

Haluzík M, Lacinová Z, Michalský D, Kasalický M, Bártlová M, Haluzíková D, Kaválková P, Bošanská L, Roubíček T, Matoulek M. Tuková tkáň a produkce cytoadhezivních molekul: vliv obezity a typu tukové tkáně. In: Sborník abstraktů. ČR, Plzeň, 2007, 27-27. Obezitologie 2007. ČR, Plzeň, 18.-20.10.2007.

7. Monografie:

Roubíček T et al. Hyperglykémie a její normalizace intenzifikovanou inzulínovou terapií u kriticky nemocných pacientů. – In: Haluzík M et al. Trendy soudobé diabetologie. Svazek 12, s. 11-30, Galén, Praha, 2008



**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**

Autoreferát dizertační práce

**Úloha tukové tkáně a jejích produktů při rozvoji
inzulínové rezistence a systémové zánětlivé reakce**

MUDr. Tomáš ROUBÍČEK

Praha 2009

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor, předseda oborové rady:

Fyziologie a patofyziologie člověka

předseda: Prof. MUDr. Stanislav Trojan, DrSc.

Školící pracoviště:

III. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Autor:

MUDr. Tomáš Roubíček

Školitel:

Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne.....

Obhajoba se koná dne.....v.....hod.

Místo obhajoby:

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

Křemen J, Bláha J, Matias M, Bošanská L, Roubíček T, Kotlíková E, Svačina Š, Hovorka R, Haluzík M. Comparison of arterial and interstitial glucose concentrations in critically ill patients. ESPEN 8.-11.9.2007, Praha.

Haluzík M, Bošanská L, Haluzíková D, Doležalová R, Roubíček T, Mráz M, Dolínková M, Matoušek M, Lacinová Z. The influence of very low calorie diet on serum concentrations and subcutaneous mRNA expression of endothelial cell adhesion molecules in obese, insulin-resistant women. 43rd EASD Annual Meeting, 17.-21.9.2007, Amsterdam.

Haluzík M, Křemen J, Bláha J, Matias M, Kopecký P, Rulíšek J, Bošanská L, Roubíček T, Anderlová K, Chassin LJ, Hovorka R, Svačina Š. Randomized controlled trial to evaluate blood glucose control by the model predictive control algorithm with variable sampling rate (eMPC) vs. routine glucose management protocol in peri- and postoperative period in cardiac surgery patients. 67th ADA Annual Scientific Sessions, 22.-26.6.2007, Chicago, USA. Diabetes 2007; 56 suppl. 1: A66.

Haluzík M, Haluzíková D, Doležalová R, Roubíček T, Bošanská L, Mráz M, Dolínková M, Matoušek M, Lacinová Z. The influence of very low calorie diet on serum concentrations and subcutaneous fat mRNA expression of endothelial cell adhesion molecules in obese, insulin resistant women. 5th World Congress on Insulin Resistance Syndrome, Boston, USA, 2007.

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Jahodová J, Pavlovičová R, Matoušek M, Lacinová Z, Haluzík M. Zvýšená produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně. In: Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa. 2008 44. Diabetologické dny. ČR, Luhačovice, 17.-19.4.2008.

Mráz M, Kopecký P, Bláha J, Bártlová M, Křemen J, Bošanská L, Roubíček T, Svačina Š, Haluzík M. První zkušenosti s využitím kontinuální monitorace glykémie na jednotce intenzivní péče. In: Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa. 2008 44. Diabetologické dny. ČR, Luhačovice, 17.-19.4.2008.

Haluzík M, Michalský D, Kasalický M, Bošanská L, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Haluzíková D, Pavlovičová R, Čechová M, Lacinová Z. Adipose tissue as a source of proinflammatory factors in obesity: the importance in the development of insulin resistance and diabetes. In: Biologically Active Peptide. 2007, 49-52. Biologically Active Peptide – 10. Konference. ČR, Praha, 11.-13.4.2007.

6. Další abstrakta:

Roubíček T, Křemen J, Bláha J, Matias M, Kopecký P, Rulíšek J, Anderleová K, Bošanská L, Chassis LJ, Hovorka R, Svačina Š, Haluzík M. Srovnání počítačového algoritmu s variabilním intervalem měření glykémie a standardního protokolu pro intenzivní inzulinovou terapii v peri a pooperačním období u kardiochirurgických pacientů. In: Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa. 2007, 10, 1, 44-45. 43. Diabetologické dny. ČR, Luhačovice, 19.-21.4.2007.

Bošanská L, Lacinová Z, Doležalová R, Dolinková M, Mráz M, Roubíček T, Křemen J, Haluzíková D, Matoušek M, Haluzík M. Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni u obézních žen. In: Vnitř Lék. 2007, 53 (5), 602. Dny mladých internistů. ČR, Olomouc, 31.5.-1.6.2007.

Bošanská L, Lacinová Z, Doležalová R, Dolinková M, Mráz M, Roubíček T, Křemen J, Haluzíková D, Matoušek M, Haluzík M. Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni u obézních žen. In: Sborník. ČR, Praha, 2007, 36, 8. studentská vědecká konference. ČR, Praha, 22.5.2007.

Mráz M, Křemen J, Bláha J, Matias M, Kopecký P, Rulíšek J, Kotlíková E, Roubíček T, Bošanská L, Svačina Š, Hovorka R, Haluzík M. Srovnání počítačového algoritmu s variabilním intervalem pro měření glykémie a standardního protokolu pro intenzivní inzulinovou terapii u kriticky nemocných pacientů. In: Vnitř Lék. 2007, 53 (5), 606. Dny mladých internistů. ČR, Olomouc, 31.5.-1.6.2007.

Mráz M, Křemen J, Bláha J, Matias M, Kopecký P, Rulíšek J, Kotlíková E, Roubíček T, Bošanská L, Svačina Š, Hovorka R, Haluzík M. Srovnání počítačového algoritmu s variabilním intervalem pro měření glykémie a standardního protokolu pro intenzivní inzulinovou terapii u kriticky nemocných pacientů. In: Sborník. ČR, Praha, 2007, 46, 8. studentská vědecká konference. ČR, Praha, 22.5.2007.

Křemen J, Bláha J, Matias M, Mráz M, Bošanská L, Roubíček T, Chassis L, Hovorka R, Svačina Š, Haluzík M. Randomized controlled trial comparing blood glucose control using model predictive control algorithm with variable sampling rate (eMPC) vs. standard glucose management protocol in cardiac surgery patients during peri- and postoperative period. European society of intensive care medicine, 7.-10.10.2007, Berlin, Germany. Intensive Care Medicine 2007, 33, Suppl. 2 / S52.

Obsah:

1. Úvod.....	6
2. Hypotézy a cíle práce.....	7
3. Materiál a metodika	8
3.1. Systém renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáně a inzulinová rezistence u kriticky nemocných.....	8
3.2. Úloha tukové tkáně při vzniku systémového zánětu u pacientů s chronickým selháním ledvin.....	9
3.3. Pref-1 a inzulinová rezistence.....	10
4. Výsledky	11
4.1. Systém renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáně a inzulinová rezistence u kriticky nemocných.....	11
4.2. Úloha tukové tkáně při vzniku systémového zánětu u pacientů s chronickým selháním ledvin.....	12
4.3. Pref-1 a inzulinová rezistence.....	17
5. Diskuse.....	19
5.1. Systém renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáně a inzulinová rezistence u kriticky nemocných.....	19
5.2. Úloha tukové tkáně při vzniku systémového zánětu u pacientů s chronickým selháním ledvin.....	21
5.3. Pref-1 a inzulinová rezistence.....	23
6. Závěr	24
7. Použitá literatura	25
8. Seznam publikací.....	28

Souhrn

Hyperglykémie a inzulínová rezistence jsou související stavy, které zvyšují riziko rozvoje kardiovaskulárních chorob. K hyperglykémii a inzulínové rezistenci dochází také u kriticky nemocných pacientů a tento stav je spojen s vyšší morbiditou a mortalitou. Naše předchozí studie prokázala, že tuková tkáň hraje v průběhu kritického onemocnění významnou roli při vzniku hyperglykémie díky zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů. První část této dizertační práce je proto zaměřena na lokální systém renin-angiotenzin-aldosteron u kriticky nemocných pacientů jakožto další systém tukové tkáně, který je spojen s inzulínovou rezistencí. Naše studie prokázala, že kardiochirurgický zákrok zvýšil expresi mRNA pro angiotenzinogen v epikardiální ale nikoliv v podkožní tukové tkáni, což naznačuje možné zapojení systému renin-angiotenzin-aldosteron epikardiální tukové tkáně do vzniku lokální a případně i systémové inzulínové rezistence.

