



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Ústav tělovýchovného lékařství

Pavlína Polášková

**Vztah plazmatických cytokinů a
inzulínové rezistence při váhové
redukci navozené dietní intervencí**

*The relationship between plasma values of
cytokines and insulin resistance during
diet-induced weight loss*

Diplomová práce

Praha, květen 2009

Autor práce: Pavlína Polášková

Studijní program: Všeobecné lékařství s preventivním zaměřením

Vedoucí práce: **Doc. MUDr. Vladimír Štich, Ph.D.**

Pracoviště vedoucího práce: **Ústav tělovýchovného lékařství 3.LF**

Datum a rok obhajoby: 17. 6. 2009

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracovala samostatně a použila jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne 9.června 2009

Pavλίna Polášková

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce Doc. MUDr. Vladimíru Štichovi, Ph.D. za cenné rady a připomínky. Dále bych ráda poděkovala své sestře Lucii za pomoc se statistickou analýzou dat a svému muži Milošovi za trpělivost a podporu.

Úvod.....	6
1. Obezita.....	7
1.1 Metabolický syndrom.....	9
1.2 Role viscerální tukové tkáně.....	9
1.3 Obezita a inzulínová rezistence.....	11
1.4 Adipocytokiny a inzulínová rezistence.....	12
1.5 Terapie obezity.....	13
1.6 Dietní intervence.....	16
2. Adipocytokiny.....	18
3. Studie zabývající se pohybem cytokinů při dietní intervenci.....	26
4. Měření inzulínové rezistence – indexy.....	34
5. Praktická část.....	37
Souhrn.....	43
Seznam použité literatury.....	44
Přílohy.....	48

Úvod

Téma své diplomové práce jsem si zvolila s ohledem na svůj dlouhodobý zájem o obor diabetologie a onemocnění související s životním stylem. Zvyšující se prevalence obezity a diabetu II. typu vede ke zkoumání jejich patogenetických souvislostí. Jako perspektivní se v tomto ohledu ukazuje výzkum adipocytokinů, tedy látek produkovaných bílou tukovou tkání. Tuková tkáň roste i po ukončení tělesného růstu a je tak jedním z největších endokrinních orgánů a adipocytokiny uvolňované do cirkulace tak mohou mít závažné systémové účinky. Ukazuje se také, že tuková tkáň obézních se nachází ve stavu chronického mírného zánětu a redukcí váhy se tento zánětlivý stav a jeho komplikace (především kardiovaskulární) upraví. Vztah adipocytokinů k inzulinové rezistenci a tedy rozvoji diabetu II. typu s důrazem na změny, které v jejich hladinách nastávají při poklesu váhy, je předmětem této práce.

1. Obezita

Obezita je klasicky definována jako nadměrné ukládání tuku v organismu z důvodu chronické nerovnováhy mezi energetickým příjmem a výdejem. Nejčastěji se pro vyjádření míry obezity používá tzv. Queteletův index, obecně známý pod názvem body mass index (BMI). Vypočítáme jej podle vzorce:

$$\frac{\text{hmotnost v kg}}{(\text{výška v m})^2}$$

Podle BMI pak dělíme tělesnou hmotnost takto:

podvýživa	< 18,5
normální hmotnost	18,5 - 25
nadváha	25 - 30
obezita I. stupně (mírná)	30 - 35
obezita II. stupně (střední)	35 - 40
obezita III. stupně (morbidní)	> 40

Nadváha je považována za předstupeň obezity. Zdravotní rizika však stoupají již od BMI 25 a významně od hodnoty 27. Z patogenetického hlediska můžeme konstatovat, že podíl genetických faktorů a faktorů prostředí při rozvoji obezity je přibližně 1:1. Při hodnocení genetického vlivu posuzujeme výskyt obezity a diabetu (případně dalších složek metabolického syndromu) v rodině. K vnějším faktorům patří vzdělání, energetický příjem, psychologické faktory.

Zdravotní komplikace obezity (podle Hainera a kol. [24])

- Metabolické komplikace – inzulínová rezistence, hyperinzulinémie, porucha glukózové tolerance, diabetes mellitus II. typu, dyslipidémie, hypertriacylglycerolémie, hyperurikémie, zvýšení fibrinogenu a PAI-1 (inhibitor tkáňového aktivátoru plazminogenu 1)
- Endokrinní poruchy – hyperestrogenismus, hyperandrogenismus u žen, hypogonadismus u mužů s těžkou obezitou, funkční

hyperkortisolismus a porucha sekrece kortisonu, snížená sekrece růstového hormonu

- Kardiovaskulární komplikace – hypertenze, hypertrofie a dilatace levé komory, ischemická choroba srdeční, snížená kontraktilita myokardu, systolicko-diastolická dysfunkce až srdeční selhání, arytmie, mozkové cévní příhody, varixy, tromboembolická nemoc (potencovaná zvýšením fibrinogenu a PAI-1, zejména u androidní obezity)
- Respirační komplikace – hypoventilace a restrikce (Pickwickův syndrom), syndrom spánkové apnoe – rizika arytmií a náhlé smrti
- Gastrointestinální a hepatobiliární komplikace – gastroezofageální reflux, hiátová hernie, cholelitiáza, cholecystitida, pankreatitida, jaterní steatóza
- Gynekologické komplikace – poruchy cyklu, amenorea, infertilita (ze zvýšené hladiny estrogenů), komplikace při těhotenství a porodu
- Onkologické komplikace
 - gynekologické (vliv hyperestrogenismu): ca endometria, cervixu, vaječníku, prsu
 - gastrointestinální: ca kolorektální, žlučníku a žlučových cest, pankreatu, jater
 - urologické: ca prostaty, ledvin
- Ortopedické komplikace – degenerativní onemocnění kloubů a páteře, zejm. gonartróza a coxartróza
- Kožní komplikace – ekzémy, mykózy, strie, hirsutismus
- Psychosociální komplikace – společenská diskriminace, malé sebevědomí, poruchy motivace, deprese, úzkost, poruchy příjmu potravy
- Chirurgická a anesteziologická rizika – zejména kardiovaskulární poruchy, obtížné hojení ran

1.1 Metabolický syndrom

Metabolický syndrom byl poprvé definován Reavenem v roce 1988 jako inzulinová rezistence (zejm. ve svalech), porucha glukózové tolerance resp. diabetes, hyperinzulinismus, zvýšené lipoproteidy VLDL, resp. vyšší triglyceridy, snížený HDL cholesterol, esenciální hypertenze.

V této definici nebyla ještě přítomna obezita jako samostatná jednotka. V roce 1993 Reaven redefinoval metabolický syndrom takto:

- primárním nálezem je inzulinorezistence
- poměrně pevně sdruženými nálezy jsou hypertenze, hypertriglyceridémie a diabetes
- ve volnější vazbě jsou mikrovaskulární angina, poruchy koagulace a fibrinolýzy
- v ještě volnější vazbě ICHS a androidní obezita

V současné době do definice metabolického syndromu patří, těsněji nebo volněji, téměř 150 různých jevů. [26]

Pro vztah složek metabolického syndromu a diabetu platí, že 90 % diabetiků II. typu je obézních, cca 70 % má hypertenzi a hypertriglyceridémii, hypercholesterolémie je přítomna asi v 30-40 %.

Asi 10 % pacientů s diabetem II. typu není obézní, přesto jsou ohroženi metabolickými komplikacemi. Pro neobézní jedince s typicky vyjádřenými složkami metabolického syndromu používáme pojem normal-weight obese (někdy též metabolically obese, normal weight). Naopak, existují jedinci, kteří i přes vyjádřenou obezitu mají normální hodnoty inzulinové senzitivity a nízké kardiovaskulární riziko. Takové nazýváme metabolically-healthy obese.

1.2 Role viscerální tukové tkáně

Souvislost zvýšeného množství tukové tkáně (zastoupeného zvýšením BMI) a zvýšeného výskytu chronických chorob, zejména kardiovaskulárních, je známá už dlouhou dobu. Studie prokázaly vysokou prevalenci diabetu II. typu, dyslipidemií a kardiovaskulárních onemocnění

(cardiovascular diseases - CVD) jako funkci zvýšeného BMI, na druhou stranu ukazovaly velkou heterogenitu mezi jedinci se stejným BMI. Následně bylo zjištěno, že mezi jedinci se srovnatelným stupněm obezity mají zvýšené riziko diabetu II. typu a CVD ti s vysokým stupněm abdominálního tuku (měřeno jako zvýšení obvodu pasu) a tento fakt je nezávislý na riziku předpovězeném zvýšením BMI. Zvětšený obvod pasu také pozitivně koreluje se stupněm inzulínové rezistence. Měření obvodu pasu (waist circumference - WC) představuje sice orientační, ale efektivní způsob měření objemu viscerálního tuku, vhodný pro většinu populace. Lze tvrdit, že zvýšený obvod pasu spolu se zvýšenou triglyceridemií nalačno představují užitečný marker skutečnosti, že zvýšená hmotnost jedince je způsobena akumulací viscerální tukové tkáně, která se ukazuje být metabolicky aktivnější než ostatní typy tukové tkáně. Hodnota cut-off pro zvýšený obvod pasu se liší pro jednotlivé populace, tak jak se u nich liší poměry celkového tělesného tuku, abdominální obezity a akumulace viscerálního tuku. Dalším často užívaným parametrem je poměr pas-boky (waist-to-hip ratio – WHR). Jeho největší nevýhodou je obtížná interpretace, obézní i štíhlí jedinci mohou mít totožné hodnoty WHR. [1]

Tuková tkáň, dříve chápaná jako pasivní zásobárna energie, je nyní považována za metabolicky aktivní endokrinní orgán. Akumulace viscerálního tuku, na rozdíl od tuku podkožního, zvyšuje riziko rozvoje poruch metabolismu a CVD. Viscerální adipocyty produkují řadu působků, známých jako adipocytokiny, které hrají důležitou úlohu v regulaci metabolismu (viz Kapitola 1.4, Kapitola 2). Abdominální obezita, vyjádřená WC, má vyšší korelaci s metabolickými rizikovými faktory než BMI. Bylo také prokázáno, že měření WC může nahradit CT jako metodu stanovení množství viscerální tukové tkáně (visceral adipose tissue - VAT). Muži měli signifikantně vyšší objem VAT než ženy, ve shodě s obecně známou rozdílnou distribucí tukové tkáně. Také bylo u mužů zvětšení obvodu pasu silněji asociováno se zvýšením VAT. [1]

1.3 Obezita a inzulínová rezistence

Inzulín hraje klíčovou roli v regulaci plazmatické hladiny glukózy. Normoglykémie je udržována rovnováhou mezi působením inzulínu a jeho sekrecí. Normální β -buňka je schopna se adaptovat na změny v působení inzulínu, tedy jeho snížená účinnost je vyvážena zvýšenou sekrecí a naopak. Mezi sekrecí inzulínu a inzulínovou senzitivitou existuje hyperbolický vztah. Odchytky od této hyperboly vznikají, pokud funkce β -buněk nestačí kompenzovat sníženou inzulínovou senzitivitu. Glykémii však ovlivňuje i posun v rámci hyperboly. Pokud se sníží působení inzulínu (například při progresi obezity), β -buňky reagují zvýšením sekrece inzulínu. Přesto se koncentrace lačné i stimulované glukózy začne mírně zvyšovat a pokud je tento stav dlouhodobý, dochází ke snížení funkce β -buněk. Inzulínová rezistence pak předchází rozvoji hyperglykémie a DM2.

O inzulínové rezistenci mluvíme tehdy, pokud jsou biologické účinky inzulínu na cílové tkáně sníženy, tedy že odpověď na stimul je neadekvátní. Hlavním důsledkem inzulínové rezistence je snížené vychytávání a utilizace glukózy v kosterním svalu a nedostatečná suprese tvorby glukózy v játrech. Inzulínová rezistence může vznikat i jako důsledek jiných poruch, např. při mutaci inzulínového receptoru, při blokádě aktivace inzulínového receptoru přítomností protilátek, antagonizací působení inzulínu např. zvýšenou produkcí kortisonu, růstového hormonu nebo iatrogenním podáním glukokortikoidů.

Inzulínová rezistence je většinou postreceptorového typu. Molekula inzulínu se váže na receptor (α podjednotku), který má vlastní tyrosinkinázovou aktivitu a vyvolává řadu metabolických odpovědí. Nejvýznamnějšími substráty inzulínové receptorové kinázy jsou inzulínové receptorové substráty (IRS), které zprostředkovávají přenos signálu na další molekuly uvnitř buňky. [27]

Obezita, zejména její dlouhodobé trvání, je největším rizikovým faktorem pro rozvoj diabetu II. typu. Přes jednoznačnost spojení těchto dvou patologických jednotek není samotná obezita dostačující ke vzniku

diabetu a není také nezbytně nutnou podmínkou.

