

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Autoreferát dizertační práce



**ÚLOHA KOMPONENT OSY GH/IGF-1 V ETIOPATOGENEZE
METABOLICKÝCH ODCHYLEK U DIABETES MELLITUS
2. TYPU A AKROME GALIE**

MUDr. Věra Toušková

Praha 2016

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

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště: 3. interní klinika 1. LF UK a VFN

Školitel: Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

OBSAH

ABSTRAKT (CZ).....	4
ABSTRAKT (EN).....	5
1. ÚVOD.....	6
2. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE.....	7
3. METODIKA STUDIE.....	8
4. VÝSLEDKY.....	9
5. DISKUZE.....	10
6. ZÁVĚRY.....	16
7. LITERATURA.....	19
8. TABULKY A GRAFY.....	24
9. SEZNAM PUBLIKACÍ.....	34

ABSTRAKT (CZ)

Komponenty osy GH/IGF-1 (růstový hormon (GH), receptor růstového hormonu (GH-R), inzulínu podobný růstový faktor-1 (IGF-1), IGF-1 receptor (IGF-1R), IGF-vazebné proteiny (IGFBPs)) hrají úlohu v regulaci glukózového metabolismu, zánětlivých pochodů stejně jako v proliferaci a diferenciaci buněk včetně adipocytů i monocytů. Cílem předkládané práce bylo prozkoumat úlohu lokálních změn mRNA exprese komponent osy GH/IGF-1 v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech (PM) u obézních subjektů s a bez diabetes mellitus 2. typu a v podkožní tukové tkáni u neléčených akromegaliků ve vztahu k inzulínové rezistenci a změnám množství tukové tkáně.

V našich studiích jsme zkoumali celkem 66 subjektů, a to pacientky obézní bez diabetu 2. typu (OB), obézní diabetičky 2. typu (DM2), neléčené akromegaliky (AC) a zdravé kontrolní subjekty s normální hmotností (C). U obézních diabetiček byla provedena intervence zahrnující 2 týdny nízkokalorické diety (VLCD (very-low-calorie diet)– energetický obsah 2500 kJ/den).

Dle našich výsledků se domníváme, že snížená mRNA exprese IGF-1, IGF-1R, IGFBP-2 a IGFBP-3 v tukové tkáni u obézních diabetiček 2. typu by mohla přispívat ke změnám diferenciační kapacity tukové tkáně a že zvýšená mRNA exprese IGF-1R v periferních monocytech těchto pacientek by mohla hrát úlohu v regulaci subklinického zánětu periferními monocyty. Zvýšení IGFBP-2 v séru i tukové tkáni a zvýšení IGFBP-3 v periferních monocytech po VLCD u těchto subjektů by mohlo přispívat k metabolickému zlepšení po této intervenci.

U pacientů s neléčenou akromegalií jsme v podkožní tukové tkáni zjistili GH stimulované zvýšení IGF-1 a IGFBP-3 mRNA exprese, u které jsme neprokázali nezávislý vztah k množství celkového nebo trunkálního tuku ani k HOMA-indexu (homeostasis model assessment). IGFBP-3 by však mohl mít lokální regulační úlohu při ovlivnění inzulínové senzitivity v podkožní tukové tkáni.

ABSTRACT (EN)

GH/IGF-1 axis components (growth hormone (GH), growth hormone receptor (GH-R), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), IGF-1 receptor (IGF-1R), IGF-binding proteins (IGFBPs)) participate in the control of glucose metabolism, inflammatory processes as well as cell proliferation and differentiation, including adipocytes and monocytes. The aim of the present study was to evaluate the role of local mRNA expression of GH/IGF-1 axis components in subcutaneous adipose tissue (SCAT) and peripheral monocytes (PM) in obese females with and without type 2 diabetes mellitus and in SCAT of subjects with active untreated acromegaly in the development of insulin resistance and differences of adipose tissue mass.

A total number of 66 subjects were included in the study-obese females without type 2 diabetes mellitus (OB), obese females with type 2 diabetes mellitus (T2DM), acromegalic patients (AC) and healthy lean control subjects (C). T2DM underwent 2 weeks of very-low-calorie diet (VLCD – energy content 2500 kJ/day).

According to our results we suggest that decreased mRNA expression of IGF-1, IGF-1R, IGFBP-2 and IGFBP-3 in adipose tissue of T2DM subjects may contribute to changes of fat differentiation capacity and the increased IGF-1R mRNA expression in peripheral monocytes in these patients may play a role in the regulation of subclinical inflammation by peripheral monocytes. The increase of SCAT and circulating IGFBP-2 and of IGFBP-3 in PM after VLCD in these subjects may participate in metabolic improvements after this intervention.

In SCAT of acromegalic patients we found GH-stimulated increase of IGF-1 and IGFBP-3 mRNA expression that was not independently associated with percentage of whole body or truncal fat or with HOMA-index (homeostasis model assessment). However, IGFBP-3 may still have a local effect in the regulation of insulin sensitivity in adipose tissue in acromegaly.

1. ÚVOD

Neustále narůstající prevalence diabetu 2. typu spojeného s obezitou znepokojuje lékařské řady a podněcuje výzkumníky k hlubšímu studiu etiopatogeneze tohoto onemocnění a jeho dalšího možného ovlivnění jak na úrovni léčby, tak prevence. Z širokého výzkumného pole diabetu a jeho patofyziologie je známo, že jeden z hlavních patofyziologických mechanismů vedoucích k onemocnění diabetem představuje **inzulinová rezistence** a že zásadní roli v jejím rozvoji hraje tzv. **subklinický zánět** vznikající v tukové tkáni obézního jedince, potažmo diabetika. Dochází při něm k interakci mezi tukovou tkání a monocyty původem z periferní krve a následné produkci prozánětlivých cytokinů vedoucí k **poruchám inzulinové signální kaskády** (Bourlier et Bouloumie, 2009; Xu et al., 2003). Dysfunkce tukové tkáně spojená s **poruchou diferenciací adipocytů** a následné **ektopické ukládání lipidů** je dalším možným patofyziologickým mechanismem vzniku inzulinové rezistence (Goossens, 2008).

Problematika inzulinové rezistence a jejího možného ovlivnění je relativně široce zkoumána v souvislosti s celou řadou faktorů, jako jsou adipokiny, prozánětlivé cytokiny, cytoadhezivní molekuly, myokiny, hepatokiny, inkretiny, růstové faktory a další. Nás zaujala molekula inzulinu podobného růstového faktoru-1 (IGF-1), která sdílí některé vlastnosti jak růstového hormonu (GH), tak inzulinu, tedy dvou metabolicky protichůdných hormonů. **IGF-1** je mediátorem růstových účinků GH, ale má zároveň účinky podobné inzulinu a oproti GH **zlepšuje glukózovou toleranci a inzulinovou senzitivitu** (Moses et al., 1996; Mauras et Haymond, 2005) a snižuje lipolýzu/stimuluje lipogenezi (Rajpathak et al., 2009). IGF-1 a další komponenty této osy (GH, IGF-1R, IGFBPs) mají vliv na celou řadu pochodů včetně regulace růstu, apoptózy, proliferace a diferenciací buněk (Torres Aleman, 2005), a to včetně adipocytů a monocytů, mají tedy svou roli při **adipogenezi a regulaci imunitních a zánětlivých pochodů** (Blüher et al., 2005; Wabitsch et al., 1995; Saito et al., 1996). **Komponenty osy GH/IGF-1** jsou široce zkoumány v souvislosti s **léčbou různých patologických stavů spojených s diabetem**, ať už je to příznivý vliv rekombinantního lidského IGF-1 (rhIGF-1) na složení těla a inzulinovou senzitivitu (Mauras et Haymond, 2005; Moses et al., 1996), inhibiční vliv IGFBP-1-3 (Rajkumar et al., 1999; Claudio et al., 2010; Xi et al., 2013; Nguyen et al., 2015) na nárůst tukové tkáně u obezity, vazoprotektivní a protizánětlivé vlivy IGFBP-3 u diabetické retinopatie a inzulinové rezistence (Thakran et al., 2015; Zhang et al., 2013 -B; Mohanraj et al., 2013) či protektivní vliv GH antagonistů u diabetické nefropatie (Chen et al., 1997). Blokátory IGF-1R jsou široce zkoumány v souvislosti s onkologickou léčbou (Liang et al., 2011).

Je dobře známo, že u poruch glukózového metabolismu byly zjištěny změny v sérových koncentracích komponent osy GH/IGF-1 (Rajpathak et al., 2009). **Změny tkáňové exprese v souvislosti s poruchou glukózové homeostázy** však byly na klinické úrovni zkoumány zatím spíše ojediněle.

Zájem dále prozkoumat souvislost mezi úlohou komponent osy GH/IGF-1 a inzulinovou rezistencí nás vedl k myšlence sledovat tyto vztahy u další klinické jednotky- **akromegalie**, jež je podobně jako diabetes 2. typu také doprovázená změnami hladin GH/IGF-1 komponent (Arosio et al., 2001), změnami množství tukové tkáně (Katznelson, 2009) a inzulinovou rezistencí (Rodrigues et al., 2011). V řadě různých mechanismů GH navozené **poruchy inzulinové senzitivity** (Castro et al., 2004; Smith et al., 1997) bylo zkoumáno také **GH stimulované zvýšení p85alpha** regulační podjednotky fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K) (p85alpha) (del Rincon et al., 2007). Naopak její snížení bylo navrženo za možnou terapeutickou strategii ke zvýšení inzulinové signalizace (Barbour et al., 2005).

Lepší porozumění vztahů mezi lokální expresí GH/IGF-1 komponent v tukové tkáni, resp. periferních monocytech, a inzulinovou rezistencí by mohlo otevřít nové možnosti terapeutického či preventivního ovlivnění této metabolické poruchy.

9. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Na základě výše uvedených poznatků předpokládáme, že změny lokální exprese komponent osy GH/IGF-1 v tukové tkáni (a cirkulujících monocytech) se mohou významně podílet na etiopatogeneze poruchy glukózové tolerance, mimo jiné i prostřednictvím regulace subklinického zánětu, a přispívat ke změnám metabolismu tukové tkáně ve smyslu poruchy její diferenciaci a změn v jejím množství u pacientů s diabetes mellitus 2. typu a obezitou, potažmo i u akromegaliků. Dále předpokládáme, že změny sérových hladin nebo lokální mRNA exprese IGF-1 komponent vlivem kalorické restrikce mohou alespoň částečně přispívat k pozitivním metabolickým účinkům nízkokalorické diety. Tyto změny prakticky nebyly u lidí dosud systematicky zkoumány. Dále předpokládáme, že u akromegalie je mRNA exprese GH/IGF-1 komponent a p85alpha podjednotky PI3K v podkožní tukové tkáni ovlivněna dlouhodobě zvýšenými sérovými hladinami GH/IGF-1/inzulinu a že tyto změny exprese by mohly sehrávat roli při rozvoji inzulinové rezistence nebo při snížení množství tukové tkáně u akromegalie.

Specifické cíle naší práce byly následující:

1. Zkoumat úlohu komponent osy GH/IGF-1 v dysregulaci glukózového metabolismu prostřednictvím ovlivnění subklinického zánětu a množství tukové tkáně, a to primárně na úrovni tkáňové exprese IGF-1 komponent v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech u obézních jedinců s a bez diabetu 2. typu.
2. Zjistit možné změny sérových hladin a tkáňových mRNA expresí IGF-1 komponent vyvolané nízkokalorickou dietou u obézních diabetiček a zkoumat jejich možnou souvislost s pozitivním ovlivněním metabolismu.
3. Zkoumat efekt zvýšených hladin GH/IGF-1 komponent v séru u akromeglie na mRNA expresi komponent osy GH/IGF-1 v podkožní tukové tkáni a případné souvislosti s inzulinovou rezistencí nebo změnami množství tukové tkáně u těchto pacientů.
4. Ověřit, zda platí přímý vztah mezi zvýšenými sérovými hladinami inzulinu a GH a zvýšením tkáňové mRNA exprese p85alpha podjednotky PI3K i mimo experimentální studie, tj. také u pacientů s akromegalií, a zda lze tímto mechanismem částečně vysvětlit rozvoj inzulinové rezistence v tukové tkáni akromegaliků.