Další skupinou pacientů, která je ohrožena inzulínovou rezistencí a rychlým rozvojem aterosklerózy a následnými kardiovaskulárními komplikacemi, jsou pacienti s chronickým selháním ledvin. Druhá část této dizertační práce je proto zaměřena na změny, které prodělává tuková tkáň u pacientů s chronickým selháním ledvin a především pak na produkci prozánětlivých faktorů a lokální zánětlivou reakci v tukové tkáni. Naše studie ukazuje, že tuková tkáň pacientů se selháním ledvin může být významným zdrojem prozánětlivých cytokinů a aktivace imunokompetentních buněk v tukové tkáni může představovat důležitou a univerzální část systémové zánětlivé reakce, která zhoršuje inzulínovou rezistenci u pacientů se selháním ledvin.

Preadipocytární faktor 1 (Pref-1) je relativně nově objevený protein, u kterého bylo prokázáno, že působí jako inhibitor diferenciacce preadipocytů. Ve třetí části práce jsme vycházeli z hypotézy, že Pref-1 může zásadním způsobem ovlivňovat glukózovou homeostázu a inzulínovou rezistenci u obézních pacientů s/bez DM 2. typu. Naše studie prokázala vyšší hladiny Pref-1 u obézních pacientů s DM 2. typu oproti zdravým jedincům a obézním pacientům bez DM 2. typu. Vyšší hladiny Pref-1 u obézních pacientů s DM 2. typu mohou potencionálně zhoršovat inzulínovou rezistenci a tím vést k výraznější poruše glukózového metabolismu.

to evaluate blood glucose control by a model predictive control algorithm with variable sampling rate vs. routine glucose management protocol in peri- and postoperative period in cardiac surgery patients. *Čas Lék Česk.* 2007; 146 (11): 868-73.

4. Další publikace:

Haluzíková D, Roubíček T, Haluzík M. Adiponectin and atherosclerosis. *Vnitř Lék.* 2007; 53 (4): 359-63.

Lacinová Z, Michalský D, Kasalický M, Dolinková M, Haluzíková D, Roubíček T, Krajíčková J, Mráz M, Matoulek M, Haluzík M. The influence of obesity on the gene expression of adiponectin and its receptor in subcutaneous adipose tissue. *Vnitř Lék.* 2007; 53 (11): 1190-7.

Bošanská L, Lacinová Z, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Doležalová R, Housová J, Křemen J, Haluzíková D, Matoulek M, Haluzík M. The influence of very-low-calorie diet on soluble adhesion molecules and their gene expression in adipose tissue of obese women. *Čas Lék Česk.* 2008; 147 (1): 32-7.

Křemen J, Bláha J, Kopecký P, Bošanská L, Kotrlíková E, Roubíček T, Anderlová K, Svačina S, Matias M, Rulíšek J, Hovorka R, Haluzík M. The treatment of hyperglycaemia in critically ill patients: comparison of standard protocol and computer algorithm. *Vnitř Lék.* 2007; 53 (12): 1269-73.

5. Abstrakta se vztahem k tématu práce:

Roubíček T, Křemen J, Bláha J, Dolinková M, Bošanská L, Svačina Š, Haluzík M. Zvýšená produkce angiotensinogenu v epikardiální tukové tkáni při kardiochirurgickém zákroku: možný vliv na pooperační inzulínovou rezistenci. In: Sborník. ČR, Praha, 2007, s. 47, 8. studentská vědecká konference. ČR, Praha, 22.5.2007.

Roubíček T, Křemen J, Bláha J, Dolinková M, Bošanská L, Svačina Š, Haluzík M. Zvýšená produkce angiotensinogenu v epikardiální tukové tkáni při kardiochirurgickém zákroku: možný vliv na pooperační inzulínovou rezistenci. In: *Vnitř Lék.* 2007, 53 (5), 597. Dny mladých internistů. ČR, Olomouc, 31.5.-1.6.2007.

Roubíček T, Křemen J, Bláha J, Dolinková M, Bošanská L, Svačina Š, Haluzík M. Zvýšená produkce angiotensinogenu v epikardiální tukové tkáni při kardiochirurgickém zákroku: možný vliv na pooperační inzulínovou rezistenci. In: *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa.* 2008. 44. Diabetologické dny. ČR, Luhačovice, 17.-19.4.2008.

with kidney disease: the mild and moderate kidney disease study. *J Am Soc Nephrol* 16:1091-1098, 2005

34. Villena JA, Choi CS, Wang Y, Kim S, Hwang YJ, Kim YB, Cline G, Shulman GI, Sul HS: Resistance to high fat diet-induced obesity but exacerbated insulin resistance in mice overexpressing Pref-1: a new model of partial lipodystrophy. *Diabetes*, 2008

8. Seznam publikací

1. Publikace, které jsou podkladem práce:

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.* 2008, 57: 911-917. - IF 1,5

Roubicek T, Bartlova M, Krajickova J, Haluzikova D, Mraz M, Lacinova Z, Kudla M, Teplan V, Haluzik M. Increased production of proinflammatory cytokines in adipose tissue of patients with end stage renal disease. *Nutrition*, 2009 – v tisku. – IF 2,1

2. Další publikace v impaktovaných časopisech:

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, 92, 8: 2960-4. – IF 5,49

Haluzikova D, Dostalova I, Kavalkova P, Roubicek T, Mraz M, Papezova H, Haluzik M. Serum concentrations of adipocyte fatty acid binding protein in patients with anorexia nervosa. *Physiol Res.* 2008 Jul 25. - v tisku. – IF 1,5

3. Publikace v časopisech bez impakt faktoru se vztahem k tématu práce:

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: 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. Pilot study

Summary

Hyperglycemia and insulin resistance are tightly interconnected conditions that increase the risk for development of cardiovascular diseases. Hyperglycemia and insulin resistance are also common in critically ill patients and are accompanied by increased morbidity and mortality. Our previous study has demonstrated that adipose tissue plays an important role in the development of hyperglycemia and insulin resistance in critically ill patients by production of numerous proinflammatory cytokines. First part of this dissertation thesis is therefore focused on changes of local renin angiotensin system in critically ill patients, because this system is tightly connected to the insulin resistance. In our study, we found that cardiac surgery increases angiotensinogen mRNA expression in epicardial but not in subcutaneous adipose tissue suggesting the possible involvement of epicardial adipose tissue in the process of development of local and possibly systemic insulin resistance in these patients.

Another group of patients endangered by insulin resistance and accelerated atherosclerosis with subsequent cardiovascular complications are patients with chronic kidney failure. The main focus of the second part of this dissertation thesis is the possible role of adipose tissue of patients with chronic kidney failure in the development of systemic inflammatory response. Our study shows that adipose tissue of patients with kidney failure may represent a significant source of proinflammatory cytokines and activation of immunocompetent cells residing in adipose tissue may play an important and universal role in the systemic inflammatory response, which worsen the insulin resistance in patients with kidney failure.

Preadipocyte factor 1 (Pref-1) is a relatively recently discovered protein that inhibits preadipocyte differentiation. In this part dissertation thesis we therefore tested the hypothesis that circulating and/or local Pref-1 levels may fundamentally influence the glucose homeostasis and insulin resistance in obese patients with or without type 2 diabetes mellitus. Our study shows increased Pref-1 level in obese patients with type 2. diabetes mellitus compared to the both healthy subjects and obese patients without type 2 diabetes mellitus.

Higher levels of Pref-1 in obese diabetic patients may potentially worsen insulin resistance.

