimmichova T., Dvorakova K., Hill M., Stanicka S., Vondra K. Family history of diabetes mellitus determines insulin sensitivity and beta cell function in polycystic ovary syndrome. Physiol Res, 2008, 57: 547-53. **IF 2,093**
- 3) Grimmichova T., Vrbíková J., Matucha P., Vondra K., Veldhuis P.P., Johnson M.L. Fasting insulin pulsatile secretion in lean women with polycystic syndrome. Physiol Res 2008, 57: S91-98. **IF 2,093**
- 4) Vrbíková J., Hill M., Bendlova B., Grimmichova T., Dvorakova K., Vondra K., Pacini G. Incretin levels in polycystic ovary syndrome. European Journal of Endocrinology, 2008, 159: 121-127. **IF 3,239.**
- 5) Grimmichová T., Vrbíková J., Vondra K. Pulzní sekrece inzulínu. DMEV, roč.10, č.1, 2007, str. 12-18.
- 6) Grimmichová T., Vrbíková J., Vondra K. Pulzní sekrece inzulínu. In: Stárka a kol. Pokroky v Endokrinologii, Praha, Maxdorf, 2007, str. 641-648. ISBN 978-80-7345-129-5.
- 7) Grimmichová T., Vrbíková J., Vlasáková Z.: Diabetes mellitus 1. typu a autoimunitní tyreoiditida jako komplikace léčby interferonem alfa. Praktický lékař 87/3, 2007, str.160-161.

Prezentace posterů s publikovanými abstrakty:

- 1) Grimmichová T., Vrbíková J., Vlasáková Z.: Diabetes mellitus 1. typu a autoimunitní tyreoiditida jako komplikace léčby interferonem alfa

- (3. Postgraduální kurz v Endokrinologii, květen 2006, in: sborník abstrakt P140, ISBN 80-86225-95-X).
- 2) Dvořáková K., Vrbíková J., Hill M., Vaňkova M., Stanická S., Grimmichová T., Šimůnková K., Vondra K: Energy expenditure and substrate oxidation in patients with polycystic ovary syndrome during euglycaemic hyperinsulinaemic clamp (22nd Annual Meeting of ESHRE, Praha, červen, 2006, in: Hum Reprod 2006, 21 (suppl 1), i180).
- 3) Dvořáková K., Vrbíková J., Hill M., Stanická S., Grimmichová T., Vondra K.: Metabolická rigidita u pacientek s PCOS (Obezitologie, celostátní konference se zahr. účastí, Brno, listopad, 2006, in: sborník abstrakt P09).
- 4) Vrbíková J., Hill M., Bendlová B., Grimmichová T., Dvořáková K., Vondra K.: Retinol-binding protein-4 in polycystic ovary syndrome - relationship with obesity and androgen levels (9th European Congress of Endocrinology, Budapešť, duben-květen, 2007, in: Endocrine Abstracts, 2007, 14, P615).
- 5) Vrbíková J., Dvořáková K., Grimmichová T., Hill M., Stanická S., Vondra K.: Family history of diabetes mellitus determines insulin sensitivity and beta cell dysfunction in polycystic ovary syndrome (9th European Congress of Endocrinology, Budapešť, duben-květen, 2007, in: Endocrine Abstracts, 2007, 14, P 614i).
- 6) Vrbíková J., Hill M., Bendlová B., Vondra K., Grimmichová T., Pacini G.: Insulin resistance and beta cell function in polycystic ovary syndrome: the influence of family history of type 2 DM (43rd Annual Meeting of European Association for the study of diabetes, září, 2007, Amsterdam, in: Diabetologia 2007, 50, suppl 1, 325-326).
- 7) Grimmichová T., Vrbíková J., Matucha P., Vondra K., Veldhuis P.P., Johnson M.L.: Rapid insulin pulsatile secretion in women with polycystic

- ovary syndrome (43rd Annual Meeting of European Association for the study of diabetes, září, 2007, Amsterdam, in: Diabetologia 2007, 50 , suppl 1, 325).
- 8) Grimmichová T., Vrbíková J., Matucha P., Vondra K., Veldhuis P.P., Johnson M.L. : Rychlá pulzní sekrece inzulinu u žen se syndromem polycystických ovarii. (XXX. Endokrinologické dny, Špindlerův Mlýn, říjen, 2007, in: sborník abstrakt str. 158-159, ISBN 978-80-86225-32-1).
- 9) Grimmichová T., Vrbíková J., Matucha P., Vondra K., Veldhuis P.P., Johnson M.L.: Pulzní sekrece inzulinu a dekonvoluční analýza (XXXI. Endokrinologické dny, Štrbské Pleso, říjen, 2008, Slovensko, in: sborník abstrakt str. 13).
- 10) Vrbíková J, Hill M, Bendlová B, Grimmichová T., Dvorakova K, Vondra K, Pacini G: Glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide in polycystic ovary syndrome. (10th European Congress of Endocrinology, květen, 2008, Berlín, in: Endocrine Abstracts 16. P223).
- 11) Pacini G., Hill M., Vondra K., Bendlová B., Grimmichová T., Vrbíková J.: Incretin-related increase of insulin secretion in women with polycystic ovary syndrome (68th Scientific sessions, červen, 2008, in: Diabetes P1476).