3. METODIKA STUDIE

Předkládaná práce obsahuje dvě studie zabývající se úlohou komponent osy GH/IGF-1/inzulin u diabetes mellitus 2. typu, obezity a akromegalie. Do první studie zkoumající sérové hladiny a mRNA expresi komponent osy IGF-1 u diabetes mellitus 2. typu a obezity bylo zařazeno 13 obézních pacientek s diabetes mellitus 2. typu, 11 obézních žen bez diabetes mellitus 2. typu a 18 zdravých štíhlých žen. Sérové hladiny vybraných metabolických parametrů byly stanoveny standardními laboratorními metodami. Sérové hladiny celkového IGF-1 a GH byly měřeny IRMA kity. Koncentrace inzulinu byly měřeny RIA kitem (Cis Bio International, Gif-sur-Yvette, Francie). Hladiny IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, volného IGF-1, adiponektinu a leptinu byly měřeny ELISA kity v plazmě. mRNA exprese vybraných genů byla stanovena pomocí real time PCR (RT PCR) ve vzorcích podkožní tukové tkáně a

izolovaných periferních monocytech za bazálních podmínek a po 2 týdnech nízkokalorické diety (energetický příjem 2500 kJ/den).

Do druhé studie bylo zařazeno 12 pacientů s aktivní akromegalií a 12 zdravých štíhlých kontrolních subjektů. Základní biochemické parametry byly stanoveny standardními laboratorními metodami. Sérové hladiny hormonů a GH/IGF-1 komponent byly stanoveny pomocí komerčních kitů ELISA, IRMA, RIA. mRNA exprese vybraných genů ve vzorcích podkožní tukové tkáně byla stanovena pomocí RT PCR.

U všech vyšetřovaných subjektů byla změřena tělesná výška a hmotnost a vypočítán body mass index (BMI – hmotnost v kg/výška v m²). Tělesné složení bylo určeno pomocí DEXA (dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA, Hologic Discovery, USA)).

Biopsie podkožní tukové tkáně byla u pacientů prováděna z abdominální oblasti pomocí aspirační jehlové biopsie, přičemž bylo odebráno přibližně 200-1000 mg tukové tkáně.

Monocyty byly z periferní krve izolovány magnetickou izolační metodou za použití magnetických mikrokuliček značených monocytovým antigenem CD14 (metoda MiniMacs). Stanovení mRNA exprese bylo provedeno pomocí RT PCR za využití panelu TaqMan® Custom Array.

Všechna klinická a laboratorní vyšetření byla prováděna na 3. interní klinice VFN ve spolupráci s Ústavem klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN.

Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí programu SigmaStat (SPSS Inc., USA). Antropometrické, biochemické a hormonální parametry byly vyjádřeny jako průměr ± SD (směrodatná odchylka průměru), pokud není uvedeno jinak. K vyhodnocení dat byly dle typu dat v jednotlivých podstudii použity následující metody a testy: párový a nepárový *t*-test resp. Mann-Whitney Rank Sum Test nebo Wilcoxonův Signed-Rank Test, jednocestná analýza rozptylu (One-Way ANOVA) následovaná Holm-Sidakovým nebo Dunnovým testem. Závislost mezi jednotlivými faktory byla hodnocena pomocí Spearmanova korelačního testu nebo mnohočetnou regresní analýzou (Backward stepwise regression). Za statisticky významné byly považovány rozdíly a korelace, kde byla hladina významnosti (*p*) menší než 0,05.

4. VÝSLEDKY

V první studii měly za bazálních podmínek obézní T2DM ženy signifikantně sníženou IGF-1, IGF-1R, IGFBP-2 a IGFBP-3 mRNA expresi v podkožní tukové tkáni (*Graf 2A-D*) a zvýšenou IGF-1R mRNA expresi v periferních monocytech (*Graf 1A*) ve srovnání s C

skupinou. U OB skupiny měla mRNA exprese IGF-1R v periferních monocytech (*Graf 1A*) a IGF-1 (*Graf 2A*) a IGFBP-2 (*Graf 2C*) v podkožní tukové tkáni nesignifikantní tendenci ke stejným změnám jako u T2DM. IGF-1R (*Graf 2B*) a IGFBP-3 (*Graf 2D*) exprese v podkožní tukové tkáni byly srovnatelné mezi OB a C skupinou. Dva týdny nízkokalorické diety vedly u obézních diabetiček ke snížení hmotnosti ($138,3 \pm 6,3$ vs. $128,8 \pm 5,9$ kg, $p < 0,05$) spojenému se zlepšením metabolického profilu (HOMA-index $12,07 \pm 1,93$ vs. $8,75 \pm 1,43$, $p < 0,05$) spolu se zvýšením IGFBP-2 v séru (232 ± 30 vs. 259 ± 23 ng/ml, $p < 0,05$) a podkožní tukové tkáni (*Graf 2C*) a zvýšením IGFBP-3 v periferních monocytech (*Graf 1B*).

Ve druhé studii měla AC skupina v porovnání s C skupinou signifikantně snížené procento celkového ($21,4 \pm 5,7$ vs. $29,3 \pm 5,1$ (%), $p = 0,021$) a trunkálního ($20,3 \pm 5,1$ vs. $27,7 \pm 4,9$ (%), $p = 0,019$) tělesného tuku a zvýšený HOMA-index ($10,01$ ($8,03-13,69$) vs. $1,88$ ($1,35-2,81$), $p = 0,006$). V podkožní tukové tkáni měli AC signifikantně zvýšené mRNA exprese IGF-1 a IGFBP-3 (*Graf 3*), které obě pozitivně korelovaly s hladinou GH v séru (*Tabulka 4*). P85alpha mRNA exprese v podkožní tukové tkáni se signifikantně nelišila mezi skupinami (*Graf 3*). IGF-1 a IGFBP-3 exprese v podkožní tukové tkáni nebyly nezávisle spojeny s procentem celkového a trunkálního tuku, ani s HOMA-IR (*Tabulka 5 a 6*). IGFBP-3 exprese však byla nezávislým prediktorem mRNA exprese inzulinového receptoru (INS-R) a p85alpha v podkožní tukové tkáni (*Tabulka 6*).

5. DISKUZE

Mezi cirkulujícími monocyty a tukovou tkání byly při rozvoji systémového subklinického zánětu, diabetu 2. typu a jeho aterosklerotických komplikací v předchozích studiích popsány složité interakce (Mraz et al., 2011; Bourlier et Bouloumie, 2009; Suganami et al., 2005). **Signifikantně zvýšená IGF-1R mRNA exprese v monocytech** u pacientů s diabetem 2. typu ve srovnání jak s obézními, tak kontrolními subjekty, kterou jsme prokázali v naší práci, naznačuje možný podíl komponent osy IGF-1 na regulaci zánětlivého stavu periferních monocytů u pacientů s diabetem 2. typu. Dřívější studie ukázaly, že IGF-1 se účastní rozvoje endoteliální dysfunkce zvýšením prozánětlivé signální transdukce cytokiny (Che et al., 2002), má pozitivní vlivy na stimulaci maturace myeloidních buněk (Saito et al., 1996), diferenciaci monocytů v makrofágy (Serri et al., 2004), migraci fagocytů (neutrofilů a monocytů) (Saito et al., 1996) a proliferaci lidských periferních mononukleárních buněk a T-lymfocytů (Koojiman et al., 1992-B). Tyto nálezy naznačují, že IGF-1 má zřejmě obecnější úlohu v regulaci

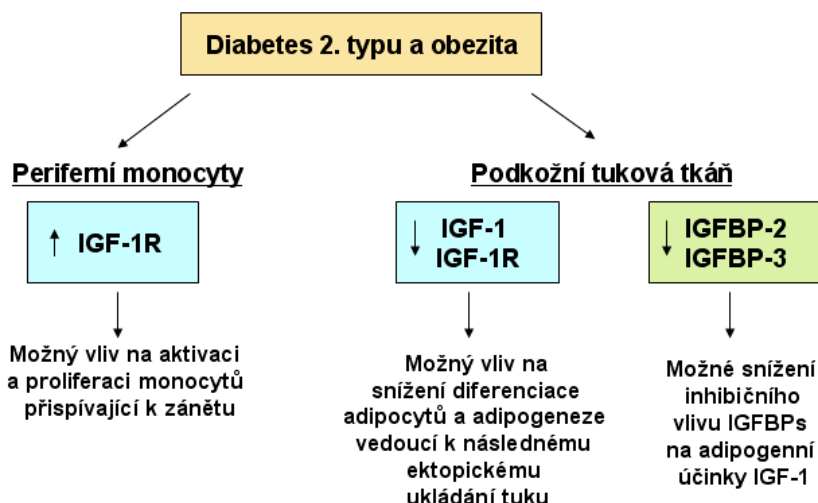
zánětlivých a imunologických procesů. Zvýšená vazebná kapacita pro IGF-1 daná zvýšením IGF-1R exprese na periferních monocytech u obézních pacientek a pacientek s diabetem 2. typu, zjištěná v naší práci, by tak mohla naznačovat novou regulační úlohu IGF-1 v rozvoji subklinického zánětu prostřednictvím **prozánětlivé aktivace periferních monocytů**.

Na rozdíl od signifikantně zvýšené IGF-1R mRNA exprese v periferních monocytech a signifikantně snížené IGF-1 a IGFBP-2 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni obézních pacientek s diabetem 2. typu byl prokázán pouze nesignifikantní trend k těmto změnám u obézních subjektů bez diabetu. Tyto nálezy poukazují na možnou úlohu lokálních změn mRNA exprese komponent osy IGF-1 v postupné progresi metabolické poruchy od prosté obezity a inzulínové rezistence ke zjevné poruše glukózového metabolismu.

Zatímco změny exprese komponent osy IGF-1 v periferních monocytech byly většinou méně vyjádřené, obezita a diabetes 2. typu byly spojeny s výraznějšími změnami komponent osy IGF-1 v podkožní tukové tkáni. Zjistili jsme **sníženou IGF-1, IGFBP-2, IGFBP-3** a na rozdíl od periferních monocytů také **sníženou IGF-1R mRNA expresi v podkožní tukové tkáni** u pacientů s diabetem 2. typu, což naznačuje rozdílnou regulaci těchto molekul v tukové tkáni a v periferních monocytech. Předchozí studie prokázaly důležitou roli IGF-1 a IGF-1R v adipogenezi, při stimulaci proliferace a diferenciaci preadipocytů a adipocytů (Blüher et al., 2005; Peter et al., 1993; Sato et al., 2008; Mur et al., 2003; Valverde et al., 1997), akumulaci lipidů in vitro (Grohmann et al., 2005) a při modulaci expanze bílé tukové tkáně (Klötting et al., 2008). Snížená IGF-1 a IGF-1R mRNA exprese v podkožní tukové tkáni, zjištěná v naší studii, by tak mohla přispívat ke **snížené diferenciační kapacitě tukové tkáně** u obézních diabetiků 2. typu. Tato porucha by tak mohla vést k nadměrné akumulaci lipidů ve tkáních mimo tuková depa a napomáhat rozvoji inzulínové rezistence a dalších přidružených metabolických poruch.

Ačkoli Grohmann et al. prokázali stimulační vliv IGFBP-3 na diferenciaci viscerálních a subkutánních adipocytů u dětí (Grohmann et al., 2005), další práce potvrdily inhibiční vliv IGFBP-3 na diferenciaci preadipocytů i na funkci diferencovaných adipocytů (Baxter et al., 2009; Chan et al., 2009; de Silva et al., 2012). **Snížená IGFBP-3 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni** u našich obézních pacientek s diabetem je v souladu se sníženou expresí IGFBP-3 v mezenteriálním tuku u potkanů s dietou indukovanou obezitou, což dle autorů této studie naznačuje, že **IGFBP-3 by mohl mít protektivní vliv proti obezitě** (Palau et al., 2012; Mohanraj et al., 2013).