1. Úvod

Diabetes mellitus 2. typu (DM 2. typu) je onemocnění, které výrazně zvyšuje riziko rozvoje kardiovaskulárních chorob. Tyto nemoci se pak stávají hlavními příčinami morbidity a mortality diabetiků (1). Ačkoliv primární příčina DM 2. typu není stále známa, je všeobecně akceptováno, že v rozvoji tohoto onemocnění hraje klíčovou roli inzulinová rezistence periferních tkání v kombinaci s relativní insuficiencí inzulinové sekrece (2). Pro DM 2. typu je typická komplexní metabolická porucha vedoucí k prozánětlivému, hyperkoagulačnímu stavu, který predisponuje pacienty ke vzniku kardiovaskulárních onemocnění, a který je spojen s dalšími rizikovými faktory pro aterosklerózu včetně dyslipidémie, arteriální hypertenze, zánětu a poruch hemostázy (1). Úzké spojení obezity/inzulinové rezistence, DM 2. typu, dyslipidémie a dalších nemocí v rámci tzv. metabolického syndromu bylo prokázáno v mnoha klinických studiích (3; 4). Kombinace těchto onemocnění představuje významný rizikový faktor pro rozvoj akcelerované aterosklerózy a souvisejících komplikací (5). Mechanizmy, které spouštějí inzulinovou rezistenci, zůstávají i přes velké pokroky výzkumu v této oblasti stále objasněny pouze částečně. Současné poznatky však naznačují, že jednou z důležitých příčin vzniku inzulinové rezistence může být komplexní porucha funkce tukové tkáně a následně ektopická akumulace lipidů a jejich metabolitů ve svalové a jaterní tkáni.

Bílá tuková tkáň slouží organismu jako hlavní zásobárna energie. Uložená energie ve formě triglyceridů je uvolňována v období nedostatku potravy a slouží jako zdroj energie pro ostatní tkáně. Tuková tkáň však také funguje jako endokrinně aktivní orgán, pro což svědčí sekrece celé řady biologicky účinných molekul - například leptinu, adiponektinu, resistinu, TNF- α , IL-6 a PAI-1, a komponent systému renin-angiotensin-aldosteron (5-7). Tyto cytokiny (adipokiny) regulují četné a mnohdy klíčové aspekty fyziologických pochodů včetně ovlivnění příjmu potravy, energetického metabolismu,

22. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H: Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 112:1821-1830, 2003
23. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr.: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 112:1796-1808, 2003
24. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, Shoelson SE: Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science* 293:1673-1677, 2001
25. Esposito K, Ciotola M, Carleo D, Schisano B, Saccomanno F, Sasso FC, Cozzolino D, Assaloni R, Merante D, Ceriello A, Giugliano D: Effect of rosiglitazone on endothelial function and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 29:1071-1076, 2006
26. Yao Q, Axelsson J, Heimbürger O, Stenvinkel P, Lindholm B: Systemic inflammation in dialysis patients with end-stage renal disease: causes and consequences. *Minerva Urol Nefrol* 56:237-248, 2004
27. 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
28. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, Mannion JD, Diehl JT, Arafat H, Sarov-Blat L, O'Brien S, Keiper EA, Johnson AG, Martin J, Goldstein BJ, Shi Y: Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation* 108:2460-2466, 2003
29. 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
30. Harper CR, Jacobson TA: Managing dyslipidemia in chronic kidney disease. *J Am Coll Cardiol* 51:2375-2384, 2008
31. Sniderman A, Vu H, Cianflone K: Effect of moderate hypertriglyceridemia on the relation of plasma total and LDL apo B levels. *Atherosclerosis* 89:109-116, 1991
32. Pickkers P, Hoedemaekers A, Netea MG, de Galan BE, Smits P, van der Hoeven JG, van Deuren M: Hypothesis: Normalisation of cytokine dysbalance explains the favourable effects of strict glucose regulation in the critically ill. *Neth J Med* 62:143-150, 2004
33. Becker B, Kronenberg F, Kielstein JT, Haller H, Morath C, Ritz E, Fliser D: Renal insulin resistance syndrome, adiponectin and cardiovascular events in patients

8. 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* 91:4620-4627, 2006
9. Brix-Christensen V, Gjedsted J, Andersen SK, Vestergaard C, Nielsen J, Rix T, Nyboe R, Andersen NT, Larsson A, Schmitz O, Tonnesen E: Inflammatory response during hyperglycemia and hyperinsulinemia in a porcine endotoxemic model: the contribution of essential organs. *Acta Anaesthesiol Scand* 49:991-998, 2005
10. Calabro P, Yeh ET: Obesity, inflammation, and vascular disease: the role of the adipose tissue as an endocrine organ. *Subcell Biochem* 42:63-91, 2007
11. Wellen KE, Hotamisligil GS: Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 115:1111-1119, 2005
12. Villena JA, Kim KH, Sul HS: Pref-1 and ADSF/resistin: two secreted factors inhibiting adipose tissue development. *Horm Metab Res* 34:664-670, 2002
13. Engeli S, Negrel R, Sharma AM: Physiology and pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system. *Hypertension* 35:1270-1277, 2000
14. Nygren J, Thorell A, Efendic S, Nair KS, Ljungqvist O: Site of insulin resistance after surgery: the contribution of hypocaloric nutrition and bed rest. *Clin Sci (Lond)* 93:137-146, 1997
15. Giacchetti G, Faloia E, Mariniello B, Sardu C, Gatti C, Camilloni MA, Guerrieri M, Mantero F: Overexpression of the renin-angiotensin system in human visceral adipose tissue in normal and overweight subjects. *Am J Hypertens* 15:381-388, 2002
16. Ostergren J: Renin-angiotensin-system blockade in the prevention of diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 76:S13-21, 2007
17. Huptas S, Geiss HC, Otto C, Parhofer KG: Effect of atorvastatin (10 mg/day) on glucose metabolism in patients with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 98:66-69, 2006
18. Kershaw EE, Flier JS: Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2548-2556, 2004
19. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM: Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 95:2409-2415, 1995
20. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA: The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409:307-312, 2001
21. Kusminski CM, McTernan PG, Kumar S: Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lond)* 109:243-256, 2005

imunitních funkcí a reprodukce. Tuková tkáň je dnes považována za klíčový orgán regulující energetickou rovnováhu včetně metabolismu glukózy a lipidů. Porucha tukové tkáně se pak projeví právě dysregulací těchto pochodů. Tuková tkáň se může podílet svou endokrinní (dys)funkcí na rozvoji inzulínové rezistence a ovlivnění kardiovaskulárního systému u pacientů s obezitou, DM 2. typu i u kriticky nemocných pacientů (8-10). Předpokládá se, že především více metabolicky aktivní viscerální tuková tkáň by mohla být místem, kde začíná subklinický zánět, který může posléze vést k dalším onemocněním a metabolickým komplikacím (11).

2. Hypotézy a cíle práce

Tato dizertační práce je zaměřena na úlohu tukové tkáně a jejich produktů při rozvoji inzulínové rezistence a systémové zánětlivé reakce u různých skupin pacientů a patofyziologických stavů.

Cílem první části práce bylo zjistit, zda kritické onemocnění vede ke změnám lokálního systému renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáně a zda se tyto změny mohou podílet na vzniku inzulínové rezistence a hyperglykémie u těchto pacientů. Vycházeli jsme z hypotézy, že systém renin-angiotenzin-aldosteron v tukové tkáni prodělává v průběhu kritického onemocnění významné změny a může se podílet na vzniku systémové inzulínové rezistence a následných komplikací při kritickém onemocnění.

Další část této práce se zaměřuje na změny, které prodělává tuková tkáň u pacientů s chronickým selháním ledvin a především pak na produkci prozánětlivých faktorů a lokální zánětlivou reakci v tukové tkáni u této skupiny pacientů. Vycházeli jsme z hypotézy, že zvýšená produkce prozánětlivých cytokinů v tukové tkáni může přispívat k systémovému prozánětlivému stavu u pacientů s chronickým selháním ledvin na hemodialyzační léčbě a následně tak vést k rychlejší progresi aterosklerózy a k vyšší kardiovaskulární mortalitě. Cílem druhé části práce bylo blíže charakterizovat zánětlivý stav podkožní a viscerální tukové tkáně u pacientů s chronickým selháním ledvin a porovnat výsledky se zdravými jedinci.

Preadipocytární faktor 1 (Pref-1) je relativně nově objevený protein, u kterého bylo prokázáno, že působí jako inhibitor diferenciacie adipocytů (12). Pref-1 může potencionálně ovlivňovat i glukózovou homeostázu a inzulínovou rezistenci. Zde jsme vycházeli z předpokladu, že hladiny Pref-1 mohou být zvýšeny u chorob charakterizovaných inzulínovou rezistencí. Cílem této části práce bylo porovnat expresi genu pro Pref-1 v podkožní a viscerální tukové tkáni pacientů s obezitou se skupinou zdravých štíhlých kontrolních subjektů. Dále pak porovnat sérové hladiny Pref-1 u zdravých jedinců, u obézních pacientů s/bez DM 2. typu a posoudit změny hladin Pref-1, vyvolané podáváním nízkokalorické diety po dobu 3 týdnů.