1.4 Adipocytokiny a inzulinová rezistence

Inzulinová rezistence je v současnosti považována za jeden z hlavních faktorů, který spojuje viscerální obezitu s nepříznivými metabolickými a kardiovaskulárními následky (zejm. diabetes II. typu a ateroskleróza). Bílá tuková tkáň produkuje řadu hormonů, zejm. leptin a adiponektin a množství proteinových signálních molekul, tzv. adipocytokinů. Ty se pak podílejí na regulaci energetické rovnováhy, metabolismu glukózy a lipidů, regulaci krevního tlaku a angiogeneze. Viscerální obezita a přítomnost chronického zánětu v tukové tkáni může být příčinou vzniku inzulinové rezistence, diabetu II. typu a aterosklerózy. V současné době je znám velký počet adipocytokinů přítomných při zánětu (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , TGF- β) a proteinů akutní fáze (CRP, sérový amyloid A, PAI-1). Nicméně mechanismus, jakým tuková tkáň přispívá ke zvýšení těchto látek v plazmě obézních pacientů a jak tyto mohou ovlivnit inzulin-dependentní tkáně, zůstává nejasný. [6] Jednotlivé adipocytokiny a jejich pohyb při snižování váhy jsou probrány v Kapitole 2.

Ne všechny molekuly nazvané adipocytokiny mají charakteristické znaky cytokinové rodiny (skupiny), termín adipokiny by měl být vyhrazen pro látky, které jsou tvořeny výhradně adipocyty a ne jinými buňkami přítomnými v tukové tkáni. Bylo například zjištěno, že za téměř celou produkci TNF- α a značnou část produkce IL-6 jsou zodpovědné makrofágy přítomné v tukové tkáni, nikoli vlastní adipocyty.

Přítomnost zvýšených (někdy také snížených, např. u adiponektinu) hladin některých proteinů akutní fáze a zánětlivých cytokinů u obézních vedla k domněnce, že se obézní lidé nacházejí ve stavu chronického mírného zánětu a tento zánět vede k rozvoji inzulinové rezistence a k rozvoji metabolického syndromu. Při zánětu dochází v tukové tkáni k progresivní infiltraci makrofágy v přímé souvislosti s nárůstem váhy. Tyto makrofágy pak zvýšeně produkují zánětlivé cytokiny a přispívají k rozvoji chronického zánětu. Zvyšují se hladiny CRP, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-18.

Navíc byla i u zdravých lidí prokázána korelace mezi hladinou CRP a body mass indexem (BMI). Po redukci váhy pozorujeme nejen zlepšení zánětlivého procesu a komorbidit, snižuje se také exprese genů kódujících zánětlivé proteiny a klesá infiltrace makrofágy.

Příčina infiltrace tukové tkáně není ještě docela objasněna. Tuková buňka produkuje chemokin nazývaný MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), který způsobuje zvýšené vychytávání krevních monocytů tukovou tkání. U obézních se jeho exprese zvyšuje. Předpokládá se také, že leptin zvyšuje diapedézu makrofágů z krevního řečiště do tukové tkáně. Navíc, vlastní zralé adipocyty, hypertrofické, mohou aktivovat endoteliální buňky přítomné v tukové tkáni a tyto aktivované endotelie pak způsobí adhezi monocytů a jejich migraci do tukové tkáně. [6]

1.5 Terapie obezity

Léčba obezity je obtížná a i při dobré spolupráci pacienta má vysoké procento neúspěchu. Terapie obezity musí být vždy komplexní a individuálně nastavená. Jednotlivé složky terapie jsou:

- dietní terapie a nutriční edukace, vhodné stravovací návyky
- zvýšení a úprava pohybové aktivity
- kognitivně behaviorální terapie – úprava životosprávy a chování
- psychologická terapie
- farmakoterapie
- chirurgická terapie

Dietní terapii věnuji samostatnou kapitolu, k ostatním metodám jen pár stručných poznámek.

Zvýšení a úprava pohybové aktivity

Pohybová aktivita zabraňuje vytváření tukové tkáně a přispívá k redukci jejího již vytvořeného množství. Má také příznivý vliv na metabolické komplikace spojené s obezitou.

Pohybová aktivita ovlivňuje množství tukové tkáně řadou mechanismů [24]:

- účinky na složky energetického výdeje
- zvýšením energetického výdeje spojeného s pohybovou aktivitou
- vlivem na klidový energetický výdej a postprandiální termogenezi
- účinky na oxidaci tuků a lipolýzu

Zvýšení energetického výdeje pohybovou aktivitou závisí na jejím druhu, trvání a intenzitě. Při dodržení doporučené pohybové aktivity (3-4x týdně 45 minut na úrovni 50-70% maximální aerobní kapacity) lze očekávat energetický výdej 1500-1800 kcal, resp. 6300-7600 kJ/týden. Kombinace diety a pohybové aktivity zvyšuje úbytek tukové tkáně a na rozdíl od samotné diety nedochází k úbytku beztukové tkáně (převážně svaly). Pohybová aktivita tak má „ochranný vliv“ na beztukovou tkáň. Jednorázová zátěž i pravidelná fyzická aktivita snižují u obézních osob inzulinovou rezistenci a hyperinzulinémii. Přispívají k tomu jak účinky pohybové aktivity na úrovni kosterního svalu, tak redukce tukové tkáně, zejm. abdominální. Navíc pohybová aktivita snižuje hypertenzi, snižuje hladinu triacylglycerolů a zvyšuje hladinu HDL cholesterolu.

Psychologická terapie a KBT

Psychologická terapie je cílená na změnu životního stylu, na překonávání potíží spojených s obezitou. Dále na rozvoj pozitivního vztahu k vlastní osobě, přiměřeného sebehodnocení, podporu vědomého a kontrolovaného rozhodování. Snažíme se o odstranění úzkosti z obezity samotné i z redukčního režimu. Zlepšení přináší také odstranění neustálého zabývání se váhou a jídlem. Psychoterapie může být individuální a skupinová.

KBT – používají se hlavně techniky sebekontroly, které u obézních postupně vyvíjejí schopnost kontroly nad podněty, které ovlivňují jejich chování při jídle a při snaze o redukci váhy. Důraz je kladen na vlastní aktivitu obézního člověka. Postupně se tak vyvíjejí správné a trvalé vzorce jídelního chování a správný postoj k jídlu a pohybu. Při kognitivní terapii se zaměřujeme na identifikaci nevhodných myšlenek souvisejících s jídlem, pochopení vzájemných souvislostí myšlení, emocí a chování a nabízíme

náhradní, reálnější řešení. Pro kontrolu emocí slouží relaxační techniky.

Farmakoterapie

Podávání farmak v léčbě obezity má v současnosti tato doporučení [24]:

- u pacientů s BMI ≥ 30 , pokud selhala komplexní nefarmakologická léčba obezity, tj. že během 3 měsíců nebylo dosaženo hmotnostního poklesu většího než 5%
- za uvedených kritérií u pacientů s BMI 25-30, jsou-li přítomna kardiovaskulární a metabolická rizika (hypertenze, dyslipidémie, diabetes II. typu) související s obezitou
- za účelem zvýšení compliance
- s cílem zajistit dlouhodobé udržení již dosaženého hmotnostního úbytku

Z hlediska mechanismu působení dělíme tyto látky na:

- léky ovlivňující příjem potravy tím, že působením na neurotransmitery v CNS vyvolávají pocit nasycení nebo tlumí pocity hladu (anorektika) – fentermin, sibutramin
- léky zvyšující energetický výdej, popř. zvyšující oxidaci tuků v organismu – kombinace efedrinu a kofeinu
- léky snižující dostupnost tuků v organismu – orlistat.

Kritériem účinnosti léků je 5% pokles hmotnosti za 3 měsíce podávání, ale i snížená účinnost může být pro pacienta přínosem ovlivněním distribuce tuku a výskytu kardiovaskulárních a metabolických rizik. Požadavkem na léčiva je kromě účinnosti také bezpečnost a nenávykovost i při dlouhodobém podání. Těmto požadavkům dobře vyhovuje orlistat a sibutramin.

Chirurgická terapie

Používá se v terapii zejména u vyšších stupňů obezity. O indikaci se rozhoduje individuálně podle celkového stavu, věku, komplikujících onemocnění a podle postoje samotného pacienta ke svému zdravotnímu

stavu. Základními indikačními kritérii jsou:

- BMI \geq 40 nebo BMI \geq 35 se závažnou komorbiditou v důsledku obezity
- konzervativní léčba bez efektu
- bez interních a psychiatrických kontraindikací

Provádí se zejména bandáž žaludku, tubulizace žaludku a žaludeční bypass.

1.6 Dietní intervence

Dietní intervence je základní metoda léčby obezity, spolu se zvýšením fyzické aktivity a změnou chování. Kromě energetického obsahu je při jejím stanovování důležité zastoupení jednotlivých živin. Byl prokázán pozitivní vztah mezi inzulínovou rezistencí a obsahem nasycených mastných kyselin v dietě a rovněž množství tuku v dietě pozitivně koreluje se zhoršenou odpovědí na inzulín. Optimální dieta by měla splňovat následující kritéria – snížené množství nasycených tuků, vyšší obsah mononenasycených a polynenasycených tuků, zvýšené množství zeleniny, luštěnin, ovoce a potravin s nízkým glykemickým indexem, snížený obsah soli a omezený obsah alkoholu. Cílem diety je dosažení hmotnostního úbytku, zlepšení inzulínové rezistence a snížení metabolických a kardiovaskulárních rizik.

Druhy redukčních diet [24]

1. Vyvážená strava – dieta s vyváženým zastoupením jednotlivých složek, s energetickým obsahem nižším než je energetický výdej pacienta. Obsah energie stanovíme na základě energetického výdeje pacienta a podle dosavadního příjmu energie. Je variabilní, avšak musí splňovat doporučené dávky jednotlivých živin, kromě obsahu energie. Přibližný energetický obsah je 6000-6500 kJ/den, doporučené zastoupení jednotlivých živin je: sacharidy 55-60%, tuky 20-30%, bílkoviny 15%.
2. Diety omezující jednu ze živin – nejčastěji se jedná o omezení tuků

a relativní zvýšení sacharidů, nebo o změnu složení tuků ve prospěch mono a polynenasycených. Bez sacharidová dieta, skládající se převážně z bílkovin a tuků, se používá méně. Vysoký obsah bílkovin má ketogenní účinek a vysoký příjem lipidů přispívá k rozvoji hyperlipidémie.

3. Tekuté diety – jde o modifikované hladovění (very-low-calorie diet - VLCD). VLCD slouží jako náhrada potravy, mají definovaný obsah energie (do 3200 kJ), bílkovin, sacharidů a nízký obsah tuku. Při jejich dodržování je nutný dostatečný přísun tekutin. Mají své specifické indikace – BMI > 35, před chirurgickými výkony – a mají být podávány pod lékařským dohledem, většinou za hospitalizace. Kontraindikací VLCD je BMI < 30, vážnější kardiovaskulární onemocnění (stav po infarktu myokardu), onemocnění jater a ledvin, anémie, tyreotoxikóza, vředová choroba. Mezi nejčastější nežádoucí účinky VLCD patří závratě a pocity na omdlení, hyperurikémie, nauzea a zvracení, zácpa, dehydratace (zejm. na počátku diety, kdy stoupá diuréza).

VLCD se mohou uplatnit také jako doplněk jiné diety u pacientů s obezitou, kdy se například jedno jídlo denně (nejčastěji večeře) nahradí porcí VLCD.

Jejich výhodou je jednoduché dodržování, velké váhové úbytky a dobrá kontrola složení. Nevýhodou pak fakt, že nemají vliv na pacientovy dlouhodobé stravovací návyky.

2. Adipocytokiny

Z rozsáhlého souboru molekul, produkovaných tukovou tkání jsem vybrala ty nejdůležitější, zkoumané jako spojující článek obezity a inzulínové rezistence.

Leptin

Produkt *ob* genu, hormon, který je téměř výlučně produkován v tukové tkáni, a to zejména zralými adipocyty. Chemicky se jedná o polypeptid, jeho struktura je homologní s cytokiny. Adipocyty produkují leptin v závislosti na množství tukové tkáně a stavu výživy (existuje přímá úměrnost mezi BMI, objemem tukové tkáně a expresí leptinové mRNA a tím cirkulující hladinou leptinu) a tato produkce je vyšší z podkožní tkáně než z viscerální. [7]

Koncentrace leptinu v plazmě vykazuje pohlavní dimorfismus – u žen je vyšší než u mužů. Tento rozdíl se vysvětluje dvěma hlavními tezemi: 1) ženy mají vyšší poměr podkožní tuk – viscerální tuk a signifikantně vyšší poměr leptinové exprese v podkožní tkáni a 2) „steroidní prostředí“ - když byly transsexuálním jedincům podány hormony opačného pohlaví, bylo zjištěno, že ti s vysokou hladinou cirkulujícího testosteronu (ať šlo geneticky o muže nebo ženy) měli signifikantně nižší hladiny sérového leptinu než jedinci s převahou estrogenů a nízkou hladinou testosteronu. To vede k domněnce, že spíše než genetické pohlaví ovlivňuje plazmatické hladiny lipidů toto „steroidní prostředí“. [1]

V plazmě cirkuluje ve vazbě na proteiny, vstupuje do CNS přes substantia mediana a plexus chorioideus. V CNS se váže na receptor v hypotalamu, stimuluje výdej anorexigenních peptidů, např. proopiomelanocortinu a inhibuje „orexigenní“ peptidy, jako je neuropeptid Y. [2,3] Kromě centrálního účinku jsou dále zkoumány i vlastnosti leptinu jako cytokinu a jeho účinek na periferní tkáně, zejména jeho vliv na zánětlivou odpověď organismu a TNF- α . [7] Hlavní rolí leptinu je zřejmě působit jako signál energetického deficitu. Při hladovění jeho hladiny rychle klesají. Změny v příjmu potravy a v objemu tukové tkáně jistě

ovlivňují inzulínovou senzitivitu periferních tkání, některé studie ale naznačují, že leptin ovlivňuje glukózovou homeostázu nezávisle na ovlivnění příjmu potravy. Například u genetických modelů leptinového deficitu se porucha glukózového metabolismu objevuje jak u obézních (ob/ob myši), tak neobézních (lipodystrofie z důvodu chybného vývoje adipocytů) zvířat a tato porucha se podáním leptinu upraví, mechanismem, který nelze vysvětlit pouze změnami v příjmu potravy nebo tělesné hmotnosti. Tedy defektní leptinová signalizace závažně ovlivňuje glukózový metabolismus a tento účinek se přidává k celkovému ovlivnění energetického příjmu a množství tělesného tuku. [4]

Ve studii s obézními dětmi, které měly kongenitální mutaci genu pro leptin (a tedy deficit leptinu), podání rekombinantního leptinu rychle upravilo tělesnou hmotnost. [5] Nicméně u všech ostatních typů obezity nalézáme zvýšenou hladinu leptinu.