Obrázek 1: Vliv diabetu 2. typu a obezity na lokální expresi komponent osy IGF-1 a možné dopady těchto změn (IGF-1, inzulinu podobný růstový faktor 1; IGF-1R, IGF-1 receptor; IGFBP, IGF-vazebné proteiny)

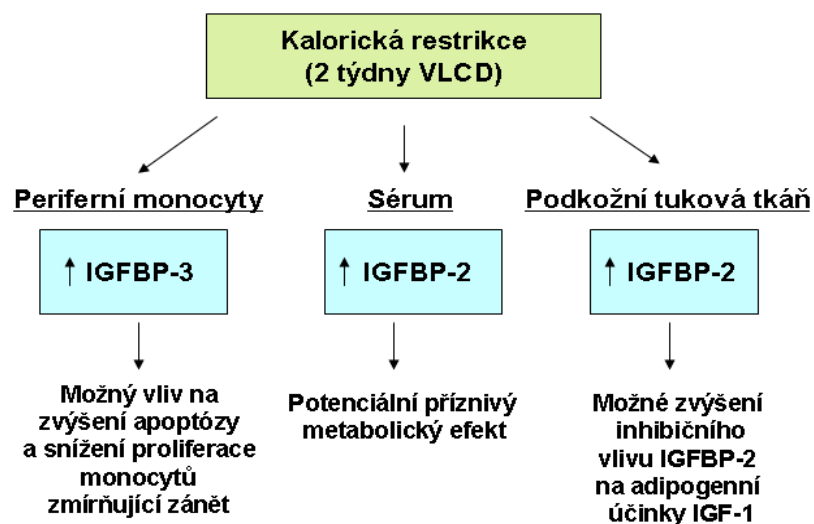


Dva týdny přísné kalorické restrikce významně snížily tělesnou hmotnost, zlepšily metabolické parametry a snížily hladiny CRP, což svědčí o snížení subklinického zánětu u našich pacientek s diabetem 2. typu. Zajímavé je, že jsme nepozorovali žádný vliv VLCD na IGF-1R mRNA expresi v periferních monocytech v této studii. Na druhou stranu jsme zjistili **signifikantní zvýšení IGFBP-3 mRNA exprese v periferních monocytech po VLCD**, která dosáhla dokonce vyšších hladin než u kontrolní skupiny. Tento nálezn může být důležitý vzhledem k popsané úloze IGFBP-3 při stimulaci zástavy růstu a apoptózy buněk, jeho antiproliferativní aktivitě u myeloidních leukemických buněk (Ikezoe et al., 2004) a k popsaným protizánětlivým na IGF-1 nezávislým účinkům IGFBP-3 skrze interakci s NFκB signalizací (Han et al., 2011; Ingermann et al., 2010; Mohanraj et al., 2013). Domníváme se proto, že zvýšení IGFBP-3 exprese v periferních monocytech po VLCD v naší studii by mohlo přispívat ke **snížení prozánětlivé monocytární aktivity spojené s metabolickým zlepšením** po VLCD.

Dalším významným efektem VLCD, zjištěným v naší studii, byla **normalizace významně snížené IGFBP-2 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni** u obézních subjektů s diabetem 2. typu. U geneticky obézních *ob/ob*, *db/db* myši a myši s obezitou vyvolanou vysokotukovou dietou byla také zjištěna významně nižší IGFBP-2 mRNA exprese ve viscerální tukové tkáni ve srovnání se štíhlými zvířaty (Li et Picard, 2010). Předchozí studie naznačily, že IGFBP-2 secernovaný z bílé tukové tkáně přispívá k prevenci dietou navozené obezity a s věkem spojené inzulinové rezistence u myši (Li et Picard, 2010). Rekombinantní IGFBP-2 blokoval diferenciaci 3T3-L1 buněk a adipogenezi *in vitro* (Wheatcroft et al., 2007). Některé

předchozí studie ukázaly zvýšení sérových hladin IGFBP-2 po lačnění (Clemmons et al., 1991) nebo po restrikci proteinů ve stravě (Smith et al., 1995). Významné zvýšení IGFBP-2 v séru a jeho exprese v podkožní tukové tkáni v naší studii po VLCD je v soulasu s jeho navrhovanou úlohou **modulátoru pozitivních metabolických účinků** jak na lokální, tak na systémové úrovni pravděpodobně skrze **regulaci adipogenní kapacity tukové tkáně, omezení dalšího přírůstku hmotnosti** (Claudio et al., 2010) a **regulaci biodostupnosti IGF-1** během krátkodobé kalorické restrikce u obézních subjektů (Rasmussen et al., 2006).

Obrázek 2: Vliv kalorické restrikce na hladiny komponent osy IGF-1 a možné dopady těchto změn (IGF-1, inzulinu podobný růstový faktor-1; IGFBP, IGF-vazebný protein; VLCD, nízkokalorická dieta).



V první části naší práce jsme tedy ukázali, že obézní ženy s diabetem 2. typu mají oproti kontrolní skupině **sníženou mRNA expresi IGF-1, IGF-1R, IGFBP-2 a IGFBP-3 v podkožní tukové tkáni**, což by mohlo přispívat ke změnám v diferenciační kapacitě tukové tkáně a jejího množství, a zároveň **zvýšenou IGF-1R mRNA expresi v periferních monocytech**, která by se mohla podílet na regulaci subklinického zánětu periferními monocyty. Zjistili jsme také signifikantní **zvýšení IGFBP-2 v séru i v tukové tkáni a zvýšení IGFBP-3 v periferních monocytech po VLCD**. Tyto změny by mohly hrát roli v metabolickém zlepšení po VLCD. Přesný mechanismus regulace exprese komponent osy IGF-1 v podkožní tukové tkáni nebo periferních monocytech, jeho klinický význam a kauzální vztah k regulaci metabolických změn a subklinického zánětu u obezity a diabetu 2. typu je však třeba zkoumat v dalších studiích.

2. Ve druhé části naší práce nás zajímal vliv dlouhodobě zvýšených hladin GH/IGF-1 u neléčených akromegaliků na mRNA expresi vybraných komponent osy GH/IGF-1/inzulin v podkožní tukové tkáni a možné souvislosti těchto změn s poruchou inzulinové senzitivity a snížením množství tukové tkáně přítomných u těchto pacientů. V porovnání se zdravými štíhlými subjekty jsme našli **u akromegaliků v podkožní tukové tkáni** signifikantně **zvýšenou mRNA expresi IGF-1 a IGFBP-3**. Jak IGF-1, tak IGFBP-3 mRNA exprese pozitivně korelovala se sérovou hladinou GH, což naznačuje **přímý stimulační vliv GH** na lokální produkci IGF-1 a IGFBP-3 v podkožním tuku. V předchozích studiích byla produkce IGF-1 tukovou tkání po stimulaci GH zjištěna v experimentálních podmínkách i u zdravých jedinců (Vikman et al., 1991; Peter et al., 1993; Wabitsch et al., 1996; Jørgensen et al., 2006). Peter et al. (Peter et al., 1993) popsali, že v tukové tkáni u potkanů je mRNA exprese všech IGFBPs, včetně IGFBP-3, regulována GH. Další experimentální studie ukázaly stimulační vliv GH na IGFBP-3 expresi v játrech, svalu a kůži u potkanů s GH deficitem (Lemmey et al., 1997), na sérovou hladinu IGFBP-3 u prasat (Wester et al., 1998) nebo na jeho sekreci z prasečí tukové tkáně (Chen et al., 1996) nebo lidských preadipocytů (Wabitsch et al., 2000). Nedávná studie u akromegaliků také zjistila zvýšenou IGF-1 a IGFBP-3 mRNA expresi v jejich podkožní tukové tkáni (Hochberg et al., 2015). V naší studii byl **GH jedním z nezávislých prediktorů IGFBP-3 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni**, což potvrzuje přímou regulační úlohu GH.

Dřívější studie zjistily stimulační vliv IGF-1 na mRNA expresi IGFBP-3 v kůži (Lemmey et al., 1997) nebo v játrech (Gosteli-Peter et al., 1994), avšak pokud je nám známo, žádná podobná zjištění dosud neexistují pro tento efekt v tukové tkáni. V naší studii byla **IGF-1 mRNA exprese nezávislým prediktorem IGFBP-3 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni a obráceně**, což poukazuje na jejich možné vzájemné lokální interakce.

U akromegalických pacientů jsme podle očekávání zjistili signifikantně nižší **procento celkového a trunkálního tuku** a zvýšené procento beztukové tělesné hmoty (lean body mass) ve srovnání s kontrolní skupinou, což je v souladu s nálezy z předchozích studií (Katznelson et al., 2009). Dále jsme pozorovali **inverzní vztah** mezi IGFBP-3 expresí v tukové tkáni a procentem celkového a trunkálního tuku a mezi IGF-1 expresí v tukové tkáni a procentem trunkálního tuku, což naznačuje možný kauzální vztah. Předchozí práce ukázaly, že během diferenciaci lidských preadipocytů dochází ke zvyšování exprese IGF-1 i IGFBP-3 (Baxter et al., 2009). Zatímco však IGF-1 stimuluje tento proces a adipogenezi (Peter et al., 1993; Chen et al., 1995), IGFBP-3 má inhibiční účinky na tyto procesy (Baxter et al., 2009; Chan et al.,

2009). V souhlasu s tímto efektem IGFBP-3 měly v první studii naší práce obézní ženy s diabetem sníženou mRNA expresi IGFBP-3 v podkožním tuku. I když se myšlenka lokální regulační úlohy IGF-1 a IGFBP-3 v podkožní tukové tkáni zdá lákavá, **IGF-1 ani IGFBP-3 mRNA exprese v podkožním tuku nebyly nezávislými prediktory procenta celkového nebo trunkálního tuku**. Tento koncept by nicméně jistě zasluhoval další zkoumání.

Za účelem podrobnějšího porozumění možné regulační úlohy lokálních změn mRNA exprese IGF-1 a IGFBP-3 v systémových metabolických změnách u akromegalie jsme zkoumali vztahy mezi IGF-1 a IGFBP-3 mRNA expresí v podkožní tukové tkáni a vybranými parametry glukózového metabolismu a inzulínové rezistence. V předchozích studiích byla IGF-1 exprese v myších transplantátech tukové tkáně spojena s protizánětlivými a příznivými metabolickými vlivy u diabetických myší (Gunawardana et Piston, 2015). Jak IGF-1 (Kubota et al., 2008; Neacsu et al., 2013), tak IGFBP-3 (Mohanraj et al., 2013) vykazovaly protizánětlivé a inzulín-senzitizující účinky v adipocytech. Na druhou stranu několik studií ukázalo, že IGFBP-3 může v adipocytech různými mechanismy snižovat inzulínovou senzitivitu (Kim et al., 2007; Chan et al., 2005). V naší studii jsme **nejjistili nezávislou asociaci IGF-1 nebo IGFBP-3 exprese v podkožním tuku s HOMA-indexem**, který byl u AC skupiny signifikantně zvýšen, zjistili jsme však, že **IGFBP-3 exprese byla nezávislým prediktorem INS-R a p85alpha exprese v podkožním tuku**. To by mohlo poukazovat na možnou lokální úlohu IGFBP-3 v regulaci inzulínové senzitivity v tukové tkáni u akromegaliků.

Řada předchozích experimentálních studií naznačila důležitou úlohu nadbytku GH při stimulaci exprese p85alpha regulační podjednotky PI3K a následný rozvoj GH navozené inzulínové rezistence (del Rincon et al., 2007; de Castro Barbosa et al., 2009; Barbour et al., 2005). Snížení p85alpha exprese bylo na druhou stranu navrženo jako jeden z možných mechanismů pro léčbu diabetu 2. typu (Mauvais-Jarvis et al., 2002). Dalším důležitým regulátorem p85alpha je inzulín. Inzulín-rezistentní stavy byly v předchozích studiích spojeny s nesourodými výsledky ukazujícími jak zvýšenou (Adochio et al., 2009; Cornier et al., 2006), tak sníženou (Anai et al., 1998) tkáňovou (játra, svaly) expresi p85alpha a také poruchu stimulačního vlivu akutní hyperinzulinémie na p85alpha expresi (Lefai et al., 2001). V našem souboru **vedly dlouhodobě zvýšené sérové hladiny GH/inzulinu u pacientů s akromegalií pouze k nesignifikantnímu zvýšení p85alpha mRNA exprese v podkožní tukové tkáni** ve srovnání s kontrolní skupinou, což je v souhlasu s výsledkem nedávné studie u pacientů s akromegalií (Hochberg et al., 2015). Nenalezli jsme ani žádné

signifikantní korelace mezi sérovými hladinami GH/IGF-1/inzulinu a expresí p85alpha, ani mezi p85alpha a metabolickými parametry (HOMA-index, glykémie nalačno, inzulinémie nalačno, HbA1c). **P85alpha exprese byla pozitivně spojena s expresí INS-R v podkožním tuku**, což naznačuje možnou paralelní regulaci jejich expresí.