3. Materiál a metodika

Jednotlivé studie byly prováděny ve spolupráci 3. interní kliniky, Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, 2. kliniky kardiovaskulární chirurgie a 1. chirurgické kliniky 1. LF UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM) v Praze. Studie byly schváleny Etickou komisí 1. LF UK a VFN. Studie byly prováděny v souladu s Helsinskou deklarací.

3.1. Systém renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáně a inzulínová rezistence u kriticky nemocných

Cílem studie bylo posoudit změny lokálního systému renin-angiotenzin-aldosteron subkutánní a viscerální tukové tkáně u pacientů v průběhu kritického onemocnění. Jako model kritického onemocnění byl zvolen kardiochirurgický zákrok. Do studie bylo zařazeno 10 pacientů (6 mužů a 4 ženy, průměrný věk 56 ± 14 let, body mass index (BMI) 27 ± 3 kg/m²), kteří podstoupili plánovaný kardiochirurgický zákrok (7 pacientů s provedením aorto-koronárního bypassu, 3 plastiky chlopně; trvání operačního zákroku $4,6 \pm 1,2$ hodiny). Jeden pacient měl DM 2. typu na inzulínoterapii, 7 pacientů mělo arteriální hypertenzi, přičemž 6 z těchto pacientů bylo léčeno antihypertenzivy (2 inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu (ramipril), žádný blokátory receptoru pro angiotenzin II) před zahájením studie. 5 pacientů mělo dyslipidémii a 2 z nich byli léčeni statiny.

a lipidové homeostázy jsou nutné jak správně regulované procesy adipogeneze a metabolismu tukové tkáně, tak i další faktory jako je například přítomnost subklinického zánětu v tukové tkáni. Tuková tkáň se může podílet díky zvýšené infiltraci imunokompetentními buňkami, produkcí prozánětlivých cytokinů a následném zhoršení inzulínové rezistence na vyšší kardiovaskulární mortalitě a morbiditě pacientů se selháním ledvin. Léčba vedoucí ke snížení zánětu v tukové tkáni by mohla zlepšit i prognózu pacientů se selháním ledvin.

Pref-1 pak představuje nový faktor podílející se na diferenciaci preadipocytů. Jeho vyšší hladiny u obézních pacientů s DM 2. typu mohou být obrazem či etiologickým faktorem potencionálně zhoršujícím inzulínovou rezistenci. Pref-1 je bezpochyby velmi zajímavou molekulou pro další výzkum. Léky snižující jeho hladinu by v budoucnu mohly vést k pozitivnímu ovlivnění diferenciacie adipocytů a tím zlepšení inzulínové senzitivity u pacientů s inzulínovou rezistencí.

7. Použitá literatura

1. Dandona P: Effects of antidiabetic and antihyperlipidemic agents on C-reactive protein. *Mayo Clin Proc* 83:333-342, 2008
2. Shulman GI: Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 106:171-176, 2000
3. Reaven GM: Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607, 1988
4. Reaven G: Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation* 106:286-288, 2002
5. Haffner SM: Insulin resistance, inflammation, and the prediabetic state. *Am J Cardiol* 92:18J-26J, 2003
6. Anderlova K, Kremen J, Dolezalova R, Housova J, Haluzikova D, Kunesova M, Haluzik M: The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women. *Physiol Res* 55:277-283, 2006
7. Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MI, Lima FB: Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J Pediatr (Rio J)* 83:S192-203, 2007

kalorií zlepšuje inzulínovou senzitivitu (6) a nově také, že pokles tělesné hmotnosti je doprovázen snížením cirkulujících hladin Pref-1 u obézních pacientů s i bez DM 2. typu. Ověření možnosti, že zlepšení inzulínové senzitivity je způsobeno zvýšenou diferenciací preadipocytů v prostředí nižších koncentrací Pref-1 a/nebo dalších faktorů inhibujících diferenciaci preadipocytů (např. angiotenzinu II), vyžaduje další výzkum.

Naše studie tedy prokázala, že bazální hodnoty Pref-1 jsou v porovnání s kontrolní skupinou významně vyšší u obézních žen s DM 2. typu ale nikoliv u obézních žen bez DM 2. typu. Dále naše studie prokázala, že dieta s velmi nízkým obsahem kalorií snižuje tělesnou hmotnost a cirkulující hladiny Pref-1 jak u obézních žen s DM 2. typu tak i u obézních žen bez diabetu. Tyto poznatky podporují hypotézu, že Pref-1 může mít význam v ovlivnění stupně inzulínové rezistence.

6. Závěr

V oblasti hyperglykémie a inzulínové rezistence probíhá v posledních letech rozsáhlý výzkum, jehož cílem je jak rozpoznání patofyziologických mechanismů tak i následné zaměření na klinické výsledky s cílem zlepšit prognózu pacientů. Ukazuje se, že tuková tkáň jakožto nejobjemnější endokrinně aktivní orgán lidského těla hraje v procesu hyperglykémie a inzulínové rezistence jednu z hlavních rolí. Výsledky našich studií úlohu tukové tkáně při vzniku inzulínové rezistence potvrzují.

Lokální systém renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáně představuje se svým vlivem na inzulínovou senzitivitu novou potenciální modalitu, jak ovlivnit hyperglykémii u kriticky nemocných. Mohlo by se jednat o slibnou cestu, jelikož pozitivní vliv léků blokujících systém renin-angiotenzin-aldosteron byl prokázán u pacientů s arteriální hypertenzí, srdečním selháním i inzulínovou rezistencí u metabolického syndromu. Vliv podávání léků blokujících systém renin-angiotenzin-aldosteron kriticky nemocným pacientům bude nutné v budoucnu dále ověřit.

Naše studie také ukazují, že pro udržení či naopak poruchy glukózové

Každý pacient byl zvážen a byl spočítán BMI. Krevní vzorky pro měření sérových koncentrací inzulínu a plazmatické glykémie byly odebírány před začátkem anestezie a na konci operačního zákroku (v době příjmu na jednotku pooperační intenzivní péče). Párové vzorky podkožní a epikardiální tukové tkáně byly odebírány na začátku a na konci plánovaného operačního zákroku z podkožní (hrudní oblast) a epikardiální tukové tkáně, která nebyla poškozena chirurgickým zákrokem. V krevních vzorcích byla měřena glykémie a koncentrace inzulínu a adipokinů. V tukové tkáni byla stanovena exprese mRNA pro angiotenzinogen, angiotenzin-konvertující enzym a receptor pro angiotenzin II. Výsledky jsou uvedeny jako průměr \pm střední chyba průměru (SEM). Výsledky byly považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

3.2. Úloha tukové tkáně při vzniku systémového zánětu u pacientů s chronickým selháním ledvin

Cílem studie bylo blíže charakterizovat zánětlivý stav podkožní a viscerální tukové tkáně u pacientů s chronickým selháním ledvin. Do studie bylo zařazeno 15 žen se selháním ledvin (průměrný věk $55,4 \pm 2,3$ roku; průměrný BMI $27,6 \pm 1,1$ kg/m²), které podstoupily transplantaci ledvin. Příčiny chronického selhání ledvin byly: polycystické onemocnění ledvin (6 pacientů), chronická glomerulonefritida (3 pacienti), analgetická nefropatie (2 pacienti), vaskulární nefroskleróza (3 pacienti) a Alportův syndrom (1 pacient). 10 pacientek mělo arteriální hypertenzi, 10 pacientek mělo hyperlipidémii a 4 z těchto pacientek byly léčeny statiny (atorvastatin 10 mg denně). V kontrolní skupině bylo 17 zdravých žen, které neužívaly žádné léky (průměrný věk $55,1 \pm 2,5$ roku, BMI $27,1 \pm 1,1$ kg/m²), a které podstoupily plánovanou cholecystektomii pro cholecystolithiázu. Diabetici byli ze studie vyloučeni .