Inzulín zvyšuje leptinovou syntézu i sekreci, dále hladiny leptinu zvyšují glukokortikoidy, TNF- α , estrogeny, snižuje β 3-adrenergní aktivita, androgeny, pohlavní hormony, růstový hormon (GH) a agonisté PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated nuclear receptor- γ). [6]

Tumor necrosis factor- α (TNF- α)

TNF- α je prozánětlivý cytokin produkováný různými buněčnými typy, nejvíce makrofágy a lymfocyty. Buňky tukové tkáně jsou schopny jej produkovat, ale jejich podíl na celkové produkci je velmi malý. První studie spojující obezitu se zvýšenou expresí prozánětlivých cytokinů, zejména TNF- α byla publikována v roce 1993. Na myších modelech se ukázalo, že TNF- α může hrát roli při vzniku inzulínové rezistence tím, že fosforyluje protein IRS-1 (insulin receptor substrate-1), což může zabránit jeho interakci s inzulínovým receptorem a přerušit tak signalizaci. [7]

Hladina TNF- α mRNA je přímo úměrná body mass indexu, procentu tělesného tuku a hyperinzulinémií. U obézních prokazujeme zvýšenou expresi TNF- α , po redukci váhy se snižuje. [2] Lidský plazmatický TNF- α však nepochází pouze z adipocytů, ale především z makrofágů

(přítomných v tukové tkáni i mimo ni). Zvýšené hladiny cirkulujícího TNF- α tedy nejsou zřejmě způsobeny zvýšenou produkcí v tukové tkáni, ale složitějším mechanismem, zahrnujícím systémový efekt leptinu a jiných adipocytokinů (zvýšení produkce TNF- α jinými buňkami, zejména makrofágy). [7] Některé studie neprokazují zvýšenou cirkulující hladinu TNF- α u obézních, ale i ty prokazují jeho zvýšenou expresi v tukové tkáni. Produkce TNF- α stimuluje produkci jiných látek, např. IL-6 a IL-8, snižuje produkci adiponektinu.

Interleukin-6 (IL-6)

Je produkován mnoha buněčnými typy, kromě adipocytů také buňkami imunitního systému, fibroblasty, endoteliálními buňkami, buňkami kosterního svalu. IL-6 v plazmě cirkuluje jako glykosylovaný protein. Jeho plazmatické hladiny korelují s tělesnou hmotností a stupněm inzulínové rezistence, vysoké hodnoty IL-6 jsou prediktorem diabetu 2. typu. Váhová redukce významně snižuje jeho obsah v tukové tkáni i plazmatickou hladinu. Nicméně, na celkové produkci IL-6 se tuková tkáň podílí pouze z 10%. Bylo zjištěno, že viscerální tuk produkuje třikrát více IL-6 než podkožní tuková tkáň. [8] IL-6 přímo ovlivňuje inzulínovou signalizaci tím, že aktivuje SOCS-3 (suppressor of cytokine signalling-3), který inhibuje autofosforylaci inzulínového receptoru. [7]

Interleukin-8 (IL-8)

Další z interleukinů produkováných zralými adipocyty. Plazmatická hladina koreluje se stupněm adipozity a markery inzulínové rezistence. Krom jiných zánětlivých procesů byla prokázána jeho účast v patogenezi aterosklerózy. U pacientů s diabetem II. typu nacházíme signifikantně zvýšené plazmatické hladiny. [18]

Interleukin-10 (IL-10)

Má klíčovou úlohu v regulaci ostatních cytokinů a je znám pro své protizánětlivé vlastnosti. Je schopen inhibovat produkci IL-1, IL-6 a TNF- α

v makrofázích.

Resistin

Resistin patří do skupiny proteinů bohatých na cystein nazývané RELM – resistin-like molecule family. Jeho zvýšené hladiny byly prokázány u myší s genetickými formami obezity a s obezitou navozenou dietní intervencí. Jeho podání u zdravých myší navodí poruchu glukózové tolerance a inzulínovou rezistenci. Naopak pokud podáme myším s obezitou neutralizující protilátky proti resistinu, jejich inzulínová senzitivita se zlepší. [2] U lidí jsou pravděpodobně hlavním zdrojem resistinu buňky imunitního systému a není dosud zřejmé, zda hraje důležitější roli v rozvoji inzulínové rezistence. V plazmě se vyskytuje ve velmi nízké koncentraci, je primárně produkován monocyty a jeho expresi zvyšují prozánětlivé cytokiny TNF- α a IL-6. Obráceně, resistin indukuje expresi TNF- α a IL-6 v tukové tkáni a periferních monocyttech. Byla nalezena také asociace resistinu s dalšími zánětlivými markery, jako je CRP a také jinými zánětlivými chorobami jako např. nespecifické střevní záněty, sepse a septický šok, revmatoidní artritida. Dostává se tak na pomezí zánětlivých a metabolických ukazatelů. [12]

Adiponektin

Adiponektin je produkován zralými adipocyty, je to nejvíce exprimovaný adipocytokin v bílé tukové tkáni. Průměrná plazmatická hladina je 5-10 $\mu\text{g/ml}$. Na rozdíl od ostatních adipocytokinů je jeho plazmatická hladina u obézních a u osob s inzulínovou rezistencí *snížena*. Hladina adiponektinu negativně koreluje s BMI, poměrem pas-boky, hladinou lačné glukózy a inzulínu. Snížená hladina adiponektinu byla prokázána u osob s kardiovaskulárními chorobami, hypertenzí a metabolickým syndromem, tedy u stavů spojených s inzulínovou rezistencí, a ve shodě s tímto faktem také u diabetiků II. typu. Naopak vysoké hodnoty jsou spojeny s významně sníženým rizikem rozvoje diabetu II. typu. [2] Dalším příkladem stavu spojeného s inzulínovou

rezistencí, při kterém jsou hodnoty adiponektinu sníženy, je gestační diabetes. Navíc bylo prokázáno, že ženy, u nichž byla v počínajícím těhotenství zjištěna nízká hladina adiponektinu, měly zvýšené riziko pozdějšího rozvoje gestačního diabetu (ve srovnání s ženami s vyšší hodnotou adiponektinu). Snížená hladina adiponektinu je také spojena s aterosklerózou koronárních arterií a bylo prokázáno, že osoby s vyšší hladinou adiponektinu měly významně snížené riziko vzniku infarktu myokardu.

Adiponektin vykazuje pohlavní a etnickou variabilitu. Jeho hladina je obecně vyšší u žen než u mužů, a ženy mají také vyšší relativní podíl HMW (viz dále). Příslušníci kavkazské rasy mají vyšší hladiny než Afričané a Asiaté se stejným BMI. [9]

Adiponektin se v plazmě vyskytuje ve 3 formách – oligomerech – s různou molekulovou hmotností, označují se jako HMW (multimer), MMW (multimer) a LMW (trimer). Většina adiponektinu detekovaného v krevní plazmě je typu HMW. Nově se zavádí také index S_A , jako poměr HMW adiponektinu k celkovému, tj. $S_A = \text{HMW}/(\text{HMW} + \text{LMW})$, ukázalo se totiž, že má silnější korelaci s inzulínovou senzitivitou než celková hladina adiponektinu.

Účinky adiponektinu jsou zprostředkovány 2 různými receptory nazvanými adiponectin receptor 1 (AdipoR1) a adiponectin receptor 2 (AdipoR2). AdipoR1 je exprimován v různých typech tkání, AdipoR2 převážně v játrech. [10]

Plazmatickou hladinu adiponektinu zvyšuje snížení tělesné hmotnosti, restrikce kalorií a léčba TZD (thiazolidindiony). Naopak TNF- α a IL-6 hladiny adiponektinu snižují.

Účinek adiponektinu na inzulínovou rezistenci lze alespoň zčásti vysvětlit zvýšením oxidace mastných kyselin aktivací AMPK (5-AMP-activated protein kinase) v kosterním svalu, což je podobné účinku leptinu. Navíc adiponektin aktivuje i jaterní AMPK, což má za následek snížení jaterní produkce glukózy a pokles obsahu triacylglycerolů v játrech a kosterním svalu. Byly také prokázány anti-aterogenní vlastnosti

adiponektinu – má schopnost vázat se na kolagen v subendoteliálním prostoru, zabraňuje adhezi monocytů na endoteliální buňky a zabraňuje přeměně makrofágu v pěnovou buňku. Na myších modelech byl prokázán inzulin-senzitizující účinek adiponektinu. U myší s lipoatrofií se inzulinová rezistence výrazně vylepšila podáním fyziologické dávky kombinace rekombinantního adiponektinu a leptinu, při samostatném podání bylo zlepšení pouze částečné. [7,9]

ASP – Acylaci stimulující protein

U obézních zvýšený. Stimuluje glukózový transport, podporuje reesterifikaci mastných kyselin a tím zvyšuje ukládání triacylglycerolů v tukové tkáni. Rezistence k ASP může vytvářet stav, kdy jsou mastné kyseliny přednostně směřovány do jater. [6]

Visfatin

Je produkován převážně viscerální tukovou tkání. Hladina visfatinu se při rozvoji obezity zvyšuje, což je doprovázeno vzrůstem visfatinové mRNA ve viscerální tukové tkáni, ale nikoli v podkožní nebo v játrech. Má některé metabolické účinky společné s inzulinem. Přímou aktivuje inzulinové receptory, ale odlišným způsobem než inzulin. Jeho expresi snižuje TNF- α , IL-6, růstový hormon a isopreterenol, zvyšuje ji dexamethason. Inzulin nemá žádný vliv na syntézu visfatinu. Afinity visfatinu k inzulinovému receptoru je přibližně shodná s inzulinem, ale vzhledem k tomu, že jeho plazmatická koncentrace je mnohonásobně nižší (asi 10% koncentrace inzulinu nalačno, 3% po jídle), bude nejspíš jeho fyziologický účinek malý. [2,11]

Apelin

Je produkován zralými adipocyty, jeho produkce v podkožní i viscerální tukové tkáni je podobná. Jedná se o skupinu podobných peptidů s různou délkou. U obézních jedinců je jeho plazmatická hladina asi dvojnásobně vyšší než u neobézních. V plazmě cirkuluje v nízkých,

pikomolárních koncentracích, funguje hlavně jako parakrinní hormon. Receptor pro apelin je přítomen v mozku a téměř všech periferních tkáních. Apelin inhibuje glukózou-indukovanou sekreci inzulínu, inzulín reguluje apelinovou expresi v tukové tkáni, zatímco glukóza na syntézu apelinu vliv nemá. Z kardiovaskulárních účinků je důležitý zejména jeho pozitivně inotropní efekt. [2,11]

Retinol Binding Protein 4 (RBP4)

RBP4 je plazmatický protein, specifický pro transport retinolu. Jeho fyziologickou funkcí je vazbou na retinol zabránit jeho ztrátě ledvinami. Ačkoli je významně produkován v játrech, adipocyty jsou také schopny jej produkovat a jeho zvýšená hladina koreluje s poruchami účinku inzulínu.