Souhrnně lze říci, že ve druhé části naší práce jsme zjistili signifikantně **zvýšenou mRNA expresi IGF-1 a IGFBP-3 v podkožní tukové tkáni** u pacientů s akromegalií. Ani jeden z těchto faktorů však nezávisle nepredikoval změny v tělesném složení nebo v systémové inzulinové senzitivitě u těchto pacientů. Jejich **lokální účinek na adipogenezi a inzulinovou senzitivitu v podkožní tukové tkáni** však může být přítomný a k jeho dalšímu zkoumání je třeba dalších studií. Naše výsledky zároveň nepodporují zvýšení exprese p85alpha podjednotky PI3K jako mechanismus GH navozené inzulinové rezistence v podkožní tukové tkáni u pacientů s akromegalií.

6. ZÁVĚRY

Jedním ze zásadních patogenetických mechanismů přispívajících ke glukózové intoleranci a diabetu 2. typu je **inzulinová rezistence**, mezi jejíž příčiny patří mj. **subklinický zánět v tukové tkáni** spojený se zvýšenou infiltrací tukové tkáně imunokompetentními buňkami a zvýšenou produkcí prozánětlivých cytokinů potenciálně **interferující s inzulinovou signalizační kaskádou**. Dalším mechanismem, který může zhoršovat inzulinovou senzitivitu, může být **ektopické ukládání tukové tkáně** jako následek **porušené diferenciaci adipocytů**. IGF-1 je molekula s pleiotropními účinky, která může zasahovat do každého z těchto procesů.

Celá řada zejména experimentálních studií prokázala **stimulační vliv IGF-1 na adipogenezi**, konkrétně na proliferaci a diferenciaci preadipocytů zprostředkovanou **skrze IGF-1R**. **Obézní diabetičky 2. typu** v naší první studii měly významně **sníženou mRNA expresi IGF-1 i IGF-1R v podkožní tukové tkáni**, což by mohlo souviset s potenciálním **snížením proliferační a diferenciací schopnosti tukové tkáně**. Současně byla u těchto subjektů nalezena signifikantně **snížená mRNA exprese IGFBP-2 a IGFBP-3**. V experimentálních studiích blokoval IGFBP-2 adipogenezi a ztráta schopnosti IGFBP-3 vázat IGF-1 byla v jiné studii u myši spojena se zvýšeným množstvím tukové tkáně. Právě vzhledem ke schopnosti IGFBPů vázat volné IGF-1 a blokovat jeho účinky by uvedené snížení vazebných proteinů v naší studii mohlo přispívat ke **zvýšení proadipogenního vlivu IGF-1** u obézních diabetiček. Celkový potenciální vliv těchto změn na metabolismus tukové tkáně, resp. na

inzulinovou rezistenci u obezity a diabetu je však třeba ověřit v dalších studiích i vzhledem k tomu, že tuková tkáň může mít z hlediska inzulinové rezistence jak příznivý význam k zabránění ektopického ukládání tuku, tak negativní význam při výrazném zvýšení jejího množství.

Zvýšení IGFBP-2 v séru a v podkožní tukové tkáni, které nastalo **po nízkokalorické dietě** u obézních diabetiček, zapadá vzhledem k dřívějším nálezům, dokumentujícím jednak inhibiční vlivy IGFBP-2 na adipogenezi a jednak asociace mezi zvýšenými hladinami IGFBP-2 a zlepšením inzulinové rezistence, **do zlepšeného metabolického profilu** těchto pacientek po této intervenci. To, zda se zvýšení IGFBP-2 v séru a podkožním tuku mohlo kauzálně přímo podílet na zlepšení metabolického profilu a snížení hmotnosti, nebo zda jde o změny sekundární, zasluhuje pozornost dalších studií.

IGF-1 se podílí také na stimulaci proliferace, diferenciaci a naopak na inhibici apoptózy imunokompetentních buněk včetně periferních mononukleárních buněk. Další změnou u obézních diabetiček 2. typu v naší studii byla signifikantně **zvýšená mRNA exprese IGF-1R v periferních monocytech**, což by mohlo vypovídat o případné **zvýšené proliferační aktivitě těchto imunokompetentních buněk**, které jsou při diabetu a obezitě rekrutovány do tukové tkáně, kde se podílejí na rozvoji **chronického zánětu mírného stupně**. Naopak IGFBP-3 v dřívějších studiích vykazoval antiproliferační účinky na imunitní buňky a hrál významnou roli v regulaci apoptózy monocytárních buněk. Nízkokalorická dieta u obézních diabetiček v naší práci měla za následek signifikantní **zvýšení IGFBP-3 exprese v periferních monocytech**, což by dle předchozích nálezů mohlo naznačovat potenciální **zmírnění aktivity subklinického zánětu na úrovni periferních monocytů**.

U akromegaliků jsme oproti kontrolním subjektům našli signifikantní rozdíly v mRNA expresi **v podkožním tuku** pouze u dvou komponent osy GH/IGF-1/inzulin, a to u **IGF-1 a IGFBP-3**, které byly u akromegaliků **signifikantně zvýšené**, a jejich pozitivní korelace se sérovými hladinami GH podporuje možnost **přímého stimulačního vlivu GH** na tyto exprese. Vzhledem k lokálním účinkům, byť pravděpodobně protichůdným, obou těchto komponent v tukové tkáni ve smyslu ovlivnění **adipogeneze**, dokumentovaným v předchozích studiích, jsme testovali, zda změny jejich exprese zjištěné v podkožní tukové tkáni nemohou souviset s celkově sníženým množstvím tukové tkáně u akromegaliků. Ani jeden parametr nekoreloval nezávisle s procentem celkového nebo trunkálního tuku, přičemž pravděpodobně nejsilnějším kointerferujícím faktorem se jeví sérová hladina GH (negativní korelace sérového GH a procenta celkového a trunkálního tuku).

Ta se pravděpodobně projevila také ve **snížení IGF-1 a IGFBP-3 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni u obézních diabetiček** v první části naší práce, u kterých byla naopak snížena.

Podobně tomu bylo při testování vlivu zvýšení těchto dvou expresí na ovlivnění celkové inzulinové senzitivity. U **IGF-1** by se na základě předchozích dat dalo očekávat **příznivé ovlivnění glukózového metabolismu**, zatímco u **IGFBP-3** jsou nálezy týkající se vlivu na inzulinovou rezistenci v tukové tkáni někdy **protichůdné**. Zpětnou regresní analýzou v naší studii nebyl prokázán nezávislý vliv zvýšené IGF-1 nebo IGFBP-3 exprese na systémovou inzulinovou rezistenci hodnocenou v naší studii pomocí HOMA-indexu. **IGFBP-3 exprese** však byla jedním z **nezávislých prediktorů INS-R a p85alpha exprese v podkožní tukové tkáni**. To by mohlo svědčit o možné **lokální úloze IGFBP-3 při regulaci inzulinové senzitivity v podkožní tukové tkáni** u akromegaliků. Konkrétní mechanismy této regulace mohou být podnětem pro další zkoumání v této oblasti.

Konečně, zajímalo nás, zda také u akromegalie dochází ke zvýšení tkáňové exprese p85alpha regulační podjednotky PI3K vlivem stimulace GH a zda by toto případné zvýšení mohlo být jedním z mechanismů inzulinové rezistence, tak jak to bylo dokumentováno v několika předchozích experimentálních studiích s nadbytkem GH. Absence signifikantního rozdílu v mRNA expresi p85alpha v podkožní tukové tkáni mezi akromegaliky a kontrolní skupinou stejně jako signifikantních korelací mezi p85alpha a sérovou hladinou GH nebo parametry inzulinové rezistence však tento koncept u našich pacientů s akromegalií nepodporuje.

7. LITERATURA

- ADOCHIO RL, LEITNER JW, GRAY K, DRAZNIN B, CORNIER MA: Early responses of insulin signaling to high-carbohydrate and high-fat overfeeding. *Nutr Metab (Lond)*. 6(37), 2009 Sep 28.
- ANAI M, FUNAKI M, OGIHARA T, TERASAKI J, INUKAI K, KATAGIRI H, FUKUSHIMA Y, YAZAKI Y, KIKUCHI M, OKA Y, ASANO T: Altered expression levels and impaired steps in the pathway to phosphatidylinositol 3-kinase activation via insulin receptor substrates 1 and 2 in Zucker fatty rats. *Diabetes* 47(1): 13-23, 1998 Jan.
- AROSIO M GS, BRUZZI P, FAGLIA G, MINUTO F, BARRECA A: Diagnostic value of the acid-labile subunit in acromegaly: evaluation in comparison with insulin-like growth factor (IGF) I, and IGF-binding protein-1, -2, and -3. *J Clin Endocrinol Metab*. 86(3): 1091-1098, 2001 Mar.
- BARBOUR LA MRS, GUREVICH I, LEITNER JW, FISCHER SJ, ROPER MD, KNOTTS TA, VO Y, MC CURDY CE, YAKAR S, LEROITH D, KAHN CR, CANTLEY LC, FRIEDMAN JE, DRAZNIN B: Increased P85alpha is a potent negative regulator of skeletal muscle insulin signaling and induces in vivo insulin resistance associated with growth hormone excess. *J Biol Chem*. 280(45): 37489-37494, 2005.
- BAXTER RC, TWIGG SM: Actions of IGF binding proteins and related proteins in adipose tissue. *Trends Endocrinol Metab* 20(10): 499-505, 2009.
- BLÜHER S, KRATZSCH J, KIESS W: Insulin-like growth factor I, growth hormone and insulin in white adipose tissue. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 19(4): 577-587, 2005.
- BOURLIER V, BOULOUMIE A: Role of macrophage tissue infiltration in obesity and insulin resistance. *Diabetes Metab* 35(4): 251-260, 2009.
- CASTRO FC, DELGADO EF, BEZERRA RM, LANNA DP: Effects of growth hormone on insulin signal transduction in rat adipose tissue maintained in vitro. *Endocr Res* 30(2): 225-238, 2004.
- CLAUDIO M, BENJAMIM F, RICCARDO B, MASSIMILIANO C, FRANCESCO B, LUCIANO C: Adipocytes IGFBP-2 expression in prepubertal obese children. *Obesity (Silver Spring)* 18(10): 2055-2057, 2010.
- CLEMMONS DR, SNYDER DK, BUSBY WH, JR.: Variables controlling the secretion of insulin-like growth factor binding protein-2 in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 73(4): 727-733, 1991.
- CORNIER MA, BESSESEN DH, GUREVICH I, LEITNER JW, DRAZNIN B: Nutritional upregulation of p85alpha expression is an early molecular manifestation of insulin resistance. *Diabetologia* 49(4): 748-754, 2006 Apr.
- DE CASTRO BARBOSA T, DE CARVALHO JE, POYARES LL, BORDIN S, MACHADO UF, NUNES MT: Potential role of growth hormone in impairment of insulin signaling in skeletal muscle, adipose tissue, and liver of rats chronically treated with arginine. *Endocrinology* 150(5): 2080-2086, 2009.
- DE SILVA HC, FIRTH SM, TWIGG SM, BAXTER RC: Interaction between IGF binding protein-3 and TGFbeta in the regulation of adipocyte differentiation. *Endocrinology* 153(10): 4799-4807, 2012.
- DEL RINCON JPI, K.GAYLINN, B. D.MCCURDY, C. E.LEITNER, J. W.BARBOUR, L. A.KOPCHICK, J. J.FRIEDMAN, J. E.DRAZNIN, B.THORNER, M. O.: Growth hormone regulation of p85alpha expression and phosphoinositide 3-kinase activity in adipose tissue: mechanism for growth hormone-mediated insulin resistance. *Diabetes* 56(6): 1638-1646, 2007.