Všechny subjekty byly změřeny a zváženy a byl spočítán BMI. Odběry krevních vzorků pro hormonální vyšetření byly provedeny před začátkem anestezie. Vzorky podkožní (z oblasti břicha) a viscerální (perirenální tuková tkáň) tukové tkáně pro analýzu exprese mRNA a histopatologické vyšetření byly odebrány na počátku

operace. V krevních vzorcích byly měřeny standardní biochemické parametry, plazmatické hladiny inzulínu, leptinu, adiponektinu, resistinu, IL-6, MCP-1 a TNF- α . V tukové tkáni byla stanovena exprese mRNA pro adiponektin, receptor 1 a 2 pro adiponektin, leptin, IL-6, resistin, TNF- α , CD 68 a MCP-1. Vzorky tukové tkáně byly imunohistochemicky vyšetřeny na přítomnost CD-68 pozitivních imunokompetentních buněk. Výsledky jsou uvedeny jako průměr \pm střední chyba průměru (SEM). Výsledky byly považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

3.3. Pref-1 a inzulínová rezistence

Tato část dizertační práce měla charakter průřezové studie. V první části byla měřena exprese mRNA pro Pref-1 v podkožní a viscerální tukové tkáni žen s obezitou 3. stupně podstupujících laparoskopickou bandáž žaludku a srovnávána se skupinou zdravých štíhlých žen, které podstoupily plánovanou laparoskopickou cholecystektomií.

Ve druhé podstudii na jiné skupině byla pacientům podávána dieta s velmi nízkým obsahem kalorií (2200 kJ/den) po dobu 3 týdnů a byl sledován vliv diety na cirkulující sérové hladiny Pref-1.

Do první podstudie (exprese mRNA Pref-1 v tukové tkáni) bylo zařazeno 11 obézních žen bez DM 2. typu (BMI $43,8 \pm 1,0 \text{ kg/m}^2$). V kontrolní skupině bylo 7 štíhlých žen odpovídajícího věku (BMI $23,6 \pm 0,6 \text{ kg/m}^2$).

Do druhé podstudie (3 týdny diety s velmi nízkým obsahem kalorií) bylo zařazeno 19 obézních žen (BMI $47,8 \pm 3,1 \text{ kg/m}^2$) bez DM 2. typu (Obézní), 12 obézních žen s DM 2. typu (BMI $50,9 \pm 2,9 \text{ kg/m}^2$) (DM 2. typu) a 22 zdravých štíhlých kontrolních žen odpovídajícího věku (BMI $23,2 \pm 0,4 \text{ kg/m}^2$).

Hmotnost všech pacientek byla stabilní nejméně po dobu 3 měsíců před začátkem studie. Pacienti s DM 2. typu byli léčeni dietou, metforminem nebo kombinací metforminu a glimepiridu. Diabetická léčba se po dobu studie neměnila.

Všechny subjekty byly změřeny a zváženy a byl spočítán BMI.

potvrzuje zvýšenou přítomnost imunokompetentních buněk v tukové tkáni pacientů se selháním ledvin. Tyto buňky mohou společně s adipocyty výrazně přispívat ke zvýšení produkce prozánětlivých faktorů v tukové tkáni těchto pacientů.

Naše výsledky prokázaly u pacientů se selháním ledvin zvýšenou infiltraci tukové tkáně imunokompetentními buňkami a zvýšenou expresi prozánětlivých cytokinů. Teprve další výzkumy mohou prokázat, zda produkce prozánětlivých molekul tukovou tkání má zásadní význam při rozvoji zánětlivé reakce u pacientů s renálním selháním.

5.3. Pref-1 a inzulínová rezistence

Nejdůležitějším nálezem této studie je, že bazální sérové koncentrace Pref-1 jsou významně vyšší u obézních pacientů s DM 2. typu ve srovnání s kontrolní skupinou, zatímco u obézních pacientů bez DM 2. typu se sérové koncentrace neliší od kontrolní skupiny. Dále bylo prokázáno, že dieta s velmi nízkým obsahem kalorií podávaná po dobu 3 týdnů snižuje sérové koncentrace Pref-1 u obézních pacientů jak s DM 2. typu tak bez současné přítomnosti DM 2. typu. Exprese mRNA pro Pref-1 pouze vykazovala tendenci ke zvýšení ve viscerální tukové tkáni ve srovnání s podkožní tukovou tkání jak u zdravých subjektů tak u obézních pacientů. Obézní pacienti vykazovali dále tendenci k vyšší expresi Pref-1 ve viscerální tukové tkáni. Žádné z těchto srovnání však nedosáhlo statistické významnosti.

Fenotyp obézních pacientů s DM 2. typu se liší od obézních pacientů bez DM 2. typu mimo jiné stupněm inzulínové rezistence. Naše výsledky naznačují, že obézní pacienti s DM 2. typu mají vyšší cirkulující hladiny Pref-1 ve srovnání s kontrolní skupinou. Vyšší hladiny Pref-1 u obézních pacientů s DM 2. typu také korelují s hladinou inzulínu, glykemií a hladinou leptinu. Nález úzkého spojení zvýšených hladin Pref-1 se zvýšením stupně inzulínové rezistence u diabetických pacientů je v souladu s myším modelem nadprodukce Pref-1, kdy tyto myši vykazují také vysoký stupeň inzulínové rezistence (34). V naší studii jsme také sledovali možný vliv redukce hmotnosti na cirkulující hladiny Pref-1. V této studii bylo stejně jako v předchozích studiích prokázáno, že dieta s velmi nízkým obsahem

circulujících prozánětlivých cytokinů. Toto zvýšení je vysvětlováno kombinací zvýšené systémové produkce těchto faktorů díky subklinickému zánětu a případně také díky jejich snížené degradaci ledvinami. Naše současná studie ukazuje, že tuková tkáň pacientů se selháním ledvin by mohla být významným zdrojem prozánětlivých cytokinů. Již dříve bylo prokázáno, že systémová aktivace imunitní odpovědi kardiologickým zákrokem výrazně zvyšuje produkci prozánětlivých cytokinů v podkožní a epikardiální tukové tkáni podobně jako v nynější studii (27-29). Domníváme se proto, že aktivace imunokompetentních buněk v tukové tkáni může představovat důležitou a univerzální část systémové zánětlivé reakce aktivované různými signály.

Ve skupině pacientů se selháním ledvin jsme našli, podobně jako v předchozích studiích (30; 31) charakteristickou dyslipidémii se zvýšením triglyceridů a snížením HDL cholesterolu. 4 z 15 pacientů byli léčeni statiny pro hyperlipidémii. U statinů je znám jejich protizánětlivý účinek (1), a jejich podání pacientům mohlo tedy částečně ovlivnit výsledky studie. V analýze podskupiny pacientů se selháním ledvin užívajících statiny nicméně nebyl pozorován rozdíl oproti skupině bez terapie statiny s ohledem na hladinu prozánětlivých cytokinů nebo CRP.

Nikdo ze subjektů ve studii neměl diabetes mellitus. Obě skupiny měly podobnou hladinu HbA1c, ale skupina se selháním ledvin měla statisticky vyšší hladiny inzulínu. Zvýšené hladiny inzulínu ve skupině se selháním ledvin jsou pravděpodobně ukazatelem zvýšené inzulínové rezistence způsobené prozánětlivými cytokiny nebo jinými faktory (32; 33). Navíc se na nich může také podílet snížená degradace inzulínu v důsledku poruchy renální funkce.

Profil prozánětlivých cytokinů a zvýšená infiltrace jak viscerální tak podkožní tukové tkáň CD-68 pozitivními imunokompetentními buňkami u pacientů se selháním ledvin je podobná jako u pacientů s obezitou a s inzulínovou rezistencí. Jak podkožní tak viscerální tuková tkáň pacientů se selháním ledvin se vyznačuje významným zvýšením exprese markeru přítomnosti imunokompetentních buněk CD-68 a zvýšenou infiltrací CD-68 pozitivními imunokompetentními buňkami podobně, jako to bylo popsáno u pacientů s obezitou (23). Tento nále

Antropometrické vyšetření a odběry krve pacientů a kontrolní skupiny v první podstudii byly provedeny jeden den před operací. V druhé podstudii byli všichni pacienti vyšetřeni před započítím nízkokalorické diety a po 3 týdnech jejího trvání.