Zvýšená hladina RBP4 byla prokázána u osob s porušenou glukózovou tolerancí, diabetem II. typu a nejnovější výsledky ukazují, že hladiny RBP4 se zvyšují se zvyšujícím se počtem složek metabolického syndromu. Podobně jako jiné adipocytokiny vykazuje těsnější korelaci s poměrem pas-boky nebo objemem viscerálního tuku než s BMI nebo hmotností pacienta jako takovou. Nicméně se objevily studie, které nenacházejí žádnou korelaci s BMI a jiné, ve kterých se cirkulující hladina RBP4 u obézních a štíhlých významně nelišila. Takové rozdíly mezi výsledky studií je nutno přičíst rozdílům ve věku subjektů, etnické variabilitě, velikosti souboru a použitých analytických metodách. Dalším předmětem zkoumání bude také fakt, že byla nalezena souvislost zvýšené hladiny RBP4 s akumulací tuku v játrech a hepatální inzulínovou rezistencí. Na myších modelech se ukazuje že adipocyty produkují pouze 20% systémového RBP4 a exprese genu pro RBP4 v adipocytech dosahuje pouze 20% jaterní exprese. Tedy je možné, že zvýšené plazmatické hodnoty nejsou způsobeny zvýšenou produkcí RBP4 v adipocytech. [12]

MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein 1)

Nejvýznamnější z proteinů pro chemoatrakci monocytů, jehož exprese v tukové tkáni je u obézních zvýšená. Po redukci váhy jeho hladina signifikantně poklesá. Produkce z viscerální tukové tkáně je vyšší než z podkožní. [12]

PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor 1)

Inhibitor tkáňového aktivátoru plazminogenu 1 působí fyziologicky jako inhibitor fibrinolýzy. Snížená fibrinolytická kapacita, jako výsledek zvýšené hladiny cirkulujícího PAI-1, se považuje za kardiovaskulární rizikový faktor. U lidí byly popsány 3 základní zdroje PAI-1: hepatocyty, endoteliální buňky a adipocyty. U obézních pacientů nacházíme zvýšenou hladinu PAI-1. Studie týkající se viscerální tukové tkáně mají rozporuplné výsledky, ale zdá se, že viscerální tuková tkáň produkuje víc PAI-1 než podkožní (ovšem tento rozdíl může vzniknout i ne-adipocytární produkcí; tento problém nastává i u IL-6). [13]

3. Studie zabývající se pohybem cytokinů při dietní intervenci

1) *Garaulet, M., et al. Adiponectin Gene Expression and Plasma Values in Obese Women during Very-Low-Calorie Diet. Relationship with Cardiovascular Risk Factors and Insulin Resistance. 2004 [14]*

Studie zaměřená na vliv adiponektinu na zlepšení inzulínové senzitivity během VLCD. Do studie bylo zařazeno 33 obézních žen (věk 37 ± 6 let, hmotnost 95 ± 14 kg, BMI $34 \pm 4 \text{ kg/m}^2$). 4 týdny jim byla podávána tekutá dieta s energetickým obsahem 3360 kJ / týden. Průměrný váhový úbytek byl 7% původní váhy. Většina kardiovaskulárních rizikových faktorů se signifikantně vylepšila, hladina leptinu poklesla. Nicméně hladina adiponektinu očekávané zvýšení nedosáhla a navíc během diety vymizela signifikantní korelace mezi kardiovaskulárními proměnnými a hladinou adiponektinu. Studie neprokázala ani očekávanou korelaci mezi hladinou adiponektinu a hladinou inzulínu, příp. indexy inzulínové rezistence. Příčin může být několik – nedostatečný váhový úbytek (uvádí se, že k signifikantnímu snížení kardiovaskulárních rizikových faktorů dochází při úbytku váhy o 5-10%), délka studie (rychlost změny exprese mRNA?), dále také nedostatečná kontrola compliance. U skupiny žen s femorálním typem obezity byla zjištěna korelace mezi expresí genu pro adiponektin v podkožní tukové tkáni a plazmatickou hladinou inzulínu, nicméně tato korelace nebyla doprovázena odpovídající korelací s plazmatickým adiponektinem. To může vést k domněnce, že podkožní tukový tkáň výrazněji neovlivňuje celkovou plazmatickou hladinu adiponektinu.

2) *Polák, J., et al.: An increase in plasma adiponectin multimeric complexes follows hypocaloric diet-induced weight loss in obese and overweight pre-menopausal women, 2007 [15]*

Studie byla zaměřena na zkoumání vlivu nízkokalorické diety na plazmatickou hladinu adiponektinu, a to nejen celkovou, ale i jednotlivých forem. Sledovala skupinu 20 pre-menopauzálních žen (věk $39,4 \pm 9,5$ let, hmotnost $89,8 \pm 16,4$ kg, BMI $32,2 \pm 6,4 \text{ kg/m}^2$), které podstoupily 12-týdenní

nízkokalorickou dietu (o 660kcal denně méně než je individuálně vypočítaná energetická potřeba). Po skončení diety byl váhový úbytek 7,4%, BMI pokleslo o 7,3%. Hladina inzulínu byla snížena, stejně tak index inzulínové rezistence HOMA. Celková plazmatická hladina adiponektinu se zvýšila o 36%, signifikantnost tohoto rozdílu byla odlišná dle použité techniky. Při použití ELISA byl rozdíl signifikantní pouze hraničně (P 0,080), při použití Western blottu byl jednoznačně signifikantní (P 0,007). Zvýšená hladina adiponektinu měla negativní korelace s hladinou inzulínu, indexem HOMA a HDL cholesterolem, tyto korelace byly ovšem ve všech případech nesignifikantní. Tedy ani tato studie neprokázala jednoznačný vliv zvýšené plazmatické hladiny adiponektinu na snížení inzulínové rezistence, ale vezmeme-li do úvahy anti-aterogenní a protizánětlivý vliv adiponektinu, pak je toto zvýšení pomocí dietní intervence pro pacienta jistě přínosem. Korelace zvýšené plazmatické hladiny adiponektinu s jinou proměnnou nebyla během studie zjištěna. Jednotlivé formy adiponektinové molekuly byly zvýšeny takto – HMW o 5,5%, MMW o 18,1% a LMW o 8,5%.

Kladně lze u této studie hodnotit velikost souboru a důslednou kontrolu compliance.

3) *Bobbert, T., Rochlitz, H., Wegewitz, U. et al. Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction. 2005 [16]*

Studie zaměřená na změny v hodnotách adiponektinu a jeho jednotlivých oligomerů po mírném váhovém úbytku dosaženém dietní intervencí. Soubor pro studii tvořilo 17 dobrovolníků, 15 žen a 2 muži. U jedné ženy byla prokázána porušená glukózová tolerance, 2 z dobrovolníků (1 muž a 1 žena) měli diabetes II. typu, léčený perorálními antidiabetiky (ne thiazolidindiony). Průměrný věk byl $51,8 \pm 3,1$ let, počáteční průměrná váha $96,2 \pm 3,1$ kg a BMI $35,1 \pm 1,2$ kg/m². Dietní intervence spočívala v 6 měsíčním podávání diety, o 400-600 kcal/denně nižším příjmu než byl vypočtený. Po 6 měsících váha a BMI signifikantně poklesly na $90,0 \pm 2,6$ kg a $32,8 \pm 1,1$ kg/m². Celková hladina

adiponektinu se sice zvýšila, ale tento rozdíl nebyl signifikantní ($P = 0,076$). Jednotlivé parametry sacharidového a lipidového metabolismu, např. hodnota celkového cholesterolu, triglyceridů, lačné glukózy, zůstaly téměř nezměněny.

Jedinou signifikantní změnou bylo zvýšení HDL cholesterolu. Co se týká jednotlivých oligomerů, zvýšila se hladina HMW a MMW, ale nikoli LMW, což je v rozporu s pozdější studií (č. 2). HMW hladina také nejvíce korelovala se vzestupem HDL cholesterolu. Výsledky této studie naznačují vyšší souvislost hladiny adiponektinu s dyslipidemií než s předpokládanou inzulinovou senzitivitou (neprokázána korelace ani s celkovým adiponektinem, ani s jednotlivými oligomery). Výsledky studie ovlivnil pravděpodobně do velké míry fakt, že dosažený váhový úbytek byl relativně nízký, což napovídá i ne-zlepšení metabolického profilu jednotlivých účastníků. V souboru byli zařazeni muži i ženy, ve skupině žen pak pre, peri i postmenopauzální, což komplikuje srovnání s jinými studiemi, ačkoli autoři ve studii uvádí, že výsledky pro jednotlivé skupiny v zásadě odpovídaly výsledkům celkovým. Toto tvrzení lze nicméně zpochybnit s ohledem na malou velikost souboru.

4) *Abbasi, F, Chang, S., Chu, J. et al. Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes, 2006 [17]*

Tato studie byla provedena s 24 dobrovolníky (nejspíše zástupci obou pohlaví, není blíže specifikováno). Byli rozděleni do dvou skupin, první podstoupila dietní intervenci, zatímco druhá byla léčena pomocí rosiglitazonu (4 mg/den 4 týdny, poté 8 mg/den 8 týdnů). Studie se liší od ostatních tím, že autoři měřili inzulinovou senzitivitu přímo, metodou SSPG (steady-state plasma glucose – rovnovážný stav, při kterém se ustálí hladina dodávané glukózy při hyperinzulinemickém-euglykemickém clampu), nikoli pouze z hodnot lačné glukózy a inzulinu. Ve skupině s dietou došlo k poklesu váhy v průměru o 7,4 kg (8% původní váhy,

$P < 0,001$), zatímco skupina s rosiglitazonem přibrala v průměru 1,3 kg ($P = 0,03$). Koncentrace SSPG, které byly na začátku téměř identické, poklesly signifikantně, a to velmi podobně v obou skupinách (29% a 30%). Nicméně hladina adiponektinu se zvýšila jen ve skupině s rosiglitazonem, navíc nebyla nalezena signifikantní korelace mezi zlepšením inzulinové senzitivity a zvýšením adiponektinu. To vede autory k domněnce, že vzestup adiponektinu by mohl být způsoben přímo thiazolidindionem a že změny v hladině adiponektinu nejsou příčinou zlepšené inzulinové senzitivity. Co se týká výsledků skupiny s dietní intervencí, je nutné vzít v úvahu fakt, že dosažený váhový úbytek byl pouze střední, nebyl proveden žádný bariatrický chirurgický zákrok. Také neznáme zastoupení jednotlivých pohlaví, u žen není specifikováno, zda jde o pre, peri nebo postmenopauzální ženy. V každé skupině bylo pouze 12 pacientů.

5) Bastard, JP, Jardel, C., Bruckert, E. et al.: Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss, 2000 [8]

Jedna ze základních studií o interleukinu 6 se skládá ze 2 částí. V první (1) autoři zkoumali hodnoty zánětlivých cytokinů (IL-6, TNF- α) a leptinu u obézních pacientů v porovnání se štíhlými, ve druhé (2) hodnoty těchto cytokinů v séru a podkožní tukové tkáni před a po 3 týdenní dietě typu VLCD.

(1) Studie se zúčastnilo 29 žen (8 z nich štíhlých, bez diabetu, 14 obézních, bez diabetu a 7 obézních s diabetem II. typu). všechny obézní měly obezitu androidního typu (poměr pas-boky vyšší než 0,90 a BMI ≥ 30 kg/m²). Sérové hladiny IL-6, TNF- α , leptinu a CRP byly signifikantně vyšší než u štíhlých. Kromě CRP měly všechny signifikantní korelaci s BMI a plazmatickou hodnotou lačného inzulinu. IL-6 koreloval signifikantně s hladinou CRP a také s hodnotou lačné glukózy, jako jediný ze všech. Měl tedy daleko silnější korelaci se stupněm obezity a parametry inzulinové

rezistence než leptin a TNF- α . Tato část studie prokázala (korelací s BMI), že cirkulující hladiny cytokinů odrážejí, přinejmenším částečně, jejich produkci v tukové tkáni. Prokázala také zvýšení CRP u obézních.

- (2) 14 obézních se následně podrobilo 3 týdenní VLCD, po které došlo k poklesu váhy (3 kg) a snížení BMI (2,1 kg/m²). Hodnoty IL-6 po dietě byly snižené, sice jen mírně, ale signifikantně u všech pacientek, zatímco změny v hladině CRP signifikantní nebyly. Došlo také k signifikantnímu poklesu hladin leptinu. Hladina TNF- α se nezměnila. Změny hodnot v podkožní tukové tkáni odpovídaly změnám v séru (pokles IL-6 a leptinu, TNF- α beze změny). Nedostatečný pokles TNF- α přisuzují autoři studie zejména délce jejího trvání.

Tato studie poprvé prokázala zvýšenou hladinu IL-6 u obézních a její pokles po VLCD. Zachytila také vztah IL-6 k CRP.