GOOSSENS GH: The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiol Behav* 94(2): 206-218, 2008.

GOSTELI-PETER MA, WINTERHALTER KH, SCHMID C, FROESCH ER, ZAPF J: Expression and regulation of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein messenger ribonucleic acid levels in tissues of hypophysectomized rats infused with IGF-I and growth hormone. *Endocrinology* 135(6): 2558-2567, 1994.

GROHMANN M, SABIN M, HOLLY J, SHIELD J, CROWNE E, STEWART C: Characterization of differentiated subcutaneous and visceral adipose tissue from children: the influences of TNF-alpha and IGF-I. *J Lipid Res* 46(1): 93-103, 2005.

GUNAWARDANA SC, PISTON DW: Insulin-independent reversal of type 1 diabetes in nonobese diabetic mice with brown adipose tissue transplant. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 308(12): E1043-1055, 2015.

HAN J, JOGIE-BRAHIM S, HARADA A, OH Y: Insulin-like growth factor-binding protein-3 suppresses tumor growth via activation of caspase-dependent apoptosis and cross-talk with NF-kappaB signaling. *Cancer Lett* 307(2): 200-210, 2011.

HOCHBERG I, TRAN QT, BARKAN AL, SALTIEL AR, CHANDLER WF, BRIDGES D: Gene Expression Signature in Adipose Tissue of Acromegaly Patients. *PLoS One* 10(6): e0129359, 2015.

CHAN SS, SCHEDLICH LJ, TWIGG SM, BAXTER RC: Inhibition of adipocyte differentiation by insulin-like growth factor-binding protein-3. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296(4): E654-663, 2009.

CHAN SS, TWIGG SM, FIRTH SM, BAXTER RC: Insulin-like growth factor binding protein-3 leads to insulin resistance in adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 90(12): 6588-6595, 2005.

CHE W, LERNER-MARMAROSH N, HUANG Q, OSAWA M, OHTA S, YOSHIZUMI M, GLASSMAN M, LEE JD, YAN C, BERK BC, ABE J: Insulin-like growth factor-1 enhances inflammatory responses in endothelial cells: role of Gab1 and MEKK3 in TNF-alpha-induced c-Jun and NF-kappaB activation and adhesion molecule expression. *Circ Res* 90(11): 1222-1230, 2002.

CHEN NX, HAUSMAN GJ, WRIGHT JT: Influence of age and fetal hypophysectomy on porcine preadipocytes: insulin-like growth factor-I (IGF-I) response, receptor binding and IGF binding proteins secretion. *Growth Dev Aging* 59(4): 193-206, 1995.

CHEN NX, HAUSMAN GJ, WRIGHT JT: Hormonal regulation of insulin-like growth factor binding proteins and insulin-like growth factor I (IGF-I) secretion in porcine stromal-vascular cultures. *J Anim Sci* 74(10): 2369-2375, 1996.

CHEN NY, CHEN WY, KOPCHICK JJ: Liver and kidney growth hormone (GH) receptors are regulated differently in diabetic GH and GH antagonist transgenic mice. *Endocrinology* 138(5): 1988-1994, 1997.

IKEZOE T, TANOSAKI S, KRUG U, LIU B, COHEN P, TAGUCHI H, KOEFFLER HP: Insulin-like growth factor binding protein-3 antagonizes the effects of retinoids in myeloid leukemia cells. *Blood* 104(1): 237-242, 2004.

INGERMANN AR, YANG YF, HAN J, MIKAMI A, GARZA AE, MOHANRAJ L, FAN L, IDOWU M, WARE JL, KIM HS, LEE DY, OH Y: Identification of a novel cell death receptor mediating IGFBP-3-induced anti-tumor effects in breast and prostate cancer. *J Biol Chem* 285(39): 30233-30246, 2010.

JORGENSEN JO, JESSEN N, PEDERSEN SB, VESTERGAARD E, GORMSEN L, LUND SA, BILLESTRUP N: GH receptor signaling in skeletal muscle and adipose tissue in human subjects following exposure to an intravenous GH bolus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291(5): E899-905, 2006.

KATZNELSON L: Alterations in body composition in acromegaly. *Pituitary* 12(2): 136-142, 2009.

KIM HS, ALI O, SHIM M, LEE KW, VUGUIN P, MUZUMDAR R, BARZILAI N, COHEN P: Insulin-like growth factor binding protein-3 induces insulin resistance in adipocytes in vitro and in rats in vivo. *Pediatr Res* 61(2): 159-164, 2007.

KLOTING N, KOCH L, WUNDERLICH T, KERN M, RUSCHKE K, KRONE W, BRUNING JC, BLUHER M: Autocrine IGF-1 action in adipocytes controls systemic IGF-1 concentrations and growth. *Diabetes* 57(8): 2074-2082, 2008.

KOOIJMAN R, WILLEMS M, RIJKERS GT, BRINKMAN A, VAN BUUL-OFFERS SC, HEIJNEN CJ, ZEGERS BJ: Effects of insulin-like growth factors and growth hormone on the in vitro proliferation of T lymphocytes. *J Neuroimmunol* 38(1-2): 95-104, 1992.-B

KUBOTA Y, UNOKI H, BUJO H, RIKIHISA N, UDAGAWA A, YOSHIMOTO S, ICHINOSE M, SAITO Y: Low-dose GH supplementation reduces the TLR2 and TNF-alpha expressions in visceral fat. *Biochem Biophys Res Commun* 368(1): 81-87, 2008.

LEFAI E, ROQUES M, VEGA N, LAVILLE M, VIDAL H: Expression of the splice variants of the p85alpha regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase in muscle and adipose tissue of healthy subjects and type 2 diabetic patients. *Biochem J* 360(Pt 1): 117-126, 2001.

LEMEY AB, GLASSFORD J, FLICK-SMITH HC, HOLLY JM, PELL JM: Differential regulation of tissue insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP)-3, IGF-I and IGF type 1 receptor mRNA levels, and serum IGF-I and IGFBP concentrations by growth hormone and IGF-I. *J Endocrinol* 154(2): 319-328, 1997.

LI Z, PICARD F: Modulation of IGFBP2 mRNA expression in white adipose tissue upon aging and obesity. *Horm Metab Res* 42(11): 787-791, 2010.

LIANG SB, YANG XZ, TRIEU Y, LI Z, ZIVE J, LEUNG-HAGESTEIJN C, WEI E, ZOZULYA S, COSS CC, DALTON JT, FANTUS IG, TRUDEL S: Molecular target characterization and antimyeloma activity of the novel, insulin-like growth factor 1 receptor inhibitor, GTx-134. *Clin Cancer Res* 17(14): 4693-4704, 2011.

MAURAS N, HAYMOND MW: Are the metabolic effects of GH and IGF-I separable? *Growth Horm IGF Res* 15(1): 19-27, 2005.

MAUVAIS-JARVIS F, UEKI K, FRUMAN DA, HIRSHMAN MF, SAKAMOTO K, GOODYEAR LJ, IANNAcone M, ACCILI D, CANTLEY LC, KAHN CR: Reduced expression of the murine p85 α subunit of phosphoinositide 3-kinase improves insulin signaling and ameliorates diabetes *J Clin Invest.* 109(1): 141-149, 2002 January 1.

MOHANRAJ L, KIM HS, LI W, CAI Q, KIM KE, SHIN HJ, LEE YJ, LEE WJ, KIM JH, OH Y: IGFBP-3 inhibits cytokine-induced insulin resistance and early manifestations of atherosclerosis. *PLoS One* 8(1): e55084, 2013.

MOSES AC YS, MORROW LA, O'BRIEN M, CLEMMONS DR.: Recombinant human insulin-like growth factor I increases insulin sensitivity and improves glycemic control in type II diabetes. *Diabetes* 45(1): 91-100, 1996 Jan.

MRAZ M LZ, DRAPALOVA J, HALUZIKOVA D, HORINEK A, MATOULEK M, TRACHTA P, KAVALKOVA P, SVACINA S, HALUZIK M. : The effect of very-low-calorie diet on mRNA expression of inflammation-related genes in subcutaneous adipose tissue and peripheral monocytes of obese patients with type 2 diabetes mellitus. . *J Clin Endocrinol Metab.* 96(4): E606-613, 2011 Apr.

MUR C, ARRIBAS M, BENITO M, VALVERDE AM: Essential role of insulin-like growth factor I receptor in insulin-induced fetal brown adipocyte differentiation. *Endocrinology* 144(2): 581-593, 2003.

NEACSU O, CLEVELAND K, XU H, TCHKONIA TT, KIRKLAND JL, BONEY CM: IGF-I attenuates FFA-induced activation of JNK1 phosphorylation and TNFalpha expression in human subcutaneous preadipocytes. *Obesity (Silver Spring)* 21(9): 1843-1849, 2013.

NGUYEN KH, YAO XH, ERICKSON AG, MISHRA S, NYOMBA BL: Glucose intolerance in aging male IGFBP-3 transgenic mice: differential effects of human IGFBP-3 and its mutant IGFBP-3 devoid of IGF binding ability. *Endocrinology* 156(2): 462-474, 2015.

PALAU N, REBUFFAT SA, ALTIRRIBA J, PIQUER S, HANZU FA, GOMIS R, BARBERA A: Role of IGFBP-3 in the regulation of beta-cell mass during obesity: adipose tissue/beta-cell cross talk. *Endocrinology* 153(1): 177-187, 2012.

PETER MA, WINTERHALTER KH, BONI-SCHNETZLER M, FROESCH ER, ZAPF J: Regulation of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins by growth hormone in rat white adipose tissue. *Endocrinology* 133(6): 2624-2631, 1993.

RAJKUMAR K, MODRIC T, MURPHY LJ: Impaired adipogenesis in insulin-like growth factor binding protein-1 transgenic mice. *J Endocrinol* 162(3): 457-465, 1999.

RAJPATHAK SN GM, WYLIE-ROSETT J, HO GY, KAPLAN RC, MUZUMDAR R, ROHAN TE, STRICKLER HD: The role of insulin-like growth factor-I and its binding proteins in glucose homeostasis and type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 25(1): 3-12, 2009 Jan.

RASMUSSEN MH, JUUL A, KJEMS LL, HILSTED J: Effects of short-term caloric restriction on circulating free IGF-I, acid-labile subunit, IGF-binding proteins (IGFBPs)-1-4, and IGFBPs-1-3 protease activity in obese subjects. *Eur J Endocrinol* 155(4): 575-581, 2006.

RODRIGUES TC, COSTENARO F, FEDRIZZI D, OLIVEIRA MD, LIMA PB, BOSCHI V, CZEPIELEWSKI MA: Diabetes mellitus in a cohort of patients with acromegaly. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 55(9): 714-719, 2011.

SAITO H, INOUE T, FUKATSU K, MING-TSAN L, INABA T, FUKUSHIMA R, MUTO T: Growth hormone and the immune response to bacterial infection. *Horm Res* 45(1-2): 50-54, 1996.

SATO T, NAGAFUKU M, SHIMIZU K, TAIRA T, IGARASHI Y, INOKUCHI J: Physiological levels of insulin and IGF-1 synergistically enhance the differentiation of mesenteric adipocytes. *Cell Biol Int* 32(11): 1397-1404, 2008.

SERRI O, LI L, MAINGRETTE F, JAFFRY N, RENIER G: Enhanced lipoprotein lipase secretion and foam cell formation by macrophages of patients with growth hormone deficiency: possible contribution to increased risk of atherogenesis? *J Clin Endocrinol Metab* 89(2): 979-985, 2004.

SMITH TR EJ, DAVID TS, TURINSKY J.: Growth hormone-induced insulin resistance: role of the insulin receptor, IRS-1, GLUT-1, and GLUT-4. *Am J Physiol*. 272(6 Pt 1): E1071-1079, 1997 Jun.

SMITH WJ, UNDERWOOD LE, CLEMMONS DR: Effects of caloric or protein restriction on insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins in children and adults. *J Clin Endocrinol Metab* 80(2): 443-449, 1995.