V krevních vzorcích byly měřeny standardní biochemické parametry, plazmatické hladiny inzulínu, leptinu, adiponektinu a sérová koncentrace Pref-1. Ve vzorcích tukové tkáň byla stanovena exprese mRNA pro Pref-1. Výsledky jsou uvedeny jako průměr \pm střední chyba průměru (SEM). Výsledky byly považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

4. Výsledky

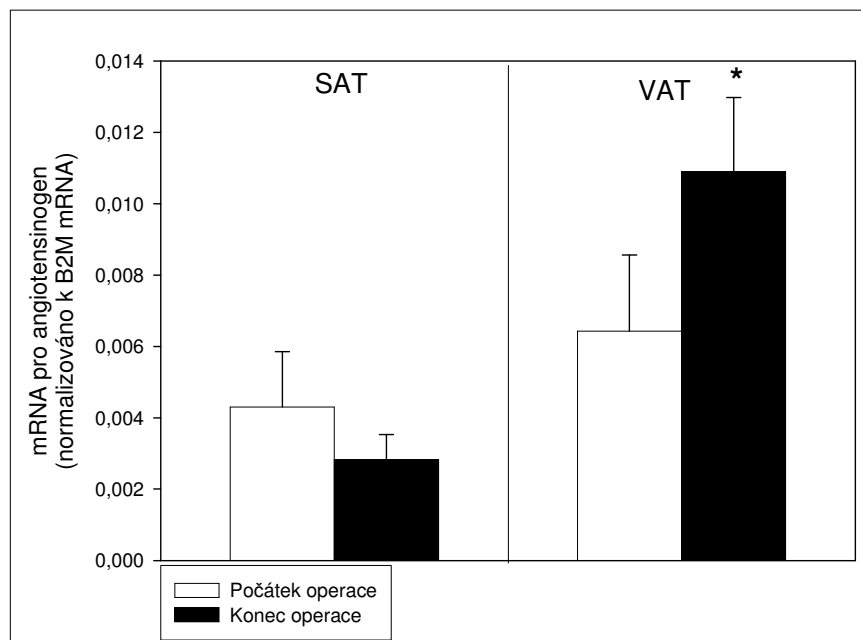
4.1. Systém renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáň a inzulínová rezistence u kriticky nemocných

Sérové hladiny glukózy a inzulínu byly signifikantně vyšší na konci operace, což naznačuje rozvoj inzulínové rezistence. Naopak sérové koncentrace adiponektinu pouze vykazovaly tendenci k poklesu v průběhu operace, ale tato změna nedosáhla statistické významnosti.

Na počátku operace nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v expresi mRNA angiotenzinogenu (AGT), angiotenzin konvertujícího enzymu (ACE) a receptoru 1 pro angiotenzin II (AGTR1) mezi podkožní a epikardiální tukovou tkání. Expese mRNA pro angiotenzinogen vzrostla statisticky významně v epikardiální tukové tkáni na konci operačního zákroku, zatímco v podkožní tukové tkáni nebyla změna zaznamenána. Jak mRNA pro angiotenzin-konvertující enzym tak mRNA pro receptor typu 1 pro angiotenzin II se statisticky významně neměnila v průběhu operačního zákroku. Nebyla nalezena korelace mezi hladinou krevní glukózy, sérovým inzulínem, sérovým adiponektinem a expresí angiotenzinogenu.

Graf 1 - Expese mRNA pro angiotenzinogen v podkožní (SAT) a epikardiální tukové tkáni (VAT) na počátku (bílé sloupce) a na konci (černé sloupce) operace. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr \pm střední chyba průměru (SEM). Statistická významnost byla vypočítána

pomocí párového t-testu. * značí $p < 0,05$ vs. VAT na počátku operace.



4.2. Úloha tukové tkáně při vzniku systémového zánětu u pacientů s chronickým selháním ledvin

Antropometrické parametry a klinické charakteristiky souboru

Pacienti se selháním ledvin měli statisticky významně vyšší koncentrace triglyceridů a inzulínu a naopak nižší hladiny HDL cholesterolu ve srovnání s kontrolní skupinou. Obě skupiny se nelišily s ohledem na pohlaví, věk, BMI, celkový cholesterol a hladinu glykovaného hemoglobinu.

Sérové koncentrace hormonů a cytokinů a jejich vztah k BMI a CRP

Pacienti se selháním ledvin měli 4-krát vyšší hodnoty CRP ve srovnání s kontrolní skupinou. Sérové hladiny adiponektinu, resistinu, interleukinu-6, MCP-1 byly ~ 2-krát vyšší ve skupině se selháním ledvin než v kontrolní skupině. Hladiny TNF- α byly ve skupině se selháním ledvin 4-krát vyšší. Ve skupině se selháním ledvin nebyly oproti kontrolní skupině nalezeny změny v sérových hladinách leptinu

V naší studii nebyl hodnocen vliv angiotenzinogenu produkovaného tukovou tkání na systémové změny krevního tlaku v pooperačním období, ačkoliv tento účinek je tradičně nejdůležitějším systémovým účinkem systému renin-angiotenzin-aldosteron. Vyhodnocení změn krevního tlaku v pooperačním období nebylo možné z důvodu hemodynamické nestability pacientů s častou nutností použití farmakologické nebo mechanické podpory oběhu (např. katecholaminy, intraaortální balónová pumpa apod.).

Naše studie naznačuje, že zvýšená exprese mRNA pro angiotenzinogen v epikardiální tukové tkáni vede ke zvýšené produkci angiotenzinu II. Angiotenzin II pak může interferovat s inzulínovou signální kaskádou. Naše data ukazují, že zvýšená produkce angiotenzinogenu v epikardiální tukové tkáni může společně se zvýšenou produkcí dalších prozánětlivých faktorů přispívat k rozvoji inzulínové rezistence u kriticky nemocných pacientů.

5.2. Úloha tukové tkáně při vzniku systémového zánětu u pacientů s chronickým selháním ledvin

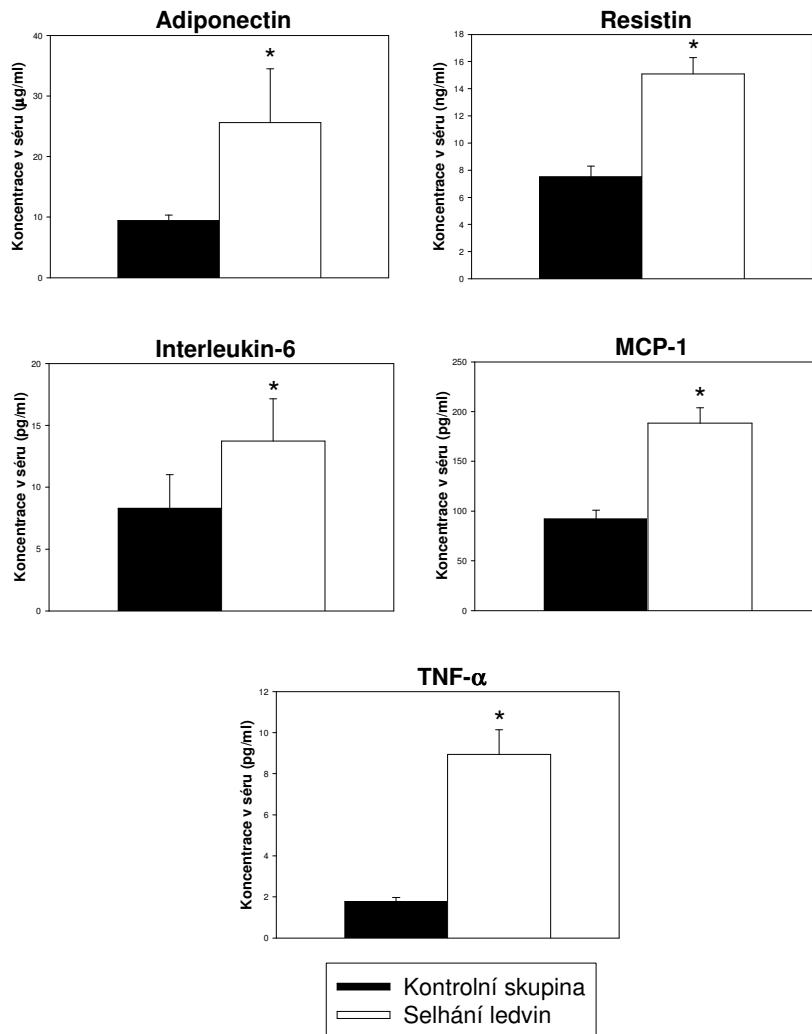
Předchozí studie prokázaly, že tuková tkáň je důležitým endokrinním orgánem produkujícím mnoho hormonů a cytokinů včetně prozánětlivých faktorů jako TNF- α , interleukin-6 a dalších (19; 20). Produkce prozánětlivých cytokinů je také zvýšena u pacientů s obezitou a/nebo kardiovaskulárními onemocněními, což naznačuje etiopatogenetickou souvislost těchto faktorů s rozvojem aterosklerózy a inzulínové rezistence (21). Jak experimentální tak klinické studie prokázaly, že tuková tkáň u obézních pacientů je charakterizována zvýšenou infiltrací imunokompetentními buňkami, které představují nejdůležitější producenty prozánětlivých faktorů. (22; 23). Hypotéza etiopatogenetické souvislosti zánětlivé reakce tukové tkáně s rozvojem inzulínové rezistence/aterosklerózy byla také podpořena studiemi, které dokládají, že částečná inhibice zánětu v tukové tkáni transgení (24) nebo farmakologickou manipulací zlepšuje inzulínovou senzitivitu a zpomaluje progresi aterosklerózy (25).