6) *Bruun, J., Verdich, C., Toubro, S. et al. Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α . Effect of weight loss in obese men. European Journal of Endocrinology (2003) [18]*

Do studie bylo zařazeno 19 obézních mužů (BMI 38,6 \pm 0,6 kg/m²) a 10 štíhlých (BMI 23,4 \pm 0,4 kg/m²). Skupina obézních dostávala prvních 8 týdnů dietu 4,2 MJ/den, následovalo 8 týdnů s 6,2 MJ/ den a 8 týdnů udržovací diety. Při měření na začátku studie se ukázalo, že hodnoty IL-6 a IL-8 jsou o 30-40% vyšší ve skupině obézních, zatímco rozdíl v hodnotě TNF- α nebyl mezi oběma skupinami zjištěn. Zajímavé je, že ani u jednoho interleukinu nebyla zjištěna korelace s žádným ze sledovaných antropometrických parametrů (BMI, objem tukové tkáně, obvod pasu). Naopak byla prokázána korelace s hodnotami lačného inzulínu a v případě IL-6 i s HOMA. Po dietní intervenci došlo u obézních k poklesu hmotnosti (o 15 %), celkového objemu tukové tkáně (o 30 %) a snížil se

také obvod pasu (o 20 %). Tato poměrně významná redukce se odrazila v signifikantním zlepšení inzulínové senzitivity, tedy ve snížení hodnot lačného inzulínu a HOMA. Plazmatické hodnoty IL-6 a TNF- α se snížily, ale IL-8 se zvýšil o 30%. Navíc pouze změny v IL-6 a nikoli v IL-8 korelovaly se zlepšením inzulínové senzitivity po redukcii váhy. Tuto nečekanou změnu v IL-8 komentují autoři studie takto: kromě produkce v tukové tkáni je IL-8 významně produkován v jiných typech buněk, přítomných při akutním nebo chronickém zánětu a tato produkce je často řízena TNF- α , ovšem předpokládá se, že TNF- α v tukové tkáni vykazuje efekt pouze lokální a navíc u žádného z pacientů nebyla zjištěna žádná zánětlivá choroba. Zvýšení IL-8 také může být důsledkem změn v jiných zánětlivých markerech než těch sledovaných ve studii; pokles hmotnosti mohl vést k uvolnění jiných látek z tukové tkáně, např. organochlorinových, které mohly stimulovat zvýšený výdej IL-8. Míra, jakou produkce IL-8 v tukové tkáni ovlivňuje celkovou plazmatickou hladinu, by měla být předmětem dalšího výzkumu. Plazmatické hladiny TNF- α korelovaly s hladinami IL-6 a IL-8, což podporuje hypotézu o TNF- α jako vedoucím cytokinu, který řídí produkci a uvolňování ostatních cytokinů. Výsledky této studie ovlivňuje jistě to, že byli zařazeni jen muži. Studie potvrzuje zvýšenou hladinu IL-6 u obézních ve srovnání se štíhlými, změny TNF- α neprokazuje.

7) Ryan, A. Nicklas, B. *Reductions in plasma cytokine levels with weight loss improve insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women, 2004* [19]

Na počátku studie bylo 58 obézních postmenopauzálních žen (50-70 let, BMI > 25 kg/m²), studii dokončilo 37 z nich. Ženy podstoupily 6-měsíční terapii – dietu (250-350 kcal/den) a cvičení (3x týdně na bicyklovém ergometru). Na počátku studie vykazoval soubor velkou variabilitu hodnot inzulínové senzitivity a zánětlivých markerů. Koncentrace IL-6 a sTNFR-1 (solubilní receptor pro TNF- α) korelovaly pozitivně s BMI (tedy nikoli samotný TNF- α), jediný IL-6 koreloval s

celkovým objemem tělesného tuku, zatímco sTNFR-1 a sTNFR-2 korelovaly s objemem viscerální tukové tkáně. Při hyperinzulinemickém euglykemickém clampu ($40 \text{ mU} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$) provedeném na začátku studie se senzitivita k inzulínu hodnotila pomocí M/I, tedy hodnoty glukózové utilizace (M) na jednotku inzulínu (I). Analýzou vztahu M/I k CRP bylo zjištěno, že CRP je prediktorem jak utilizace glukózy, tak inzulínové senzitivity, nezávisle na množství celkové (nebo viscerální) tukové tkáně, rase nebo aerobní zdatnosti.

Po 6 měsících studie poklesla tělesná hmotnost, procento tělesného tuku, celkový objem tukové tkáně, objem viscerálního i podkožního tuku. Poklesly hodnoty lačné glukózy a inzulínu, utilizace glukózy se zvýšila, stejně tak inzulínová senzitivita. Co se týká cytokinů, poklesly hodnoty CRP, IL-6 a také sTNFR-1, zatímco koncentrace samotného TNF- α a sTNFR-2 se nezměnila. Změny v M a M/I korelovaly negativně s objemem tukové tkáně a dále byla prokázána korelace s CRP, sTNFR-1 a IL-6, zatímco korelace s TNF- α prokázána nebyla. Z výsledků vyplývá, že váhový úbytek vedl ke zvýšení inzulínové senzitivity a glukózové utilizace, a toto zvýšení signifikantně koreluje s poklesem hodnot cytokinů, zejména IL-6 a sTNFR-1. Tento vztah není závislý na poklesu celkového tělesného tuku ani na poklesu viscerálního tuku. K očekávanému poklesu TNF- α nedošlo, což autoři připisují faktu, že TNF- α působí více na lokální než systémové úrovni. Autoři také neprokázali očekávaný vztah koncentrace IL-6 k hodnotám utilizace glukózy, vysvětlují to nízkými fyziologickými hodnotami inzulínu. Pokud totiž měříme koncentrace IL-6 v tukové tkáni a utilizaci glukózy stanovujeme za maximální koncentrace inzulínu, prokážeme negativní korelaci těchto dvou parametrů. Pro další zkoumání je tedy zřejmě nutné měřit lokální koncentraci IL-6 v tukové tkáni. Nicméně, hladina IL-6 se i zde ukázala jako nezávislý prediktor změn v inzulínové senzitivě po poklesu váhy.

Studie se liší od ostatních zejména zařazením pohybové aktivity, která také přispívá ke snížení inzulínové rezistence.

8) Villareal, DT, Miller, BV, Banks, M. et al. *Effect of lifestyle intervention on metabolic coronary heart disease risk factors in obese older adults*, 2006 [21]

Celkem 27 obézních seniorů (muži i ženy, věk ≥ 65 let, BMI ≥ 30 kg/m²) bylo rozděleno do dvou skupin (17 terapie – 10 kontrola). U všech účastníků byly přítomny mírné nebo střední příznaky tzv. geriatrické křehkosti (frailty). Pacienti s diabetem byli vyřazeni. První skupina podstoupila 26 týdnů trvající intervenci složenou z nízkokalorické diety (energ. deficit přibližně 750 kcal/den) a cvičení (3x týdně 90 min). Kontrolní skupina nedostávala žádnou terapii, pouze udržovala svůj dosavadní životní styl. Studii dokončilo 24 pacientů. Na počátku nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v antropometrických parametrech nebo kardiovaskulárních rizikových faktorech mezi oběma skupinami.

Po 26 týdenní terapii poklesla ve skupině s terapií hmotnost ($8,4 \pm 5,6$ %), prevalence metabolického syndromu a zlepšily se jednotlivé parametry metabolického syndromu (obvod pasu, krevní tlak, zánětlivé markery, hladina glukózy, triacylglycerolů) s výjimkou HDL-cholesterolu, jehož změna nebyla signifikantní. Žádná z těchto změn nebyla přítomna u kontrolní skupiny. Také se na rozdíl od kontrol u skupiny s terapií zlepšila inzulinová senzitivita i HOMA, poklesla plazmatická hodnota FFA, CRP a interleukinu-6. Poklesl objem tukové tkáně. Hlavním přínosem této studie je jistě fakt, že i ve věkové skupině nad 65 let lze pomocí změny životního stylu dosáhnout významného vylepšení metabolického profilu a snížit tak kardiovaskulární riziko. Navíc je tohoto výsledku dosaženo i při relativně nízkém váhovém úbytku, a snížení CRP a interleukinu-6 ukazuje na zlepšení zánětlivého stavu. Snižují se tak další rizika spojená se stavem chronického zánětu. Studie měla dobrou compliance, ve skupině s terapií nedokončili pouze 2 účastníci ze 17, což je v rozporu s tvrzeními, že je obtížné dosáhnout úbytku hmotnosti režimovými opatřeními u starších osob, především kvůli jejich dlouhodobým návykům. Nicméně studie trvala 6 měsíců a bylo by jistě vhodné posoudit dlouhodobý efekt navozených změn.

4. Měření inzulínové rezistence – indexy

Používají se hlavně jako prediktory rozvoje diabetu II. typu u ne-diabetické populace. Jejich použití je omezené hlavně díky nedostatečně velkým souborům referenčních hodnot normální populace a populace s porušenou inzulínovou senzitivitou. Jejich korelace s metodou hyperinzulinemického clampu bude uvedena u jednotlivých indexů. [22]

Glukózová tolerance vyjadřuje snahu homeostatických mechanismů lidského organismu o návrat glykémie k normální hodnotě poté, co došlo k jejímu porušení. Klinicky je nejjednodušší orální podání glukózy, které simuluje fyziologický příjem potravy. Odpovědí organismu je zvýšené vyplavení inzulínu a snížení glykémie. Tedy, pokud změříme koncentrace inzulínu, budeme schopni hodnotit inzulínovou senzitivitu. V minulosti se objevilo velké množství modelů založených na tomto principu. Jejich hlavním nedostatkem je fakt, že po orálním podání (jídlo nebo glukóza) nezávisí zvýšení hladiny inzulínu jen na množství přijaté glukózy, ale také na dalších faktorech, jako jsou hormony trávicího traktu, podněty z CNS. Navíc hladina plazmatické glukózy je kromě inzulínu závislá i na rychlosti vyprazdňování žaludku a rychlosti vstřebání. Pro další vývoj bylo tedy nutné hledat takové modely, které by vztah glukóza-inzulín hodnotily co možná nejvíc nezávisle na jiných faktorech.

Ve vývoji měření inzulínové senzitivity se objevily dva různé přístupy. Jedním je měření pomocí dynamické intervence (glukóza, inzulín a injekce nebo infuze tolbutamidu), druhým je hodnocení tzv. rovnovážného stavu (steady-state), většinou vytvořeného lačněním. Z vývojového hlediska je rovnovážný stav tou nejvyšší hodnotou, znamená totiž návrat systému glukóza-inzulín k výchozí hodnotě, po jejím porušení. Nicméně oba přístupy jsou provázané.

Do první kategorie zahrnujeme hyperinzulinemický-euglykemický clamp (HEC), intravenózní glukózový toleranční test (IVGTT), inzulínový toleranční test a inzulínový supresní test. Do druhé kategorie patří model s kontinuální infuzí glukózy, dále HOMA (homeostasis model assessment) a QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index). Protože všechny

systemy vycházejí ze stejného popisu vztahu glukóza-inzulin, je jejich korelace většinou docela vysoká. [22]

Hyperinzulinemický euglykemický clamp (HEC)

Dnes je tato metoda zlatým standardem pro měření inzulínové rezistence. Provádí se kontinuální infuzí inzulínu ve snaze navodit stabilní hodnotu (obvykle 50-500 U/ml), vyšší než je fyziologická bazální. Přitom měříme glykémii a podáváme infuzi glukózy tak, abychom dosáhli téměř konstantní glykémii, která by měla odpovídat normální hladině lačné glukózy (4,8-5,2 mmol/l). Množství podávané glukózy se ustálí asi po 2-3 hodinách. Čím nižší je potřeba exogenní glukózy, tím vyšší je inzulínová rezistence.

Během clampu je inzulín podáván v konstantní infuzi a tedy neodráží variabilitu fyziologické endogenní sekrece. Navíc je podáván do periferie, což také neodpovídá normálnímu gradientu mezi portálním a periferním inzulínem. Clamp tedy vyjadřuje zejména celkovou inzulínovou senzitivitu tkání, vyjádřenou ve formě metabolického odbytu glukózy (glucose metabolic rate = mg/kg.min⁻¹).

Technika minimálního modelu

Využívá dynamický systém, navozený technikou intravenózního glukózového tolerančního testu. Glukóza se aplikuje jako bolus (většinou 0,33 g/kg během jedné minuty), vzorky odebíráme v krátkých intervalech. Ve všech vzorcích se stanovuje glykémie a inzulínémie, popř. C-peptid.

IR_{HOMA}

Vychází z hodnot lačné glukózy a inzulínémie, stanovuje tedy zejména jaterní inzulínovou senzitivitu a bazální jaterní produkci glukózy. Vychází z počítačového modelu HOMA (homeostasis model assessment). Tento model předpokládá, že normálně vážící zdravý člověk mladší 35 let má 100% B buněk funkčních a inzulínovou rezistenci rovnu 1. IR_{HOMA} vznikl jako matematický ekvivalent modelu HOMA a jeho odhadovaná

korelace s HEC se udává v současnosti 0,59 $p < 0,0005$. Hodnota inzulinové rezistence se stanovuje z hodnot lačného inzulinu (mIU/l) a glukózy (mmol/l). Index je vhodný pro praktické užití při velkých studiích, kde jsou k dispozici pouze tyto dvě hodnoty.

Vzorec pro výpočet je tento:

$$R_{\text{HOMA}} = g \cdot i / 22,5$$

QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index)

Stanovuje se z plazmatické koncentrace glukózy (mg/dl) a inzulinu ($\mu\text{UI/ml}$) po jednoročním lačnění.

$$\text{QUICKI} = 1 / (\log I_0 + \log G_0)$$

Hodnoty QUICKI udávané pro neobézni jsou $0,382 \pm 0,007$, pro obézni $0,331 \pm 0,010$ a $0,304 \pm 0,007$ pro diabetiky. Hodnota koeficientu korelace s HEC je 0,78. [22,23]

McAuley index

McAuleyho index byl vytvořen jako nástroj pro predikci rozvoje inzulinové rezistence u normoglykemických pacientů. Pro odhad cut-off hodnot a významu proměnných (plazm. koncentrace lačného inzulinu, triglyceridů, AST, BMI, obvod pasu) byla použita regresní analýza. Pro nalezení indexu, který by nejvíce koreloval s indexem inzulinové senzitivity (získaným metodou hyperinzulinemického clampu a korigovaný o netukovou tkáň) byla použita metoda bootstrap. Hodnota inzulinové senzitivity získané pomocí $\text{HEC} \leq 6,3$ byla stanovena jako cut-off pro pacienty s inzulinovou rezistencí. V výsledku nejlepší předpovědní hodnotu inzulinové rezistence měla kombinace lačného inzulinu (mIU/l) a triglyceridů (mmol/l). Výpočet vypadá takto:

$$\text{Mffm/l} = e^{(2,63 - 0,28 \ln(I_0) - 0,31 \ln(\text{TAG}_0))}$$

5. Praktická část

Cílem studie bylo zhodnotit vliv redukce hmotnosti navozené dietní intervencí na změnu inzulinové rezistence a vztah plazmatických hladin adipocytokinů k této změně.

