

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: Doktorské studijní programy v biomedicině
Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Simona Kratochvílová

Použití magnetické rezonance spektroskopie při studiu glukózového metabolismu

The use of magnetic resonance spectroscopy for studying glucose metabolism

Dizertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Terezie Pelikánová, DrSc.
Centrum diabetologie IKEM, Vídeňská 1958, Praha 4

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze,

MUDr. Simona Kratochvílová

Podpis:

Identifikační záznam:

KRATOCHVÍLOVÁ, Simona. *Použití magnetické rezonance spektroskopie při studiu glukózového metabolismu. [The use of magnetic resonance spectroscopy for studying glucose metabolism]*. Praha 2017. Počet stran: 112, počet příloh: 7.

Dizertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta

Školitel: prof. MUDr. Terezie Pelikánová, Dr.Sc., Centrum diabetologie IKEM.

Poděkování

Ráda bych vyjádřila poděkování všem svým spolupracovníkům při realizaci uvedených studií a to MUDr. Evě Švehlíkové PhD, MUDr. Petrovi Wohlovi PhD, MUDr. Zuzaně Vlasákové CSc. a MUDr. Janě Brunové CSc.

Velké poděkování patří celému týmu Oddělení magnetické rezonance spektroskopie IKEM (ing. Milan Hájek DrSc., MUDr. Antonín Škoch PhD, Mgr. Monika Dezortová PhD, MUDr. Pavlína Vyhnánovská PhD) bez jejichž práce a cenných připomínek by žádná ze studií nemohla být provedena.

Poděkování za pomoc se statistickým zpracováním studií patří ing. Martinu Hillovi DrSc. a Mgr. Jeleně Skibové.

Děkuji i sestřám z naší Laboratoře klinické patofyziologie paní Daně Lapešové, Dagmar Šišákové, Daně Kobrové, Šárce Eisenreichové a Jarmile Saudkové za pomoc při provedení všech studií.

Zvláštní poděkování patří mé školitelce profesorce MUDr. Terezii Pelikánové DrSc. za umožnění doktorandského studia a zajištění výborných podmínek pro vědeckou práci, za velkou podporu při realizaci uvedených studií a při publikaci všech prezentovaných prací.

Velké poděkování patří i mým rodičům za jejich celoživotní podporu v mém studiu i další práci.

Studie byly podporovány následujícími granty: NR 7880-3 IGA, NT 14250-3 a MZO 00023001.

Abstrakt

Magnetická rezonance spektroskopie (MRS) představuje neinvazivní metodu, která umožňuje in vivo sledovat metabolické pochody ve vybraných tkáních. Její aplikace v diabetologii představuje možnost mapovat metabolismus v cílových orgánech působení inzulínu a přispět tak k objasnění patofyziologie vzniku inzulínové rezistence.

Dizertační práce je zaměřena na praktickou aplikaci fosforové (^{31}P) a vodíkové (^1H) spektroskopie při vyšetření metabolismu kosterního svalu u osob s inzulínovou rezistencí nebo poruchou lačné glykémie a dále na vyšetření mozkové tkáně s pomocí ^1H MRS po navození hyperinzulinémie u diabetiků 1. typu a zdravých kontrol. Vyšetření byla provedena přístrojem Siemens Vision 1,5T; k hodnocení glukózového metabolismu a inzulínové senzitivity byla provedena vyšetření orálním glukózovým tolerančním testem a hyperinzulinovým euglykemickým clampem.

Studie 1 byla zaměřena na hodnocení energetického metabolismu kosterního svalu (m. soleus) u potomků hypertoniků, u kterých byl v porovnání se zdravými kontrolami prokázán určitý stupeň inzulínové rezistence. Fosforová spektroskopie zde umožnila hodnotit koncentrace vybraných makroergních fosfátů (fosfokreatin, anorganický fosfát, adenosintrifosfát, fosfomonoestery a fosfodiester). Koncentrace těchto látek v kosterním svalu byly u potomků hypertoniků srovnatelné se zdravými kontrolami, ale hraničně vyšší poměr anorganický fosfát/ATP v této skupině ukázal na alteraci energetického metabolismu s konzumpcí ATP. Korelace mezi koncentracemi svalových makroergních fosfátů s ukazateli inzulínové rezistence a výší krevního tlaku tuto alteraci u potomků hypertoniků potvrdila.