V této studii jsme prokázali podobně jako v předchozích studiích (26), že pacienti se selháním ledvin mají výrazně zvýšené hladiny

pacienti podstupující plánovanou srdeční operaci jako model inzulínové rezistence akutně vyvolané chirurgickým zákrokem. I přes poměrně heterogenní klinické charakteristiky souboru a malý počet pacientů tato studie prokazuje jednotnou odpověď organismu na stresový podnět. Operace významně zvýšila hladinu krevní glykémie stejně jako cirkulující hladiny inzulínu, což naznačuje rozvoj inzulínové rezistence. V této studii nicméně nebyla přímo měřena úroveň inzulínové rezistence, ale její přítomnost v pooperačním období po větší chirurgické operaci byla prokázána v jiných studiích (14). Sérové hodnoty adiponektinu vykazovaly tendenci ke snížení, ale nebylo dosaženo hranice statistické významnosti, což mohlo být částečně dáno také relativně malým počtem pacientů ve studii. Výsledky této studie potvrzují, že hlavní komponenty systému renin-angiotenzin-aldosteron (např. angiotenzinogen, angiotenzin-konvertující enzym, receptor typu 1 pro angiotenzin II) jsou exprimovány jak v podkožní tak i epikardiální tukové tkáni. Naše studie navíc prokázala, že kardiokirurgický zákrok zvýšil expresi mRNA pro angiotenzinogen v epikardiální ale nikoliv v podkožní tukové tkáni, což naznačuje možné zapojení epikardiální tukové tkáně do vzniku lokální a případně i systémové inzulínové rezistence. Zvýšená exprese komponent systému renin-angiotenzin-aldosteron (angiotenzinogen, receptor typu 1 pro angiotenzin II) v lidské viscerální tukové tkáni oproti podkožní tukové tkáni u jedinců s normální i zvýšenou hmotností byla prokázána ve studii Giacchetiho a spol. (15). V naší studii jsme našli zvýšenou expresi mRNA pro angiotenzinogen v epikardiální tukové tkáni u všech pacientů nezávisle na předchozí léčbě inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu (ramipril) nebo statinů, přičemž u obou typů těchto léčiv je znám příznivý vliv na inzulínovou senzitivitu (16; 17). Údaje z naší studie tedy dále potvrzují pohled na podkožní a viscerální tukovou tkáň jako na dva heterogenní orgány s různou expresí genů, produkcí proteinů a spojením s kardiovaskulárními chorobami, což je ve shodě s dříve provedenými studiemi, které také potvrzují rozdílnou genovou expresi tukové tkáně v těchto lokalizacích (18). V naší studii nebyla nalezena korelace mezi krevní glykemií, sérovými koncentracemi inzulínu a adiponektinu a expresí mRNA pro angiotenzinogen v epikardiální tukové tkáni.

(selhání ledvin vs. kontrolní skupina; $38,6 \pm 8,4$ ng/ml vs. $22,9 \pm 3,7$ ng/ml; $P=0,21$). Sérové hladiny resistinu pozitivně korelovaly s CRP ale nikoliv s BMI ($p=0,03$, $r=0,53$).

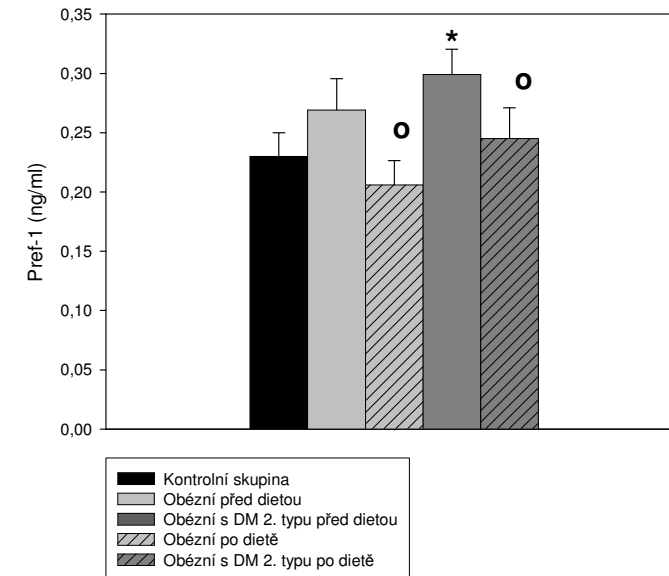
Graf 2 - Sérové koncentrace adiponektinu, resistinu, interleukinu-6, TNF- α a MCP-1 u zdravých kontrolních subjektů (tmavé sloupce) a pacientů se selháním ledvin (bílé sloupce). Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr \pm SEM s $n=17$ pro kontrolní skupinu a $n=15$ pro skupinu se selháním ledvin. Statistická významnost byla vypočítána pomocí T-testu nebo Mann-Whitney Rank Sum testu. * značí $p < 0.05$ vs. kontrolní skupina.



Změny exprese mRNA hormonů tukové tkáně a cytokinů a vztah k hladinám v cirkulaci

Expres mRNA pro adiponektin, receptor 2 pro adiponektin, leptin, interleukin-6 a resistin v podkožní a/nebo viscerální tukové tkáni u pacientů se selháním ledvin se nelišila od kontrolní skupiny. Expres mRNA pro TNF-α a marker imunokompetentních buněk CD68 byla signifikantně vyšší jak v podkožní tak ve viscerální tukové tkáni pacientů se selháním ledvin. Expres mRNA pro receptor 1 pro

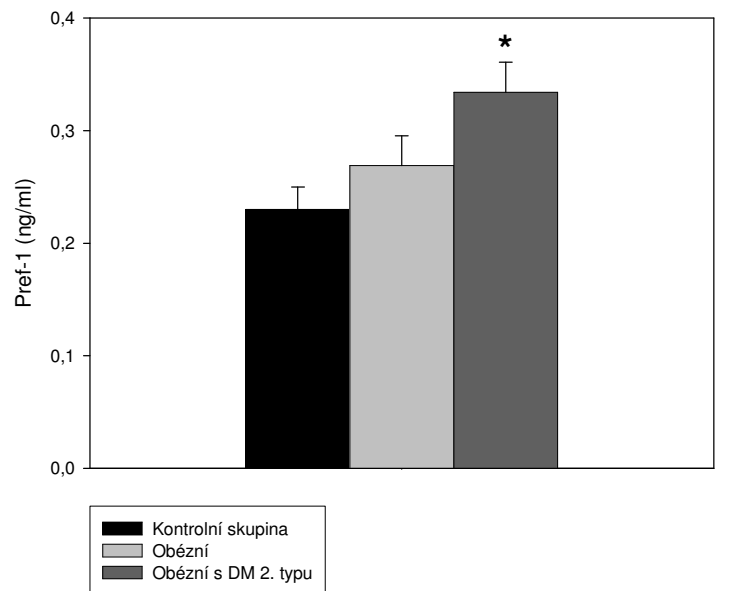
vypočítána pomocí t-testu nebo Mann-Whitney Rank Sum testu. * značí $p < 0.01$ DM 2. typu vs. kontrolní skupina; o $p < 0.01$ DM 2. typu po dietě vs. DM 2. typu před dietou, nebo obézní po dietě vs. obézní před dietou.