Metodika studie

Studie se zúčastnilo 43 obézních žen (hmotnost $96,2 \pm 13,6$; BMI $35,1 \pm 4,5$). Jednalo se o premenopauzální (věk 20-55 let, prům. věk souboru 40,3 let) ženy, bez závažných komplikujících chorob, bez medikace. Subjekty s morbidní obezitou a diabetem II. typu byly vyřazeny. Všechny subjekty byly seznámeny s protokolem studie a podepsaly informovaný souhlas. Studie byla provedena v souladu s Helsinským protokolem.

Všechny subjekty byly vyšetřeny na počátku a na konci 6-měsíční studie, vždy v 8:00 ráno nalačno.

Dietní intervence byla navržena tak, že první 1 měsíc dostávaly subjekty tekutou dietu typu VLCD (Redita®) o obsahu 800 kcal/den (cca 3200 kJ/den). Následovaly 3 měsíce podávání nízkenergetické diety o energetickém obsahu cca 5 000 – 6 000 kJ/den, složení diety stanovovaly samy subjekty dle doporučení a kalorických tabulek. Zbývající 2 měsíce byla podávána udržovací dieta, energetický obsah byl opět cca 6000 kJ/den. Subjekty docházely na pravidelné skupinové konzultace, první 4 měsíce 1x týdně, později 1x za 3 týdny. Byly poučeny, aby dodržovaly svoji obvyklou fyzickou aktivitu.

Analytické metody

Všechny sledované biochemické veličiny byly měřeny komerčními kity, hladiny cytokinů komerčními kity ELISA ve specializované laboratoři. Index HOMA byl vypočítán pomocí následující rovnice: $[(\text{glukóza nalačno} - \text{mmol/l}) \times (\text{inzulín nalačno} - \text{mIU/ml})] / 22,5$. Statistická analýza byla provedena programem Statistica – Trial Version (StatSoft ČR).

Protože u většiny hodnot je očekáván pokles, zvolila jsem vzorec pro rozdíl v procentech $(x_{\text{před}} - x_{\text{po}}) / x_{\text{před}} * 100$, tedy kladné znaménko u rozdílu znamená pokles, záporné vzestup. Není-li uvedeno jinak, jsou hodnoty zapsány jako průměr \pm směrodatná odchylka. Pro hodnocení efektu intervence jsem u všech proměnných použila Wilcoxonův test (Wilcoxon Match Paired test), pro hodnocení korelací jednotlivých proměnných Pearsonův korelační koeficient.

Výsledky

Antropometrické charakteristiky souboru před a po dietní intervenci shrnuje Tabulka 1. Po 6 měsících diety došlo k poklesu hmotnosti a BMI, shodně v průměru o 11 %. Významně, o 23 %, se snížil objem tukové tkáně, zatímco objem beztukové poklesl pouze o 4 %. Tím také poklesl poměr tuková-beztuková tkáň. Obvod pasu i obvod hýždí se snížil o 8, resp. 6 %, poměr pas-boky poklesl o 2 %. Všechny zjištěné změny byly statisticky významné.

Tabulka 1. Antropometrické charakteristiky souboru před a po intervenci

	Před		rozdíl v %
	intervencí	Po intervenci	
Hmotnost (kg)	96,2 \pm 13,6	85,3 \pm 13,3	11 \pm 5*
BMI (kg/m ²)	35,1 \pm 4,5	31,3 \pm 4,5	11 \pm 5*
Objem tukové tkáně (kg)	40,3 \pm 10	31,3 \pm 9,5	23 \pm 11*
Objem tukové tkáně (%)	41 \pm 6	36 \pm 7	13 \pm 8*
Objem beztukové tkáně (kg)	56,2 \pm 5,8	53,8 \pm 6	4 \pm 4*
Objem beztukové tkáně (%)	59 \pm 6	64 \pm 7	-9 \pm 6*
Obvod pasu (cm)	103,5 \pm 10,4	94,8 \pm 10,9	8 \pm 5*
Obvod hýždí (cm)	121 \pm 9,2	113,1 \pm 8,6	6 \pm 4*
Poměr pas-boky	0,86 \pm 0,07	0,84 \pm 0,08	2 \pm 4*

* Změna je statisticky významná při $p < 0,05$

Plazmatická hladina lačné glukózy poklesla během studie o 4 %, hladina inzulínu nalačno o 33 %, což se odráží v poklesu indexu HOMA o 36 %. Co se týče lipidů, poklesla hladina triacylglycerolů (12 %), volných mastných kyselin (9 %) i celkového cholesterolu (4 %), naopak hodnoty

HDL cholesterolu se zvýšily o 9 %. Všechny změny byly statisticky významné, jejich souhrn je v Tabulce 2.

Tabulka 2. Biochemické a metabolické charakteristiky souboru před a po intervenci

	Před intervencí	Po intervenci	rozdíl v %
Glukóza (mmol/l)	5,3 ± 0,5	5 ± 0,7	4 ± 11*
Inzulín (mIU/l)	12,7 ± 7,3	7,4 ± 4	33 ± 29*
NEFA / FFA	724,8 ± 216,7	613,7 ± 202,3	9 ± 38*
Glycerol (mmol/l)	182,6 ± 82,5	136,3 ± 64,3	9 ± 70*
HDL (mmol/l)	1,29 ± 0,36	1,38 ± 0,3	-9 ± 14*
Celkový cholesterol (mmol/l)	5 ± 0,83	4,83 ± 0,85	4 ± 10*
TAG (mmol/l)	1,45 ± 0,66	1,18 ± 0,45	12 ± 29*
HOMA	3 ± 1,8	1,67 ± 0,95	36 ± 30*

* Změna je statisticky významná při $p < 0,05$

Dietní intervence způsobila změny v plazmatických hladinách cytokinů. Nejvýrazněji, o 40%, poklesla hladina leptinu, a významně (32 %) klesl také CRP. Z dalších změn bylo statisticky významné snížení MCP-1 a PAI-1, shodně o 11 %. IL-6 poklesl o 10 %, statistická významnost se lišila podle použitého testu. Změny ostatních cytokinů (pokles TNF- α , vzestup IL-8, IL-10 a adiponektinu) nedosáhly statistické významnosti. Souhrn podává Tabulka 3.

Tabulka 3. Plazmatické hladiny adipocytokinů před a po intervenci

	Před intervencí	Po intervenci	rozdíl v %
IL-6 (pg/ml)	2,7 ± 1,77	2,43 ± 2,16	10 ± 38 ^a
IL-8 (pg/ml)	2,72 ± 1,25	2,6 ± 0,9	-4 ± 36
IL-10 (pg/ml)	3,2 ± 3,2	3,06 ± 2,88	-16 ± 100
TNF- α (pg/ml)	2,52 ± 1,12	2,31 ± 0,9	5 ± 20
MCP-1 (pg/ml)	192,2 ± 115,3	168 ± 103,4	11 ± 25*
PAI-1 (ng/ml)	13,07 ± 11	10,22 ± 7,2	11 ± 36*
CRP (μ g/ml)	5,94 ± 6,44	3,08 ± 3,17	32 ± 59*
Leptin (ng/ml)	41,1 ± 14	25,8 ± 15,6	39 ± 29*
Adiponektin (μ g/ml)	13,6 ± 8,1	14,6 ± 8,7	-11 ± 27

^a Wilcoxonův test při $p < 0,05$ signifikantní, t-test nesignifikantní

* Změna je statisticky významná při $p < 0,05$

Pokles hladiny inzulínu nalačno a indexu HOMA koreloval signifikantně s poklesem hmotnosti, BMI a objemu tukové tkáně. Stejně tak pokles hladiny celkového cholesterolu koreloval s těmito veličinami a také s obvodem pasu a boků. Byla prokázána pozitivní korelace mezi hladinou glukózy a HDL, negativní mezi glukózou a volnými mastnými kyselinami.

Snížení hladiny leptinu mělo signifikantní korelaci se snížením BMI, objemu tukové tkáně a obvodu pasu, dále s poklesem PAI-1 a CRP. S redukcí tukové tkáně a obvodu pasu koreloval také pokles CRP. PAI-1 koreloval kromě leptinu se snížením hmotnosti, BMI, objemu tukové tkáně a hladinou TNF- α . Negativní korelace byla nalezena mezi CRP a IL-8. Nebyla nalezena žádná signifikantní korelace mezi poklesem hmotnosti a BMI a hladinou adiponektinu. Pro korelační tabulky viz Přílohu.

Diskuse

Cílem studie bylo zhodnotit změny inzulínové rezistence po dietní intervenci a vztah plazmatických hladin adipocytokinů k této změně.

Dietní intervence vedla ke snížení váhy v průměru o 11 %, tedy dosažený úbytek je dostatečný ke snížení kardiovaskulárních rizik. Plazmatická hladina glukózy nalačno klesla o 4%, razantně však poklesla hladina inzulínu nalačno – o 33 %, což v úhrnu vede ke snížení indexu HOMA o 36%. Inzulínová rezistence tedy významně poklesla, jak dokazuje i pokles indexu HOMA z 3 na 1,67 (zdravý člověk s plně funkčními β -buňkami má hodnotu 1). Došlo k vylepšení lipidového profilu – poklesl celkový cholesterol, TAG, VMK, naopak stoupla hladina HDL a zlepšil se poměr HDL/TC.

Pokud chápeme obezitu jako zánětlivý stav, pak v našem souboru došlo k jeho zlepšení. Signifikantně poklesla hladina CRP, IL-6, MCP-1 a PAI-1, navíc naznačené (i když statisticky neprůkazné) bylo i zvýšení protizánětlivých cytokinů adiponektinu a IL-10. Korelace poklesu CRP a PAI-1 s poklesem objemu tukové tkáně a obvodem pasu navíc naznačuje, že za zlepšením zánětlivého stavu subjektů může stát snížení objemu

viscerální tukové tkáně.

Co se týká ukazatelů inzulínové rezistence (glukóza, inzulín, HOMA), nebyla nalezena signifikantní korelace mezi nimi a změnou hladiny cytokinů, pouze naznačená je korelace u leptinu. Chybí také jejich korelace se zánětlivými parametry jako je např. CRP nebo IL-6. Nelze tedy jejich snížením vysvětlit zlepšení inzulínové rezistence.

Samotný leptin prokázal očekávané změny – hladina poklesla a tento pokles koreloval se změnou hmotnosti, BMI, objemu tukové tkáně, obvodu pasu, CRP a PAI-1. To je ve shodě s dosud publikovanými studiemi o leptinu.

Hladina TNF- α se v průběhu studie nezměnila, naše studie se tak přidává na stranu těch, které neprokazují jeho systémové účinky

Negativní korelaci mají změny hladin CRP a IL-8. Tomu odpovídá i naznačený (ačkoli nesignifikantní) vzestup hladiny IL-8 při poklesu CRP. Zvýšení IL-8 při váhové redukci pozorovali již Bruun et al. [18] a mechanismus nebyl přesně objasněn.

Změna v hladině adiponektinu nebyla statisticky významná a nekorelovala ani se změnami antropometrických parametrů, ani s ukazateli inzulínové rezistence a dalšími cytokiny. Nicméně na počátku studie adiponektin negativně koreloval s řadou ukazatelů – s obvodem pasu, WHR, s hladinou glukózy, inzulínu, s HOMA, s dalšími cytokiny (IL-8, IL-10, TNF- α , MCP-1) a pozitivně s HDL. Všechny tyto korelace v průběhu studie vymizely, zůstala jen asociace s glukózou, IL-8, IL-10, MCP-1 a HDL. Vymizení všech korelací i při dostatečném váhovém úbytku a délce trvání studie naznačuje, že adiponektin není zodpovědný za změny inzulínové rezistence.

I přes dostatečný váhový úbytek, velikost souboru a délku studie nebyl nalezen žádný signifikantní vztah, který by ozřejmil změnu inzulínové rezistence při váhovém úbytku navozeném dietní intervencí. Studie prokázala očekávané snížení váhy, zlepšení inzulínové rezistence, také zmírnění zánětlivého stavu (a jeho vazbu ke změně objemu viscerální tukové tkáně), což jsou jistě pro pacienty benefity, komplexnost vztahů

jednotlivých adipocytokinů a nerovnoměrný vliv na systémové hladiny látek s mnohonásobně vyšší koncentrací (glukóza, inzulin) však vylučuje jednoduché vysvětlení.