SUGANAMI T, NISHIDA J, OGAWA Y: A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: role of free fatty acids and tumor necrosis factor alpha. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25(10): 2062-2068, 2005.

THAKRAN S, ZHANG Q, MORALES-TIRADO V, STEINLE JJ: Pioglitazone restores IGFBP-3 levels through DNA PK in retinal endothelial cells cultured in hyperglycemic conditions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56(1): 177-184, 2015.

TORRES ALEMAN I: Role of insulin-like growth factors in neuronal plasticity and neuroprotection. *Adv Exp Med Biol* 567: 243-258, 2005.

VALVERDE AM, LORENZO M, NAVARRO P, BENITO M: Phosphatidylinositol 3-kinase is a requirement for insulin-like growth factor I-induced differentiation, but not for mitogenesis, in fetal brown adipocytes. *Mol Endocrinol* 11(5): 595-607, 1997.

VIKMAN K, ISGAARD J, EDEN S: Growth hormone regulation of insulin-like growth factor-I mRNA in rat adipose tissue and isolated rat adipocytes. *J Endocrinol* 131(1): 139-145, 1991.

WABITSCH M, HAUNER H, HEINZE E, TELLER WM: The role of growth hormone/insulin-like growth factors in adipocyte differentiation. *Metabolism* 44(10 Suppl 4): 45-49, 1995.

WABITSCH M, HEINZE E, DEBATIN KM, BLUM WF: IGF-I- and IGFBP-3-expression in cultured human preadipocytes and adipocytes. *Horm Metab Res* 32(11-12): 555-559, 2000.

WABITSCH M, HEINZE E, HAUNER H, SHYMKO RM, TELLER WM, DE MEYTS P, ILONDO MM: Biological effects of human growth hormone in rat adipocyte precursor cells and newly differentiated adipocytes in primary culture. *Metabolism* 45(1): 34-42, 1996.

WESTER TJ, DAVIS TA, FIOROTTO ML, BURRIN DG: Exogenous growth hormone stimulates somatotropic axis function and growth in neonatal pigs. *Am J Physiol* 274(1 Pt 1): E29-37, 1998.

WHEATCROFT SB, KEARNEY MT, SHAH AM, EZZAT VA, MIELL JR, MODO M, WILLIAMS SC, CAWTHORN WP, MEDINA-GOMEZ G, VIDAL-PUIG A, SETHI JK, CROSSEY PA: IGF-binding protein-2 protects against the development of obesity and insulin resistance. *Diabetes* 56(2): 285-294, 2007.

XI G, SOLUM MA, WAI C, MAILE LA, ROSEN CJ, CLEMMONS DR: The heparin-binding domains of IGFBP-2 mediate its inhibitory effect on preadipocyte differentiation and fat development in male mice. *Endocrinology* 154(11): 4146-4157, 2013.

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(12): 1821-1830, 2003.

ZHANG Q, JIANG Y, TOUTOUNCHIAN JJ, SODERLAND C, YATES CR, STEINLE JJ: Insulin-like growth factor binding protein-3 inhibits monocyte adhesion to retinal endothelial cells in high glucose conditions. *Mol Vis* 19: 796-803, 2013.-B

8. TABULKY A GRAFY

Tabulka 1. Klinické, hormonální a metabolické charakteristiky studovaných subjektů

	Kontroly	Obézní bez DM2	Obézní s DM2	
			Před VLCD	Po VLCD
Počet (n)	18	11	13	13
Věk (roky)	49,5 ± 2,3	48,7 ± 3,0	54,2 ± 2,0	54,2 ± 2,0
Body mass index (kg/m ²)	23,8 ± 0,4	45,0 ± 3,5*	51,8 ± 2,5*	49,1 ± 2,3*°
Tělesná hmotnost (kg)	67,9 ± 1,6	124,8 ± 7,7*	138,3 ± 6,3*	128,8 ± 5,9*°
Obvod pasu (cm)	81 ± 2	126 ± 5*	137 ± 5*	133 ± 5*°
CRP (mg/l)	0,27 ± 0,10	1,57 ± 0,30*	2,44 ± 0,59*	1,55 ± 0,44*°
Inzulinémie nalačno (mIU/l)	18,7 ± 1,1	28,3 ± 4,0	30,8 ± 3,4*	27,3 ± 3,9
Glykémie nalačno (mmol/l)	4,77 ± 0,09	5,08 ± 0,27	8,35 ± 1,16*	6,45 ± 0,68*°
HbA1c (% IFCC)	3,58 ± 0,13	4,43 ± 0,39	6,58 ± 0,53*	Nehodnoceno
HOMA index	3,97 ± 0,26	6,45 ± 1,02	12,07 ± 1,93*	8,75 ± 1,43*°
HDL cholesterol (mmol/l)	1,67 ± 0,09	1,29 ± 0,15	1,04 ± 0,04*	0,95 ± 0,06*
Triglyceridy (mmol/l)	1,19 ± 0,14	1,73 ± 0,36	1,91 ± 0,18*	1,68 ± 0,16
Leptin (ng/ml)	16,4 ± 2,6	56,1 ± 3,9*	60,8 ± 10,1*	52,4 ± 10,4*°
Adiponektin (mg/l)	13,2 ± 1,3	8,4 ± 1,1*	7,9 ± 1,3*	7,5 ± 0,8*
Volný IGF-I (ng/ml)	1,06 ± 0,22	0,72 ± 0,21	1,04 ± 0,12	0,89 ± 0,12

Celkový IGF-I (ug/l)	200 ± 26	111 ± 23*	143 ± 14*	116 ± 13*°
IGFBP-1 (µg/l)	7,03 ± 1,18	2,13 ± 0,52*	2,25 ± 0,50*	2,50 ± 0,79
IGFBP-2 (ng/ml)	344±44	178±36*	232± 30	259±23°
IGFBP-3 (mg/l)	2,95 ± 0,12	3,14 ± 0,21	2,86 ± 0,18	2,78 ± 0,15
GH (mIU/l)	14,18±3,73	1,00±0,33*	0,99±0,23*	0,99±0,20*

CRP, C-reaktivní protein; GH, růstový hormon; HbA1c, glykovaný hemoglobin; HDL, lipoprotein s vysokou denzitou; HOMA, homeostasis model assessment; IGF-1, inzulinu podobný růstový faktor-1, IGFBP, IGF-vazebný protein; IFCC, International Federation of Clinical Chemistry; NS: nesignifikantní; DM2, diabetes mellitus 2. typu; VLCD, nízkokalorická dieta.

Hodnoty jsou uvedeny jako průměry ± SEM (standard error of means-střední chyba průměru). Statistická významnost je hodnocena pomocí jednocestné analýzy rozptylu (One Way ANOVA nebo ANOVA on Ranks podle vhodnosti). Rozdíly mezi obézními ženami s DM2 před a po VLCD byly hodnoceny použitím párového *t*-testu nebo Wilcoxonova Signed-Rank testu podle vhodnosti. Statistická signifikance byla určena jako $p < 0,05$.

* $p < 0,05$ vs. Kontrolní skupina, ° $p < 0,05$ vs. DM2 před VLCD.

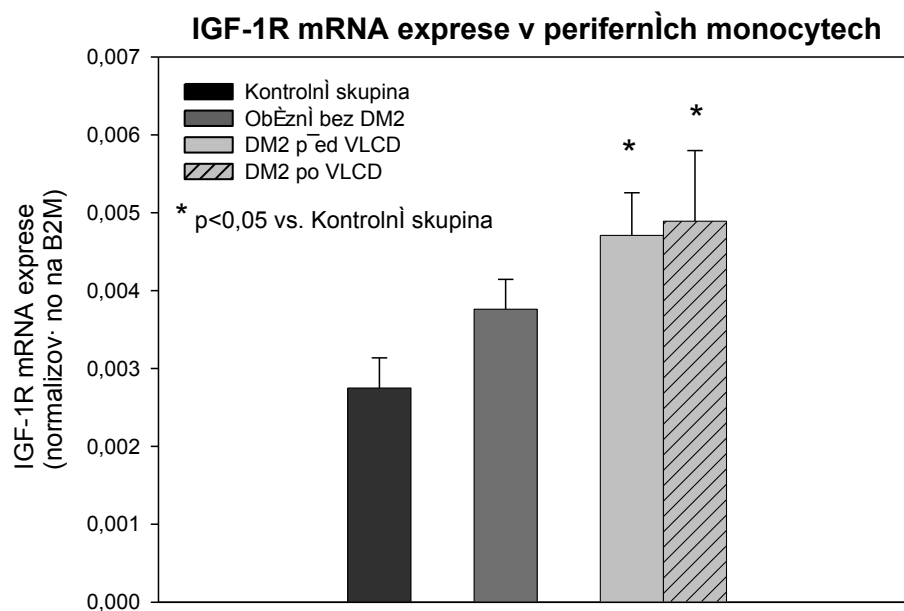
Tabulka 2. Vztahy sérových hladin a mRNA exprese komponent osy IGF-1 s dalšími antropometrickými a metabolickými parametry vypočítané v kombinované populaci skupiny obézních pacientů bez DM2, skupiny obézních s DM2 před VLCD a kontrolní skupiny (n=42)

			BMI	Inzulin	Glukóza	HOMA index
Sérové hladiny	IGF-1	p	0,014	<0,001	0,108	0,003
		R	-0,423	-0,594	-0,289	-0,545
	IGFBP-1	p	0,002	0,007	0,068	0,010
		R	-0,500	-0,475	-0,378	-0,466
	IGFBP-2	p	0,009	0,001	0,497	0,001
		R	-0,441	-0,592	-0,122	-0,589
mRNA exprese v PM	IGF-1R	p	<0,001	0,041	0,030	0,043
		R	0,566	0,376	0,378	0,349
	IGFBP-3	p	0,014	0,137	0,024	0,006
		R	0,437	0,318	0,411	0,525
mRNA exprese v tuku	IGF-1	p	<0,001	0,016	0,001	0,002
		R	-0,572	-0,425	-0,521	-0,53
	IGFBP-3	p	0,040	0,784	0,016	0,058
		R	-0,344	-0,051	-0,411	-0,356
	IGF-1R	p	0,028	0,035	0,003	0,033
		R	-0,378	-0,399	-0,491	-0,391

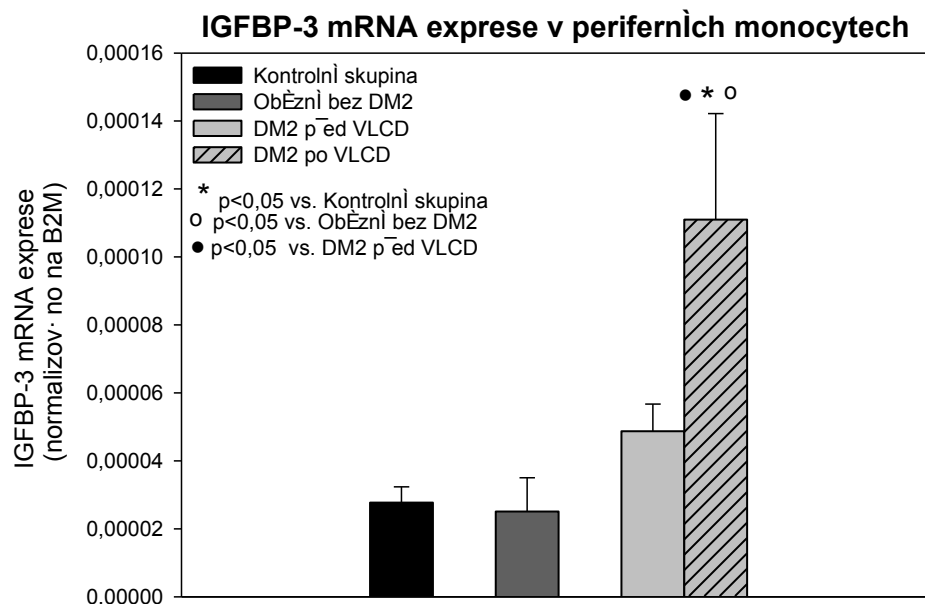
BMI, body mass index; HOMA, homeostasis model assessment; IGF-1, inzulinu podobný růstový faktor-1; IGFBP, IGF-vazebný protein; IGF-1R, IGF-1 receptor; PM, periferní monocyty.