Studie 2 zkoumala charakteristiku kompartmentu intramyocelulárních lipidů (IMCL) v m. tibialis anterior u osob s poruchou lačné glykémie se sedavým způsobem života a jeho následné ovlivnění léčbou telmisartanem v dávce 160mg/den po dobu tří týdnů. S pomocí vodíkové spektroskopie byl hodnocen obsah IMCL ve formě $-\text{CH}_2-$ a $-\text{CH}_3$ skupin. Prokázali jsme negativní korelaci mezi obsahem IMCL a sérovým cholesterolem, inzulínovou senzitivitou a plazmatickým adiponektinem. Podávání telmisartanu nevedlo ke zlepšení inzulínové senzitivity, ale snížilo lačnou glykémii. Telmisartan neovlivnil obsah IMCL v kosterním svalu. Po léčbě telmisartanem ale vymizela původní vazba IMCL na některé parametry inzulínové senzitivity a podávání telmisartanu zřejmě ovlivnilo metabolické charakteristiky tohoto kompartmentu.

Studie 3 byla zaměřena na hodnocení vlivu akutně navozené suprafyziologické hyperinzulinémie na mozkový metabolismus u pacientů s diabetem 1. typu a u zdravých kontrol. Při provedení vodíkové spektroskopie oblasti parietální bílé hmoty jsme potvrdili rozdíl v bazálních koncentracích vybraných metabolitů (N-acetylaspartát, cholin, inositol a kreatin) mezi diabetiky 1. typu a kontrolami, což potvrzuje negativní ovlivnění mozkového metabolismu přítomností diabetu. Po navození hyperinzulinémie jsme zjistili změnu mozkové koncentrace glukózy a neurotransmiteru glutaminu. Suprafyziologická hyperinzulinémie pravděpodobně ovlivňuje mozkový metabolismus.

Dizertační práce přispěla k objasnění vybraných mechanismů inzulínové rezistence v kosterním svalu a mozku a ukázala možnosti využití MRS v této problematice.

Klíčová slova: magnetická rezonance spektroskopie, inzulínová rezistence, diabetes mellitus, hypertenze, kosterní sval, mozek

Abstract

Magnetic resonance spectroscopy (MRS) is a noninvasive technique that enables to follow metabolic processes in selected tissues in vivo. Recently the attention has been focused on metabolic mapping in target organs of insulin action to describe the pathophysiology of insulin resistance.

The aim of our study was to present the practical application of ^{31}P (phosphorus) MRS and ^1H (proton) MRS in metabolic studies of skeletal muscle in insulin resistant subjects and in subjects with impaired fasting glucose. The third study was aimed to evaluate the brain metabolism with ^1H MRS in healthy controls and subjects with type 1 diabetes during hyperinsulinemia. ^1H and ^{31}P MRS were performed using a MR Scanner Siemens Vision operating at 1,5 Tesla. To assess the parameters of glucose metabolism and insulin action oral glucose tolerance test and hyperinsulinemic euglycemic clamp were performed.

The study 1 was aimed to evaluate the skeletal muscle (m. soleus) energetic metabolism in the offspring of hypertensive parents (OH) with a higher level of insulin resistance. The concentrations of selected high energy phosphates (phosphocreatine, inorganic phosphate, adenosintriphosphate, phosphomonoesters, phosphodiester) were evaluated with ^{31}P MRS. Their amount in OH was comparable to healthy controls. However we found marginally higher ratio of inorganic phosphate/ATP in OH and several correlations among phosphate metabolites and parameters of insulin resistance or blood pressure, which points at the higher activation of the energy metabolism in OH.

The second study examined the metabolic characteristics of intramyocellular lipids (IMCL) in m. tibialis anterior in subjects with impaired fasting glucose with sedentary lifestyle. We used ^1H MRS to evaluate the signal intensities of $-\text{CH}_2-$ and $-\text{CH}_3$ groups of IMCL. We demonstrated the negative correlation between the IMCL content and serum cholesterol, insulin sensitivity and plasmatic adiponectine level. The second goal of the study was to assess the effect of the telmisartan treatment (160mg/day, 3 weeks) on the IMCL content. The telmisartan administration did not improve insulin sensitivity but resulted in the lower fasting glucose. Telmisartan did not affect the IMCL content in skeletal muscle. However the IMCL compartment lost its association with insulin sensitivity parameters after the treatment and telmisartan probably influenced its metabolic behavior.

The final study was designed to evaluate the effect of hyperinsulinemia on brain metabolism in subjects with type 1 diabetes (T1DM) and healthy controls. We performed the ^1H MRS of the parietal white matter and found significant differences in basal concentrations of selected metabolites (N-acetylaspartate, cholin, inositol and creatine) between T1DM and healthy controls, which supports the presumption of negative impact of T1DM on brain metabolism. After the induction of supraphysiological hyperinsulinemia we registered the alteration in glucose concentration and the increase in glutamine concentration in the whole group. Brain metabolism is presumably influenced by supraphysiological hyperinsulinemia.