Souhrn

Ve své práci jsem si dala za cíl zhodnotit vztah plazmatických cytokinů a inzulínové rezistence během váhové redukce navozené dietní intervencí. Adipocytokiny jsou dnes zkoumány především jako spojující článek mezi obezitou a diabetem, v budoucnu by se jejich terapeutickým ovlivněním mohlo významně přispět k prevenci diabetu II. typu. Analýza dosavadních studií potvrzuje roli adipocytokinů při snižování inzulínové rezistence v průběhu redukce váhy. V jejich prospěch hovoří zejména pokles plazmatických hladin po redukci váhy, korelace s indexy inzulínové rezistence, metaanalýzy potvrzující vliv na kardiovaskulární riziko u obézních pacientů; v neprospěch pak celkově nízké plazmatické hladiny, nízké hodnoty, kterými se na jejich plazmatické hladině podílí tuková tkáň a také ovlivnění jejich produkce jinými buněčnými typy než jsou adipocyty, dále pak rozpornost některých výsledků a vzájemná neporovnatelnost studií. Navíc zatím neexistují dostatečné soubory hodnot normální populace. Také vztah zánětlivých parametrů a obezity není ještě zcela konkrétně objasněn. Tyto skutečnosti potvrzuje i analýza studie v praktické části diplomové práce. Po dietní intervenci došlo v celém souboru k poklesu hmotnosti, BMI, poklesly hladiny zánětlivých parametrů (CRP, IL-6) a došlo ke snížení inzulínové rezistence. Nebyla však nalezena jednoznačná korelace s žádným z adipocytokinů, která by toto snížení objasňovala, navíc nebyly zaznamenány některé změny (např. u adiponektinu), které by na základě dosavadních studií byly očekávané. Každopádně samotná dieta přispěla výrazně k poklesu váhy, snížení metabolických a kardiovaskulárních rizik a snížení zánětu, což je pro pacientky z hlediska dlouhodobé prognózy a prevence diabetu přínosem.

Seznam použité literatury

- [1] IANUCCI, C.V., et al. Metabolic syndrome and adipose tissue: New clinical aspects and therapeutic targets. *Current Pharmaceutical Design* [online]. 2007, vol. 13, no. 21 [cit. 2009-06-08]. ISSN 1381-6128.
- [2] RONTI, Tiziana, LUPATTELLI, Graziana, MANNARINO, Elmo. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clinical Endocrinology* [online]. 2006, vol. 64, no. 4 [cit. 2009-06-08]. ISSN 0300-0664.
- [3] AHIMA, Rexford S. Revisiting leptin's role in obesity and weight loss. *The Journal of Clinical Investigation* [online]. 2008, vol. 118, no. 7 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2430504>>. ISSN 1558-8238.
- [4] MORTON, Gregory J. Hypothalamic leptin regulation of energy homeostasis and glucose metabolism. *The Journal of Physiology* [online]. 2007, no. 583(Pt2) [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2277030>>. ISSN 1469-7793.
- [5] FAROOQI, Sadaf, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *The Journal of Clinical Investigation* [online]. 2002, vol. 110, no. 8 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=150795>>. ISSN 1558-8238.
- [6] VETTOR, R., et al. Review article: adipocytokines and insulin resistance. *Alimentary pharmacology & therapeutics* [online]. 2005, vol. 22, Suppl 2 [cit. 2009-05-08]. ISSN 0269-2813
- [7] BASTARD, Jean-Philippe, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *European cytokine network* [online]. 2006, vol. 17, no. 1 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <http://www.john-libbey-eurotext.fr/en/revues/bio_rech/ecn/e-docs/00/04/18/09/resume.phtml>. ISSN 1148-5493.
- [8] BASTARD, Jean-Philippe, et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* [online]. 2000, vol. 85, no. 9 [cit. 2009-05-26]. Dostupný z WWW: <<http://jcem.endojournals.org>>. ISSN 1945-7197.
- [9] OH, Deborah K., CIARALDI, Theodore, HENRY, Robert R. Adiponectin in health and disease. *Diabetes, obesity and metabolism* [online]. 2007,

vol. 9, no. 3 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW:
<<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118491396/abstract>>.
ISSN 1463-1326.

[10] RABE, Katja, et al. Adipokines and insulin resistance. *Molecular medicine* [online]. 2008, vol. 14, no. 11-12 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW:
<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2582855>>.
ISSN 1528-3658.

[11] BELTOWSKI, Jerzy. Apelin and visfatin: Unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity?. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* [online]. 2006, vol. 12, no. 6 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW:
<<http://www.medscimonit.com/fulltxt.php?ICID=451282>>. ISSN 1643-3750.

[12] INADERA, Hidekuni. The usefulness of circulating adipokine levels for the assessment of obesity-related health problems. *International Journal of Medical Sciences* [online]. 2008, vol. 5, no. 5 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW:
<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2528071>>.
ISSN 1449-1907.

[13] ANTUNA-PUENTE, B., et al. Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes & metabolism* [online]. 2008, vol. 34, no. 1 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://www.em-consulte.com/article/162407>>. ISSN 1262-3636.

[14] GARAULET, Marta, et al. Adiponectin gene expression and plasma values in obese women during very-low-calorie diet. Relationship with cardiovascular risk factors and insulin resistance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* [online]. 2004, vol. 89, no. 2 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW:
<<http://jcem.endojournals.org/cgi/content/full/89/2/756>>. ISSN 1945-7197.

[15] POLÁK, Jan, et al. An increase in plasma adiponectin multimeric complexes follows hypocaloric diet-induced weight loss in obese and overweight pre-menopausal women. *Clinical Science* [online]. 2007, vol. 112, no. 11 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW:
<<http://www.clinsci.org/cs/112/0557/cs1120557.htm>>. ISSN 0009-9287.

[16] BOBBERT, Thomas, et al. Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction. *Diabetes* [online]. 2005, vol. 54, no. 9 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW:
<<http://diabetes.diabetesjournals.org/content/54/9/2712.long>>. ISSN 1939-327X.

[17] ABBASI, Fahim, et al. Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes. *American journal of physiology. : Regulatory, integrative and comparative physiology* [online]. 2006, vol. 290, no. 1 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://ajpregu.physiology.org/cgi/content/full/290/1/R139>>. ISSN 1522-1490.

[18] BRUUN, Jens M, et al. Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α . Effect of weight loss in obese men. *European Journal of Endocrinology* [online]. 2003, vol. 148, no. 5 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://eje-online.org/cgi/reprint/148/5/535>>. ISSN 0804-4643.

[19] RYAN, Alice S., NICKLAS, Barbara J. Reductions in plasma cytokine levels with weight loss improve insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. *Diabetes Care* [online]. 2004, vol. 27, no. 7 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://care.diabetesjournals.org/content/27/7/1699.long>>. ISSN 1935-5548.

[20] TILG, Herbert, MOSCHEN, Alexander R. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Molecular Medicine* [online]. 2008, vol. 14, no. 3-4 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2215762>>. ISSN 1528-3658.

[21] VILLAREAL, Dennis T, et al. Effect of lifestyle intervention on metabolic coronary heart disease risk factors in obese older adults. *The American journal of clinical nutrition* [online]. 2006, vol. 84, no. 6 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://www.ajcn.org/cgi/content/full/84/6/1317>>. ISSN 1938-3207.

[22] RÁDIKOVA, Žofia. Assessment of insulin sensitivity/resistance in epidemiological studies. *Endocrine regulations* [online]. 2003, vol. 37, no. 3 [cit. 2009-06-08], s. 189-94. ISSN 1210-0668.

[23] RADZIUK, Jerry. Insulin sensitivity and its measurement: Structural commonalities among the methods. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* [online]. 2000, vol. 85, no. 12 [cit. 2009-06-08]. Dostupný z WWW: <<http://jcem.endojournals.org/cgi/content/full/85/12/4426>>. ISSN 1945-7197.

[24] HAINER, Vojtěch, et al. *Základy klinické obezitologie*. 1. vyd. Praha : Grada, 2004. 356 s. ISBN 80-247-0233-9.

[25] SVAČINA, Štěpán, OWEN, Klára. *Syndrom inzulínové rezistence*. 1. vyd. Praha : Triton, 2003. 182 s. ISBN 80-7254-353-9.

[26] SVAČINA, Štěpán. *Prevence diabetu a jeho komplikací*. 1. vyd. Praha : Triton, 2008. 150 s. ISBN 978-80-7387-178-9.

[27] PELIKÁNOVÁ, Terezie, pořadatelka. *Trendy soudobé diabetologie, svazek jedenáctý*. 1. vyd. Praha : Galén, 2007. 279 s. ISBN 978-80-7262-467-6.

Příloha 1: Korelace mezi jednotlivými veličinami před dietní intervencí

	w	BMI	FM kg	FM%	FFM kg	FFM %	Waist	Hip	WHR	Glu	Ins	NEFA	Gly	HDL	Tchol	Tg	HOM A	IL6	IL8	IL10	TNFa	MCP 1	PAI1	CRP	leptin	adipo
w	1,00																									
BMI	0,90	1,00																								
FM kg	0,93	0,91	1,00																							
FM %	0,69	0,77	0,90	1,00																						
FFM kg	0,73	0,50	0,47	0,12	1,00																					
FFM %	-0,68	-0,77	-0,85	-0,90	-0,01	1,00																				
Waist	0,86	0,91	0,86	0,71	0,50	-0,72	1,00																			
Hip	0,82	0,81	0,86	0,75	0,42	-0,73	0,71	1,00																		
WHR	0,32	0,39	0,27	0,18	0,24	-0,22	0,63	-0,10	1,00																	
Glu	0,39	0,37	0,30	0,15	0,40	-0,12	0,33	0,26	0,18	1,00																
Ins	0,37	0,29	0,28	0,07	0,38	-0,06	0,43	0,23	0,37	0,21	1,00															
NEFA	0,06	0,05	0,06	0,05	0,02	-0,08	0,04	-0,07	0,16	-0,10	0,32	1,00														
Gly	0,31	0,34	0,22	0,05	0,33	-0,06	0,32	0,13	0,32	0,59	0,45	0,29	1,00													
HDL	-0,42	-0,37	-0,31	-0,11	-0,49	0,06	-0,39	-0,21	-0,32	-0,45	-0,46	0,07	-0,50	1,00												
Tchol	-0,37	-0,30	-0,19	0,09	-0,46	0,00	-0,30	-0,19	-0,21	-0,28	-0,52	-0,02	-0,31	0,43	1,00											
Tg	0,14	0,16	0,06	-0,03	0,22	0,01	0,23	-0,10	0,45	0,00	0,34	0,07	0,42	-0,47	-0,05	1,00										
HOMA	0,42	0,36	0,34	0,12	0,42	-0,10	0,48	0,28	0,38	0,37	0,98	0,28	0,52	-0,49	-0,51	0,30	1,00									
IL6	0,20	0,21	0,24	0,19	0,07	-0,17	0,24	0,42	-0,14	0,26	0,21	-0,04	-0,02	0,10	0,03	-0,30	0,28	1,00								
IL8	0,08	0,18	0,12	0,16	0,15	0,04	0,21	0,15	0,10	0,15	0,22	-0,18	0,04	-0,16	0,05	0,07	0,24	0,14	1,00							
IL10	0,08	0,21	0,04	-0,01	0,15	0,05	0,25	0,01	0,33	0,54	0,23	-0,20	0,19	-0,19	-0,25	-0,10	0,31	0,39	0,25	1,00						
TNFa	0,04	0,18	0,04	0,06	0,08	0,02	0,20	-0,01	0,30	0,50	-0,03	-0,25	0,43	-0,09	0,04	0,02	0,08	0,14	0,33	0,53	1,00					
MCP1	0,01	0,05	-0,02	-0,06	0,22	0,24	0,08	-0,10	0,22	0,60	-0,06	-0,22	0,45	-0,28	0,05	0,05	0,03	0,17	0,34	0,55	0,61	1,00				
PAI1	0,09	0,00	0,07	0,09	0,08	-0,10	0,05	-0,07	0,15	-0,38	0,18	0,29	-0,13	-0,08	0,02	0,46	0,09	-0,15	0,02	-0,22	-0,34	-0,33	1,00			
CRP	0,27	0,30	0,40	0,42	-0,07	-0,43	0,39	0,47	0,06	0,10	0,42	-0,01	0,19	0,10	-0,06	0,03	0,45	0,40	0,03	0,03	0,21	-0,20	-0,11	1,00		
leptin	0,30	0,38	0,48	0,60	-0,10	-0,55	0,30	0,53	-0,16	0,03	0,03	-0,01	0,12	0,01	-0,06	-0,15	0,04	0,13	0,11	-0,03	0,17	-0,04	-0,08	0,46	1,00	
adipo	-0,23	-0,20	-0,13	0,05	-0,37	-0,11	-0,35	-0,11	-0,37	-0,54	-0,43	0,30	-0,34	0,43	0,42	-0,05	-0,48	-0,21	-0,40	-0,56	-0,37	-0,56	0,27	-0,10	0,11	1,00