Graf 1. mRNA exprese IGF-1R (A) a IGFBP-3 (B) v periferních monocytech kontrolních štíhlých žen (černý sloupec; n=18), obézních nediabetických žen (tmavě šedý sloupec; n=11), obézních žen s DM2 před VLCD (světle šedý sloupec) a obézních žen s DM2 po VLCD (šrafovaný světle šedý sloupec; n=13). Hodnoty jsou průměry \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. Kontrolní skupina. ° $p < 0,05$ vs. Obézní bez DM2. • $p < 0,05$ vs. DM2 před VLCD. B2M, beta-2-mikroglobulin.

Graf 1A. IGF-1R mRNA exprese v periferních monocytech

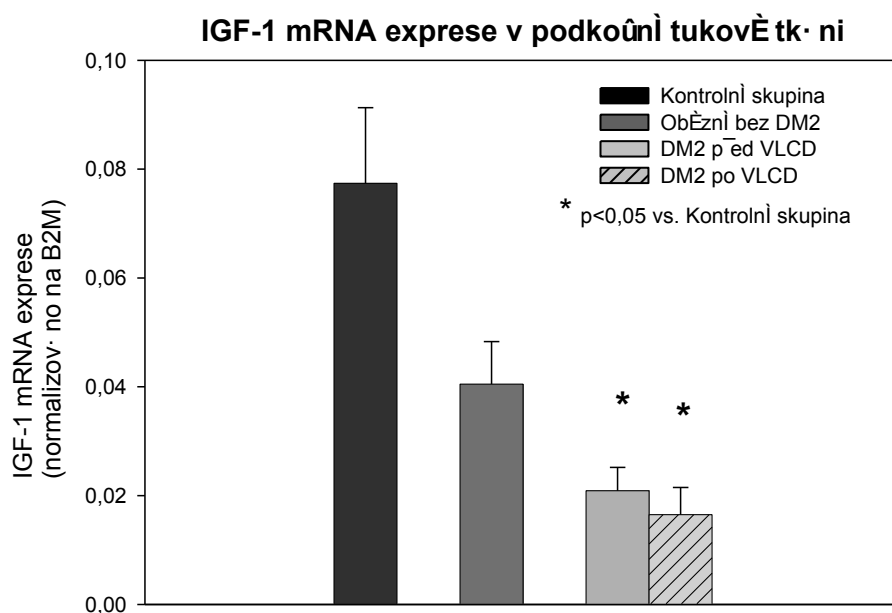


Graf 1B. IGFBP-3 mRNA exprese v periferních monocytech

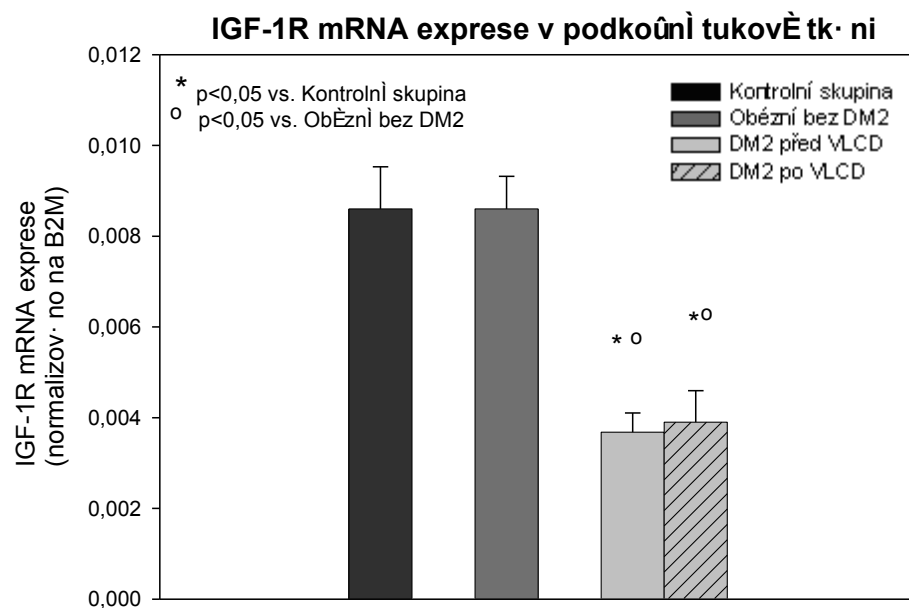


Graf 2. mRNA exprese IGF-1 (A), IGF-1R (B), IGFBP-2 (C) a IGFBP-3 (D) v podkožní tukové tkáni u kontrolních štíhlých žen (černý sloupec; n=18), obézních nediabetických žen (tmavě šedý sloupec; n=11), obézních žen s DM2 před VLCD (světle šedý sloupec) a obézních žen s DM2 po VLCD (šrafovaný světle šedý sloupec; n=13). Hodnoty jsou průměry ± SEM. * p<0,05 vs. Kontrolní skupina. °p<0,05 vs. Obézní skupina bez DM2. • p< 0,05 vs. DM2 před VLCD. B2M, beta-2-mikroglobulin.

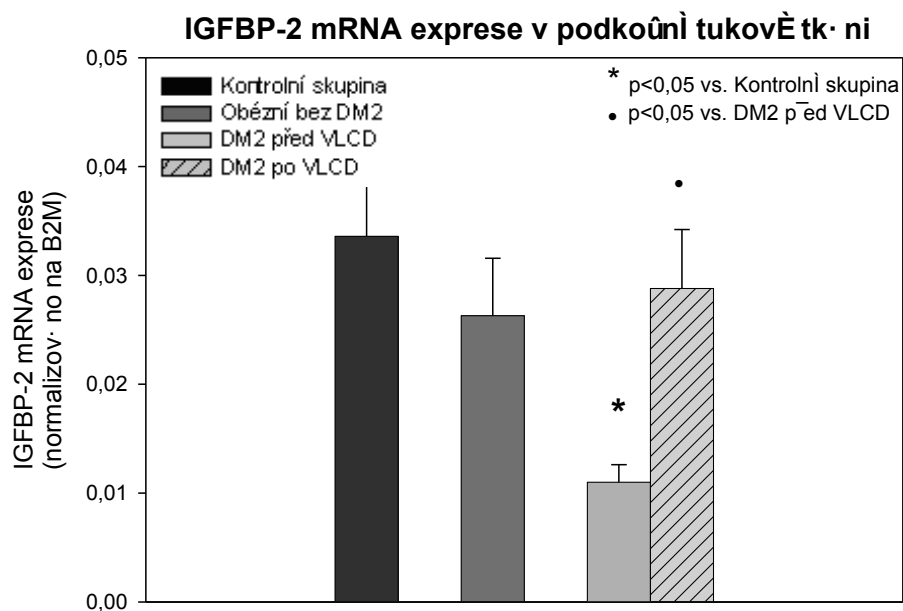
Graf 2A. IGF-1 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni



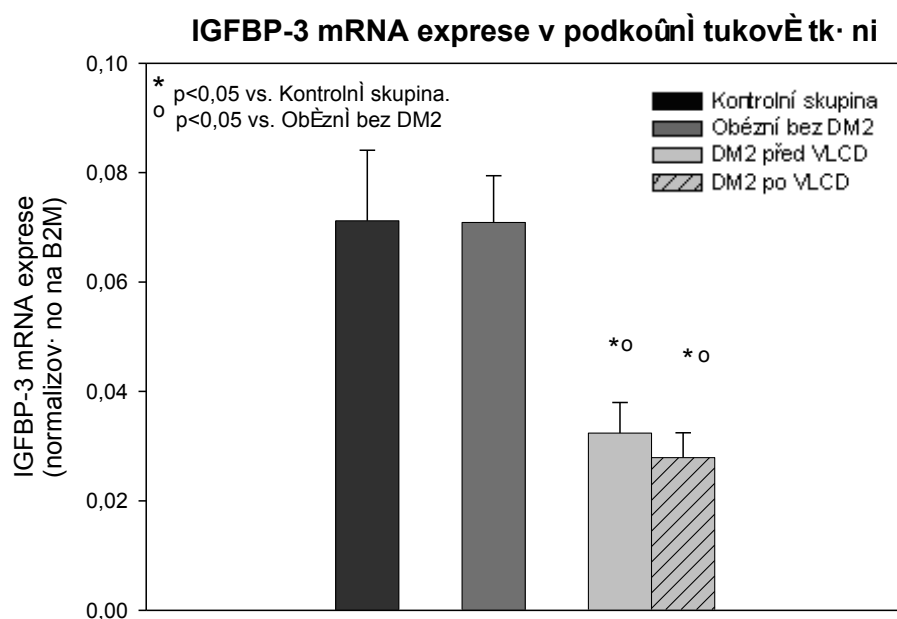
Graf 2B. IGF-1R mRNA exprese v podkožní tukové tkáni



Graf 2C. IGFBP-2 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni



Graf 2D. IGFBP-3 mRNA exprese v podkožní tukové tkáni



Tabulka 3. Klinické, antropometrické, metabolické a hormonální charakteristiky studovaných skupin

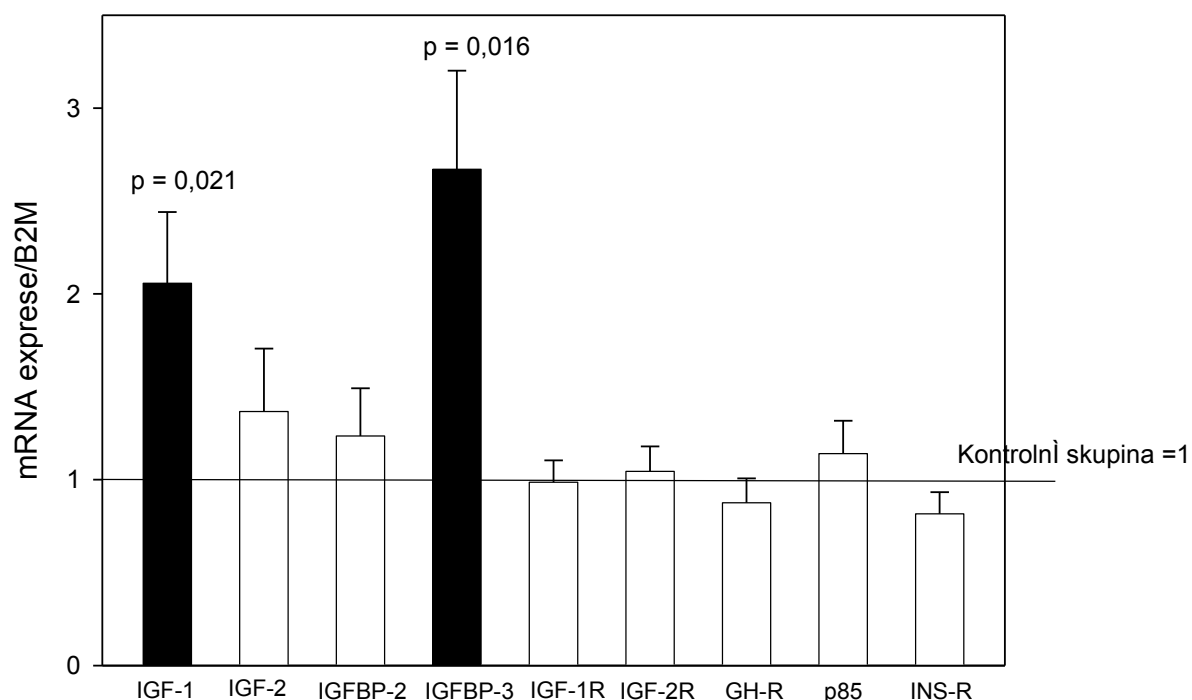
	Kontrolní skupina	AC skupina	P - hodnota
Počet subjektů	12	12	NA
Pohlaví (muži/ženy)	4/8	8/4	NA
Věk (roky)	50,7 ± 5,2	49,6 ± 8,1	0,701
Body mass index (kg/m²)	23,5 (22,0-25,2)	31,0 (28,5-33,5)	<0,001
Celkový tělesný tuk (%)	29,3 ± 5,1	21,4 ± 5,7	0,021
Trunkální tuk (%)	27,7 ± 4,9	20,3 ± 5,1	0,019
LBM (%)	69,0 ± 5,1	77,1 ± 6,2	0,023
Glykémie nalačno (mmol/l)	4,97 ± 0,37	6,06 ± 0,85	<0,001
Inzulinémie nalačno (mIU/l)	19,2 ± 6,8	45,3 ± 25,1	0,006
HbA1c (% IFCC)	3,72 ± 0,84	4,70 ± 0,76	0,014
HOMA index	1,88 (1,35-2,81)	10,01 (8,03-13,69)	0,006
Triglyceridy (mmol/l)	1,17 ± 0,41	2,02 ± 0,76	0,004