The dissertation helped to clarify the mechanisms of insulin resistance in skeletal muscle and brain and demonstrated the possibilities of using MRS in this issue.

Key words: magnetic resonance spectroscopy, insulin resistance, diabetes mellitus, hypertension, skeletal muscle, brain

Obsah

1. Úvod do dizertační práce a literární přehled k její problematice	15
1.1. Inzulínová rezistence	15
1.1.1 Inzulínová rezistence v kosterním svalu	17
1.1.2 Inzulínová rezistence v CNS	20
1.2. Magnetická rezonance spektroskopie při výzkumu inzulínové rezistence	24
1.2.1 Kosterní sval	25
1.2.2 Mozková tkáň	33
1.2.3 Další orgány	39
2. Cíle dizertační práce	41
3. Vybrané metodiky jednotlivých studií	43
3.1 Orální glukózový toleranční test	43
3.2 Hyperinzulínový euglykemický clamp	43
3.3 Magnetická rezonance spektroskopie	43
3.4 Nepřímá kalorimetrie	44
3.5 Laboratorní stanovení	45
3.6 Statistická analýza	45
4. Uspořádání studií, přehled výsledků a dílčí diskuse	47
4.1 Studie 1: Metabolické charakteristiky m. soleus ve vztahu k inzulínové senzitivě u potomků hypertoniků	47
4.2 Studie 2: Vliv telmisartanu na obsah intramyocelulárních lipidů u osob s poruchou lačné glykémie	55
4.3 Studie 3: Vliv akutní hyperinzulinémie na mozkový metabolismus	62
5. Souhrnná diskuse	74
6. Závěry dizertační práce	82
7. Souhrn	83
8. Seznam použitých zkratk	86
9. Použitá literatura	88
10. Přehled vlastních publikací	104
11. Seznam příloh dizertační práce	112

1. ÚVOD DO DIZERTAČNÍ PRÁCE A LITERÁRNÍ PŘEHLED K JEJÍ PROBLEMATICE

Inzulinová rezistence (IR) je klíčovou abnormalitou, která je zodpovědná za rozvoj diabetu 2. typu (T2DM) a zvyšuje podstatně riziko rozvoje aterosklerózy a kardiovaskulárních komplikací. Rezistence k účinku inzulínu je provázená hyperinzulinémií, zhoršenou glukózovou tolerancí, dyslipidémií, hypertenzí, centrální obezitou, endoteliální dysfunkcí a dalšími projevy v rámci metabolického syndromu (Reaven G.M., 1997). Inzulinová rezistence rozvoji diabetu předchází o mnoho let. Porozumění mechanismům vzniku, které by umožnilo včasnou a cílenou léčbu, může zásadním způsobem ovlivnit nastupující celosvětovou epidemii tohoto onemocnění.

Ve výzkumu IR se uplatňují hlavně biochemické a molekulárně genetické metody. Velkou perspektivu přináší ale i nové zobrazovací techniky, jako je funkční magnetická rezonance (fMRI), magnetická rezonance spektroskopie (MRS) nebo pozitronová emisní tomografie (PET), které umožňují „metabolické mapování“, tj. neinvazivní a opakované posouzení metabolismu a složení zkoumaných tkání.

Cílem dizertační práce bylo zaměřit se na objasnění patofyziologie IR právě za pomoci relativně nové zobrazovací metody, magnetické rezonance spektroskopie. Výzkum byl zaměřen na kosterní sval, což je orgán tradičně spojovaný s IR, ve kterém jsme zkoumali energetický a lipidový metabolismus ve vazbě na inzulinovou senzitivitu. Poslední studie je zaměřena na zkoumání vlivu hyperinzulinémie na mozkovou tkáň. Mozkový metabolismus byl dlouho považován za orgán na inzulin zcela necitlivý, ale výzkumy z poslední doby ukazují, že i zde se můžeme setkat s projevy IR.

1.1 INZULINOVÁ REZISTENCE

Inzulinová rezistence je definovaná jako stav, kdy normální koncentrace volného plazmatického inzulínu nevyvolává adekvátní odpověď organismu. Porucha účinku inzulínu může vznikat na kterékoliv úrovni inzulínové signalizační kaskády od změny struktury a funkce receptoru až po defekty postreceptorových dějů. V první řadě se týká metabolismu glukózy, ale ovlivňuje negativně i další metabolické dráhy.