Vysvětlivky: w – hmotnost; BMI – body mass index; FM kg – objem tukové tkáně v kg; FM % - podíl tukové tkáně v %; FFM kg – objem beztukové tkáně v kg; FFM % - podíl beztukové tkáně v %; waist – obvod pasu; hip – obvod boků; WHR – poměr pas-boky; Glu – glukóza; Ins – inzulin; NEFA – volné mastné kyseliny; Gly – glycerol; HDL – HDL cholesterol; Tchol – celkový cholesterol; Tg – triacylglyceroly; HOMA- index HOMA; IL6 – interleukin-6; IL-8 – interleukin-8, IL-10 – interleukin-10, TNFa – tumor necrosis factor α; MCP1 – monocyte chemoattractant protein 1; PAI1 – inhibitor tkáňového aktivátoru plazminogenu 1; CRP – C reaktivní protein; leptin – leptin; adipo – adiponektin. **Statisticky významné korelace označeny červeně.**

Příloha 2: Korelace mezi jednotlivými veličinami po dietní intervenci

	w	BMI	FM kg	FM %	FFM kg	FFM %	Waist	Hip	WHR	Glu	Ins	NEFA	Gly	HDL	Tchol	Tg	HOMA	IL6	IL8	IL10	TNFa	MCP1	PAI1	CRP	leptin	adipo
w	1,00																									
BMI	0,92	1,00																								
FMkg	0,92	0,91	1,00																							
FM%	0,71	0,77	0,92	1,00																						
FFMkg	0,82	0,68	0,54	0,22	1,00																					
FFM%	-0,71	-0,77	-0,92	-1,00	-0,22	1,00																				
Waist	0,85	0,89	0,85	0,72	0,62	-0,72	1,00																			
Hip	0,80	0,84	0,86	0,81	0,47	-0,81	0,64	1,00																		
WHR	0,41	0,43	0,34	0,22	0,40	-0,22	0,74	-0,04	1,00																	
Glu	0,49	0,36	0,29	0,05	0,64	-0,05	0,35	0,18	0,30	1,00																
Ins	0,36	0,36	0,35	0,26	0,29	-0,27	0,36	0,12	0,37	0,11	1,00															
NEFA	-0,01	0,06	0,08	0,15	-0,16	-0,15	0,08	0,04	0,05	-0,34	0,08	1,00														
Gly	0,21	0,32	0,25	0,28	0,11	-0,28	0,27	0,18	0,20	0,11	-0,03	0,11	1,00													
HDL	-0,40	-0,36	-0,28	-0,11	-0,44	0,11	-0,42	-0,25	-0,34	-0,42	-0,21	0,31	0,18	1,00												
Tchol	-0,03	0,03	0,14	0,30	-0,23	-0,31	0,03	0,01	0,03	-0,01	0,04	0,01	0,17	0,43	1,00											
Tg	0,09	0,14	0,18	0,29	-0,05	-0,29	0,17	0,03	0,23	-0,08	0,52	-0,07	0,20	0,02	0,43	1,00										
HOMA	0,40	0,38	0,35	0,22	0,40	-0,22	0,39	0,10	0,43	0,30	0,98	-0,01	-0,02	-0,29	0,02	0,46	1,00									
IL6	0,06	0,08	0,08	0,08	0,02	-0,08	0,10	0,14	0,00	-0,09	-0,17	0,32	0,22	0,08	-0,04	-0,20	-0,19	1,00								
IL8	0,12	0,15	0,13	0,11	0,11	-0,12	0,21	0,08	0,18	0,23	-0,12	-0,26	0,05	-0,07	0,33	-0,10	-0,07	0,09	1,00							
IL10	0,19	0,25	0,19	0,14	0,15	-0,14	0,28	0,17	0,20	0,12	-0,06	-0,07	0,11	-0,08	0,02	-0,23	-0,04	0,56	0,28	1,00						
TNFa	0,12	0,19	0,23	0,32	-0,03	-0,33	0,25	0,24	0,11	0,00	-0,22	-0,06	0,37	0,06	0,33	0,19	-0,22	0,14	0,28	0,32	1,00					
MCP1	0,10	0,13	0,01	-0,08	0,25	0,07	0,02	0,05	-0,02	0,24	-0,23	-0,30	0,22	-0,19	-0,01	-0,22	-0,16	0,22	0,52	0,28	0,39	1,00				
PAI1	0,27	0,18	0,30	0,30	0,13	-0,30	0,17	0,12	0,12	-0,01	0,66	0,17	-0,23	-0,07	0,08	0,28	0,63	-0,31	-0,26	-0,31	-0,35	-0,49	1,00			
CRP	0,35	0,50	0,52	0,60	0,00	-0,60	0,50	0,46	0,26	-0,08	0,28	0,18	0,47	0,03	0,17	0,41	0,23	0,16	-0,12	0,15	0,29	-0,29	0,13	1,00		
leptin	0,47	0,56	0,64	0,67	0,12	-0,67	0,45	0,52	0,13	0,02	0,35	0,10	0,45	0,01	0,21	0,29	0,31	-0,06	0,01	0,02	0,32	0,12	0,25	0,52	1,00	
adipo	-0,18	-0,11	-0,04	0,13	-0,37	-0,13	-0,20	-0,01	-0,24	-0,37	-0,09	0,34	0,05	0,53	0,34	0,13	-0,17	-0,16	-0,39	-0,39	-0,34	-0,55	0,23	0,16	0,12	1,00

Vysvětlivky: w – hmotnost; BMI – body mass index; FM kg – objem tukové tkáně v kg; FM % - podíl tukové tkáně v %; FFM kg – objem beztukové tkáně v kg; FFM % - podíl beztukové tkáně v %; waist – obvod pasu; hip – obvod boků; WHR – poměr pas-boky; Glu – glukóza; Ins – inzulín; NEFA – volné mastné kyseliny; Gly – glycerol; HDL – HDL cholesterol; Tchol – celkový cholesterol; Tg – triacylglyceroly; HOMA- index HOMA; IL6 – interleukin-6; IL-8 – interleukin-8, IL-10 – interleukin-10, TNFa – tumor necrosis factor α ; MCP1 – monocyte chemoattractant protein 1; PAI1 – inhibitor tkáňového aktivátoru plazminogenu 1; CRP – C reaktivní protein; leptin – leptin; adipo – adiponektin. **Statisticky významné korelace označeny červeně.**

Příloha 3: Korelace mezi změnami jednotlivých veličin v průběhu intervence

Antropometrické vs biochemické parametry

	w	BMI	FM kg	FFM kg	waist	hip	WHR	Glu	Ins	NEFA	HDL	Tchol	Tg	HOMA
w	1,00													
BMI	1,00	1,00												
FM kg	0,88	0,88	1,00											
FFM kg	0,33	0,33	0,25	1,00										
waist	0,76	0,75	0,74	0,35	1,00									
hip	0,82	0,82	0,76	0,18	0,61	1,00								
WHR	0,05	0,05	0,10	0,24	0,57	-0,30	1,00							
Glu	0,03	0,04	-0,08	0,08	-0,17	-0,15	-0,06	1,00						
Ins	0,40	0,39	0,33	0,27	0,25	0,49	-0,20	0,01	1,00					
NEFA	0,07	0,07	0,08	0,17	0,06	0,11	-0,04	-0,34	0,07	1,00				
HDL	0,19	0,18	0,06	0,04	0,14	0,15	0,01	0,35	-0,07	-0,48	1,00			
Tchol	0,47	0,44	0,46	0,13	0,32	0,40	-0,03	0,05	0,15	0,02	0,44	1,00		
Tg	0,03	0,03	0,14	-0,11	0,00	0,10	-0,12	-0,28	0,17	0,28	-0,33	0,26	1,00	
HOMA	0,40	0,39	0,31	0,27	0,22	0,44	-0,20	0,20	0,98	0,02	0,00	0,17	0,11	1,00

Vysvětlivky: w – hmotnost; BMI – body mass index; FM kg – objem tukové tkáně v kg; FFM kg – objem beztukové tkáně v kg; waist – obvod pasu; hip – obvod boků; WHR – poměr pas-boky; Glu – glukóza; Ins – inzulín; NEFA – volné mastné kyseliny; HDL – HDL cholesterol; Tchol – celkový cholesterol; Tg – triacylglyceroly; HOMA- index HOMA.
Statisticky významné korelace označeny červeně.

Příloha 4: Korelace mezi změnami jednotlivých veličin v průběhu intervence

Antropometrické parametry vs cytokiny

	w	BMI	FM kg	FFM kg	waist	hip	WHR	IL6	IL8	IL10	TNFa	MCP1	PAI1	CRP	leptin	adipo
w	1,00															
BMI	1,00	1,00														
FM kg	0,88	0,88	1,00													
FFM kg	0,25	0,25	0,23	1,00												
waist	0,73	0,72	0,72	0,30	1,00											
hip	0,81	0,80	0,73	0,09	0,58	1,00										
WHR	0,00	-0,01	0,07	0,25	0,54	-0,36	1,00									
IL6	0,26	0,27	0,21	0,16	0,10	0,14	-0,03	1,00								
IL8	0,04	0,04	-0,03	0,10	-0,09	0,00	-0,10	0,11	1,00							
IL10	0,06	0,07	0,08	0,14	-0,04	-0,05	0,02	0,19	0,25	1,00						
TNFa	-0,04	-0,05	0,05	0,21	-0,04	0,11	-0,14	-0,05	0,16	-0,19	1,00					
MCP1	0,22	0,21	0,10	0,35	0,11	0,11	0,02	0,03	0,11	0,12	-0,24	1,00				
PAI1	0,47	0,46	0,49	0,30	0,31	0,54	-0,17	0,10	0,28	-0,07	0,34	0,18	1,00			
CRP	0,28	0,28	0,39	0,04	0,37	0,20	0,20	0,16	-0,43	-0,21	-0,15	-0,16	-0,03	1,00		
leptin	0,75	0,72	0,75	0,23	0,72	0,59	0,22	0,12	-0,08	-0,04	-0,04	0,10	0,45	0,38	1,00	
adipo	-0,23	-0,20	-0,17	0,13	-0,20	-0,08	-0,15	0,00	0,15	0,20	0,14	-0,20	0,09	-0,14	-0,15	1,00

Vysvětlivky: w – hmotnost; BMI – body mass index; FM kg – objem tukové tkáně v kg; FFM kg – objem beztukové tkáně v kg; waist – obvod pasu; hip – obvod boků; WHR – poměr pas-boky; IL6 – interleukin-6; IL-8 – interleukin-8, IL-10 – interleukin-10, TNFa – tumor necrosis factor α ; MCP1 – monocyte chemoattractant protein 1; PAI1 – inhibitor tkáňového aktivátoru plazminogenu 1; CRP – C reaktivní protein; leptin – leptin; adipo – adiponektin. **Statisticky významné korelace označeny červeně.**

Příloha 5: Korelace mezi změnami jednotlivých veličin v průběhu intervence

Biochemické parametry vs cytokiny

	Glu	Ins	NEFA	HDL	Tchol	Tg	HOMA	IL6	IL8	IL10	TNFa	MCP1	PAI1	CRP	leptin	adipo
Glu	1,00															
Ins	-0,06	1,00														
NEFA	-0,40	0,20	1,00													
HDL	0,46	-0,19	-0,45	1,00												
Tchol	0,14	0,13	-0,08	0,49	1,00											
Tg	-0,27	0,32	0,21	-0,33	0,19	1,00										
HOMA	0,16	0,97	0,11	-0,09	0,18	0,25	1,00									
IL6	-0,32	0,26	0,40	-0,37	-0,13	0,33	0,18	1,00								
IL8	0,01	-0,09	-0,01	0,00	-0,09	-0,02	-0,11	0,10	1,00							
IL10	0,27	-0,02	0,06	-0,08	0,06	0,04	0,05	0,17	0,25	1,00						
TNFa	-0,17	0,00	0,16	-0,25	-0,05	0,09	-0,06	-0,09	0,15	-0,22	1,00					
MCP1	0,02	0,15	0,16	-0,17	-0,06	-0,02	0,14	0,01	0,10	0,11	-0,28	1,00				
PAI1	-0,20	0,16	0,09	0,03	0,10	-0,13	0,07	0,07	0,28	-0,09	0,31	0,15	1,00			
CRP	-0,19	0,20	-0,09	-0,07	0,12	0,16	0,19	0,16	-0,43	-0,21	-0,16	-0,16	-0,03	1,00		
leptin	-0,07	0,31	-0,05	0,25	0,69	0,20	0,29	0,08	-0,09	-0,06	-0,08	0,08	0,42	0,38	1,00	
adipo	-0,05	-0,16	-0,05	0,18	0,00	0,05	-0,19	0,00	0,15	0,20	0,14	-0,20	0,09	-0,14	-0,15	1,00

Vysvětlivky: Glu – glukóza; Ins – inzulin; NEFA – volné mastné kyseliny; HDL – HDL cholesterol; Tchol – celkový cholesterol; Tg – triacylglyceroly; HOMA- index HOMA; IL6 – interleukin-6; IL-8 – interleukin-8, IL-10 – interleukin-10, TNFa – tumor necrosis factor α ; MCP1 – monocyte chemoattractant protein 1; PAI1 – inhibitor tkáňového aktivátoru plazminogenu 1; CRP – C reaktivní protein; leptin – leptin; adipo – adiponektin . **Statisticky významné korelace označeny červeně.**