Celkový cholesterol (mmol/l)	5,25 ± 0,72	4,73 ± 0,81	0,107
LDL cholesterol (mmol/l)	3,30 ± 0,72	2,77 ± 0,74	0,087
HDL cholesterol (mmol/l)	1,42 ± 0,31	1,04 ± 0,22	0,009
CRP (mg/l)	0,49 (0,23-2,00)	0,09 (0,07-0,22)	0,004
GH (mIU/l)	1,5 (0,6-2,3)	61,1 (9,7 -96,1)	0,003
Celkový IGF-1 (ug/l)	137 (127-154)	1028 (655-1429)	<0,001
IGFBP-1 (ug/l)	6,53 (2,64-10,03)	0,12 (0,05-0,49)	<0,001
IGFBP-2 (ug/l)	293 (232-332)	141 (89-163)	0,006
IGFBP-3 (mg/l)	2,97 ± 0,58	6,89 ± 1,27	<0,001

Data s normálním rozdělením jsou uvedena jako průměry ± SD (směrodatná odchylka průměru), neparametrická data jako medián (mezikvartilní rozptyl). Statistická významnost je určena z nepárového *t*-testu nebo Mann-Whitney Rank Sum testu podle vhodnosti. P hodnota <0,05 značí statistickou významnost. Hodnoty byly adjustovány na pohlaví jak u AC, tak u C skupiny a na přítomnost diabetu u AC skupiny.

AC, akromegalická skupina; C, kontrolní skupina; CRP, C-reaktivní protein; GH, růstový hormon; HbA1c, glykovaný hemoglobin; HDL, lipoprotein s vysokou denzitou; HOMA, homeostasis model assessment; IFCC, International Federation of Clinical Chemistry; IGF-1, inzulinu podobný růstový faktor-1; IGFBP, IGF-vazebný protein; LBM, lean body mass (beztuková tělesná hmota); LDL, lipoprotein s nízkou denzitou; NA, není hodnoceno.

Graf 3. Rozdíly mRNA exprese komponent osy GH/IGF-1/inzulin a p85alpha v podkožní tukové tkáni u AC skupiny (n=12) v porovnání s kontrolní skupinou (n=12)



Průměrné relativní mRNA exprese parametrů AC skupiny jsou vyjádřeny jako relativní poměr k průměrným mRNA expresím kontrolní skupiny, která je brána pro každý gen zvlášť jako 1,0 (linie-Kontrolní skupina).

Statistická významnost je určena z nepárového t-testu nebo Mann-Whitney Rank Sum testu podle vhodnosti. P hodnota <0,05 značí statistickou významnost. Hodnoty byly adjustovány na pohlaví jak u AC, tak u C skupiny a na přítomnost diabetu u AC skupiny.

B2M, beta-2-mikroglobulin; GH-R, receptor růstového hormonu; IGF-1, inzulinu podobný růstový faktor-1; IGFBP, IGF-vazebný protein; IGF-1R/IGF-2R, receptory inzulinu podobného růstového faktoru-1,-2; INS-R, inzulinový receptor; p85, p85alpha podjednotka fosfatidylinositol-3-kinázy.

Tabulka 4. Signifikantní vztahy mRNA expresí IGF-1 a IGFBP-3 v podkožní tukové tkáni s antropometrickými a metabolickými parametry, hladinami komponent osy GH/IGF-1/inzulin v séru a podkožní tukové tkáni a p85alpha v kombinované populaci akromegalických pacientů a kontrolních subjektů

	Podkožní tuková tkáň (n=24)			
	IGF-1		IGFBP-3	
	R	p	R	p
Trunkální tuk (%)	-0,552	0,039	-0,574	0,031
Celkový tělesný tuk (%)	-0,446	0,105	-0,543	0,043
LBM (%)	0,615	0,024	0,613	0,019
Glykémie nalačno	0,292	0,174	0,453	0,030
Inzulinémie nalačno	0,332	0,162	0,511	0,021
HOMA index	0,330	0,151	0,541	0,009
CRP	-0,699	<0,001	-0,449	0,041
Sérový GH	0,555	0,009	0,552	0,013
IGF-1 v tuku	x	x	0,837	<0,001
IGFBP-3 v tuku	0,837	<0,001	x	x
INS-R v tuku	0,516	0,014	0,486	0,022

GH-R v tuku	0,463	0,023	0,437	0,033
p85alpha v tuku	0,841	<0,001	0,717	<0,001

Statistická významnosť je ze Spearmanova korelačného testu. Statistická významnosť je určená jako $p < 0,05$.

CRP, C-reaktívny proteín; GH, rústový hormón; GH-R, receptor rústového hormónu; HOMA, homeostasis model assessment; IGF-1, inzulínu podobný rústový faktor-1; IGFBP, IGF-vazebný proteín; INS-R, inzulínový receptor; LBM, lean body mass (beztuková telesná hmota); p85alpha, p85alpha podjednotka fosfatidylinositol-3-kinázy.

Nesignifikantné korelácie nejsú uvedené.

Tabuľka 5. Nezávislé prediktory IGF-1 a IGFBP-3 mRNA exprese v podkožnej tukovej tkaní

Závislé	Nezávislé	p	Standardizované koeficienty beta	AdjR ²
IGF-1 v tuku	IGFBP-3 v tuku	0,010	0,569	0,839
(Model 1)	Glykémia nalačno	<0,001	0,0539	0,971
	Inzulínémia nalačno	0,024	$-6,18 \cdot 10^{-4}$	
	Sérový GH	0,002	$7,71 \cdot 10^{-4}$	
	Sérový CRP	0,016	0,0106	
	IGF-1 v tuku	<0,001	0,568	
(Model 2)	IGF-1 v tuku	<0,001	0,541	0,833

Statistická významnosť je určená pomocou spätnej regresnej analýzy. Statistická významnosť bola určená jako $p < 0,05$.

CRP, C-reaktívny proteín; GH, rústový hormón; IGF-1, inzulínu podobný rústový faktor-1; IGFBP, IGF-vazebný proteín.

Nesignifikantné korelácie nejsú uvedené.

Tabulka 6. Nezávislé prediktory vybraných metabolických parametrů a parametrů složení těla

Závislé	Nezávislé	p	Standardizované koeficienty beta	AdjR ²
HOMA index	Sérový IGF-1	<0,001	0,0162	0,682
INS-R v tuku	IGFBP-3 v tuku	<0,001	0,109	0,809
	HDL	<0,001	0,0351	
	IGF-1R v tuku	0,027	4,479	
P85alpha v tuku	IGFBP-3 v tuku	<0,001	0,166	0,981
	IGFBP-2 v tuku	<0,001	3,144	
	INS-R v tuku	0,013	0,318	
	GH-R v tuku	<0,001	-0,0451	
	LBM (%)	0,006	-9,72*10 ⁻⁴	
Trunkální tuk (%)	HbA1c	0,009	-4,866	0,505
Celkový tělesný tuk (%)	HbA1c	0,011	-4,896	0,479

Statistická významnost je určena pomocí zpětné regresní analýzy. Statistická významnost byla určena jako $p < 0,05$.

GH, růstový hormon; GH-R, receptor růstového hormonu; HbA1c, glykovaný hemoglobin; HDL, lipoprotein s vysokou densitou; HOMA, homeostasis model assessment; IGF-1, inzulinu podobný růstový faktor-1; IGFBP, IGF- vazebný protein; IGF-1R, receptor inzulinu podobného růstového faktoru-1; INS-R, inzulinový receptor; LBM, lean body mass (beztuková tělesná hmota); p85alpha, p85alpha podjednotka fosfatidylinositol-3-kinázy. Nesignifikantní korelace nejsou uvedeny.

9. SEZNAM PUBLIKACÍ

1. publikace *in extenso*, které jsou podkladem dizertace

a) s impact faktorem

Touskova V, Trachta P, Kavalkova P, Drapalova J, Haluzikova D, Mraz M, Lacinova Z, Marek J, Haluzik M. Serum concentrations and tissue expression of components of insulin-like growth factor-axis in females with type 2 diabetes mellitus and obesity: the influence of very-low-calorie diet. *Mol Cell Endocrinol.* 2012 Sep 25;361(1-2):172-8. doi: 10.1016/j.mce.2012.04.005. Epub 2012 Apr 24. – **IF 4,19**

Touskova V, Klouckova J, Durovcova V, Lacinova Z, Kavalkova P, Trachta P, Kosak M, Mraz M, Haluzikova D, Hana V, Marek J, Krsek M a Haluzik M. The possible role of mRNA expression changes of GH/IGF-1/insulin axis components in subcutaneous adipose tissue in metabolic disturbances of patients with acromegaly. *Physiol Res.* 2016 – **IF 1,293**

2. publikace *in extenso* bez vztahu k tématu dizertace

a) s impact faktorem

Moreno-Navarrete JM, **Touskova V**, Sabater M, Mraz M, Drapalova J, Ortega F, Serrano M, Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Ortiz MR, Pardo G, Pueyo N, Ricart W, Lacinova Z, Haluzik M, Frühbeck G, Fernández-Real JM. Liver, but not adipose tissue PEDF gene expression is associated with insulin resistance. *Int J Obes (Lond).* 2013 Sep;37(9):1230-7. doi: 10.1038/ijo.2012.223. Epub 2013 Jan 15. – **IF 5,22**

Kavalkova P, **Touskova V**, Roubicek T, Trachta P, Urbanova M, Drapalova J, Haluzikova D, Mraz M, Novak D, Matoulek M, Lacinova Z, Haluzik M. Serum preadipocyte factor-1 concentrations in females with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of very-low-calorie diet, acute hyperinsulinemia and fenofibrate treatment. *Horm Metab Res.* 2013 Oct;45(11):820-6. doi: 10.1055/s-0033-1353210. Epub 2013 Aug 26. – **IF 2,43**

Trachta P, Drápalová J, Kaválková P, **Toušková V**, Cinkajzlová A, Lacinová Z, Matoulek M, Zelinka T, Widimský J Jr, Mráz M, Haluzík M. Three months of regular aerobic exercise in patients with obesity improve systemic subclinical inflammation without major influence on blood pressure and endocrine production of subcutaneous fat. *Physiol Res.* 2014;63 Suppl 2:S299-308. – **IF 1,487**

Kaválková P, Dostálová I, Haluzíková D, Trachta P, **Hanušová V**, Lacinová Z, Papežová H, Domlivilová D, Zikán V, Haluzík M. Preadipocyte factor 1 concentrations in patients with anorexia nervosa: the influence of partial realimentation. *Physiol Res.* 2012;61(2):153-9. Epub 2012 Jan 31. – **IF 1,53**

Mráz M, Lacinová Z, Kaválková P, Haluzíková D, Trachta P, Drápalová J, **Hanušová V**, Haluzík M. Serum concentrations of fibroblast growth factor 19 in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of acute hyperinsulinemie, very-low-calorie diet

and PPAR- α agonist treatment. *Physiol Res.* 2011;60(4):627-36. Epub 2011 May 16. – **IF 1,53**

b) bez impact faktoru

Toušková V, Haluzík M. Insulin resistance and nitric oxide: molecular mechanisms and pathophysiological associations. *Cesk Fysiol.* 2011;60(2):40-7. Review. Czech.

Hanušová V, Haluzík M. Inzulínová rezistence a oxid dusnatý, *DMEV* roč. 13, 2010, číslo 3.