5. Diskuse

5.1. Systém renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáně a inzulínová rezistence u kriticky nemocných

Tuková tkáň byla již dříve identifikována jako zdroj komponent systému renin-angiotenzin-aldosteron (13); nicméně dosud nebylo popsáno, jakým způsobem odpovídá lokální systém renin-angiotenzin-aldosteron tukové tkáně na větší stresové podněty. Cílem naší studie bylo zjistit, jestli lokální produkce komponent systému renin-angiotenzin-aldosteron v tukové tkáni přispívá ke vzniku inzulínové rezistence po kardiochirurgickém zákroku. V této studii byli vybráni



V kombinované populaci zdravých neobézních žen a obézních žen s DM 2. typu korelovaly cirkulující hladiny Pref-1 s krevní glykemií ($r=0,348$, $p=0,010$), hladinami inzulínu ($r=0,390$, $p=0,004$), s HOMA-indexem ($r=0,426$, $p=0,002$), hladinami leptinu ($r=0,384$, $p=0,003$), ale ne s BMI, cholesterolem, triglyceridy a hladinou adiponektinu.

Vliv diety s velmi nízkým obsahem kalorií na hladinu Pref-1 u obézních pacientek a obézních pacientek s DM 2. typu

Sérové hladiny Pref-1 jak u obézních pacientek bez DM 2. typu tak u obézních pacientek s DM 2. typu signifikantně poklesly po 3 týdnech diety s velmi nízkým obsahem kalorií.

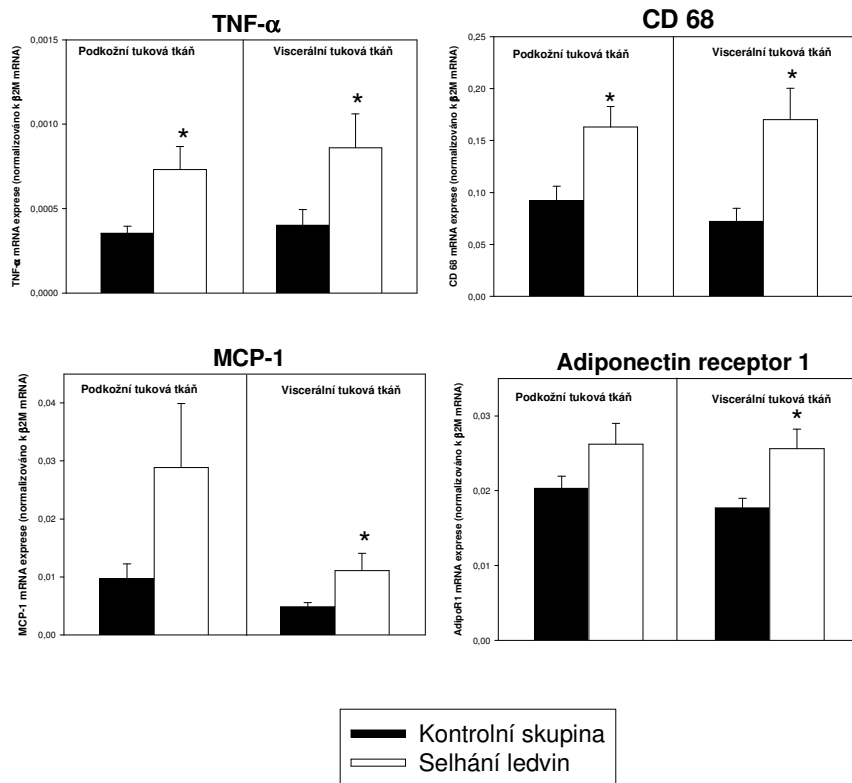
Graf 5- Sérové hladiny Pref-1 u kontrolní skupiny, obézních pacientů před dietou, obézních pacientů po 3 týdnech diety, pacientů s DM 2. typu před dietou, pacientů s DM 2. typu po 3 týdnech diety. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr \pm SEM. Statistická významnost byla

adiponektin a MCP-1 byla vyšší ve viscerální tukové tkáni ale nikoliv v podkožní tukové tkáni pacientů se selháním ledvin ve srovnání s kontrolní skupinou.

Expresí mRNA pro leptin jak ve viscerální tak v podkožní tukové tkáni korelovala s cirkulujícími hladinami leptinu ($p=0,002$, $r=0,68$; $p=0,04$, $r=0,49$; respektive). Podobný vztah platil pro expresi mRNA pro interleukin-6 ve viscerální tukové tkáni a jeho cirkulující hladiny ($p=0,02$, $r=0,57$). Pro další sledované adipokiny nebyla nalezena signifikantní korelace mezi expresí mRNA a cirkulujícími hladinami.

Při srovnání podkožní a viscerální tukové tkáně u pacientů se selháním ledvin a kontrolní skupinou nebyly nalezeny signifikantní rozdíly mezi expresí mRNA studovaných adipokinů.

Graf 3 - Expresí mRNA pro TNF- α , CD 68, MCP-1 a receptor 1 pro adiponektin v podkožní a viscerální tukové tkáni u zdravých kontrolních subjektů (tmavé sloupce) a pacientů se selháním ledvin (bílý sloupec). Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr \pm SEM. s $n=17$ pro kontrolní skupinu a $n=15$ pro skupinu se selháním ledvin. Statistická významnost byla vypočítána pomocí T-testu nebo Mann-Whitney Rank Sum testu. * značí $p < 0.05$ vs. kontrolní skupina.



Imunohistochemické vyšetření tukové tkáně

Ve skupině pacientů se selháním ledvin byla nalezena zvýšená infiltrace jak viscerální tak podkožní tukové tkáně CD-68 pozitivními imunokompetentními buňkami (selhání ledvin oproti kontrolní skupině

Souhrn

Hyperglykémie a inzulínová rezistence jsou související stavy, které zvyšují riziko rozvoje kardiovaskulárních chorob. K hyperglykémii a inzulínové rezistenci dochází také u kriticky nemocných pacientů a tento stav je spojen s vyšší morbiditou a mortalitou. Naše předchozí studie prokázala, že tuková tkáň hraje v průběhu kritického onemocnění významnou roli při vzniku hyperglykémie díky zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů. První část této dizertační práce je proto zaměřena na lokální systém renin-angiotenzin-aldosteron u kriticky nemocných pacientů jakožto další systém tukové tkáně, který je spojen s inzulínovou rezistencí. Naše studie prokázala, že kardiochirurgický zákrok zvýšil expresi mRNA pro angiotenzinogen v epikardiální ale nikoliv v podkožní tukové tkáni, což naznačuje možné zapojení systému renin-angiotenzin-aldosteron epikardiální tukové tkáně do vzniku lokální a případně i systémové inzulínové rezistence.

Další skupinou pacientů, která je ohrožena inzulínovou rezistencí a rychlým rozvojem aterosklerózy a následnými kardiovaskulárními komplikacemi, jsou pacienti s chronickým selháním ledvin. Druhá část této dizertační práce je proto zaměřena na změny, které prodělává tuková tkáň u pacientů s chronickým selháním ledvin a především pak na produkci prozánětlivých faktorů a lokální zánětlivou reakci v tukové tkáni. Naše studie ukazuje, že tuková tkáň pacientů se selháním ledvin může být významným zdrojem prozánětlivých cytokinů a aktivace imunokompetentních buněk v tukové tkáni může představovat důležitou a univerzální část systémové zánětlivé reakce, která zhoršuje inzulínovou rezistenci u pacientů se selháním ledvin.

Preadipocytární faktor 1 (Pref-1) je relativně nově objevený protein, u kterého bylo prokázáno, že působí jako inhibitor diferenciacie preadipocytů. Ve třetí části práce jsme vycházeli z hypotézy, že Pref-1 může zásadním způsobem ovlivňovat glukózovou homeostázu a inzulínovou rezistenci u obézních pacientů s/bez DM 2. typu. Naše studie prokázala vyšší hladiny Pref-1 u obézních pacientů s DM 2. typu oproti zdravým jedincům a obézním pacientům bez DM 2. typu. Vyšší hladiny Pref-1 u obézních pacientů s DM 2. typu mohou potencionálně zhoršovat inzulínovou rezistenci a tím vést k výraznější poruše glukózového metabolismu.