Komponenty inzulínové signalizační kaskády jsou přítomny ve všech buňkách lidského těla. Po vazbě inzulínu na receptor následuje kaskáda fosforylačně-defosforylačních reakcí, která

aktivuje řadu intracelulárních proteinů zodpovědných za následnou syntézu a aktivaci enzymů metabolických drah a aktivaci glukózových transportérů. Ovlivněním nukleárních transkripčních faktorů řídí i mitogenní aktivitu buněk a apoptózu. Po navázání inzulínu na receptor dochází k autofosforylaci tyrozinu na beta podjednotce receptoru a signál se dále přenáší dvěmi základními cestami. První vede přes aktivaci fosfatidylinositol 3-kinázy (PI3K) a druhá přes aktivaci Ras komplexu a MAP kinázu. První dráha odpovídá spíše za metabolické účinky inzulínu a MAP kinázová cesta za účinky na buněčný cyklus a proliferaci, obě dráhy se ale ve svém působení prolínají a vzájemně ovlivňují. Aktivace PI3K indukuje fosforylaci proteinkinázy B (PKB/Akt), která dále kontroluje další 3 signalizační dráhy – ovlivněním aktivity glykogensyntházakinázy je řízena tvorba glykogenu, aktivace kinázy mTOR vede k zahájení proteosyntézy a translokaci glukózových transportérů GLUT 4 k membráně buněk se zvyšuje přestup glukózy do buněk. Charakteristickým rysem IR u diabetu 2. typu nebo metabolického syndromu je defektní signalizace v PI3-kinázové větvi inzulínové signalizační kaskády. Účinky závislé na signalizaci vedoucí přes Ras komplex a MAP kinázu postiženy být nemusí a vlivem kompenzatorní hyperinzulinémie mohou být dokonce zvýšeny (Pelikanova T., 2014; Samuel V.T. a Shulman G.I., 2016)

Příčina vzniku IR může být geneticky podmíněná nebo se jedná o poruchu sekundární v důsledku hormonálních (kontraregulační hormony, adipokiny, cytokiny), metabolických (hyperglykémie, zvýšení volných mastných kyselin, poruchy acidobazické rovnováhy) nebo nervových změn (ovlivnění vegetativních nervů). K rozvoji IR mohou také vést protilátky proti inzulínu nebo inzulínovému receptoru. Inzulínová senzitivita se fyziologicky snižuje v pubertě, těhotenství, se stoupajícím věkem, při aktivaci stresové osy a při hladovění a zvyšuje se fyzickým tréninkem. Nadměrný přísun potravy nebo její nevhodné složení, malá fyzická aktivita, protražovaná stresová zátěž nebo kouření mohou indukovat IR u doposud zdravého jedince. Typicky IR provází diabetes mellitus 2. typu, obezitu, metabolický syndrom, esenciální hypertenzi, aterosklerózu, syndrom spánkové apnoe, syndrom polycystických ovarií a další endokrinopatie a určitý stupeň je popisován i u diabetu 1. typu. Další patologické stavy (renální selhání, jaterní cirhóza, infekční onemocnění...) jsou také spojeny s určitým stupněm IR. Těžká forma IR provází vzácné genetické syndromy.

Inzulín kontroluje hladinu glykémie dvěmi základními cestami – je zodpovědný za snížení tvorby glukózy v játrech (blokádá glukoneogeneze a glykogenolýzy) a umožňuje přestup glukózy do všech inzulinsenzitivních buněk v těle. Nedostatečný účinek inzulínu v blokádě jaterní glukoneogeneze je základním projevem jaterní inzulínové rezistence a vede k hyperglykémii nalačno. Na postprandiálním inzulínem stimulovaném odsunu glukózy z

plazmy se z přibližně 80% podílejí kosterní svaly a inzulinová rezistence zde vzniklá zásadním způsobem přispívá k rozvoji hyperglykémie po jídle. Inzulin dále inhibuje lipolýzu v tukové tkáni a snížení koncentrace cirkulujících volných mastných kyselin (FFA) postprandiálně tak umožňuje v organismu preferenční oxidaci glukózy.

1.1.1 INZULINOVÁ REZISTENCE V KOSTERNÍM SVALU

Inzulinová rezistence v kosterním svalu se projevuje sníženým postprandiálním inzulindependentním odsunem glukózy. Klíčovým faktorem, který je spojený s rozvojem IR, je elevace plazmatických koncentrací FFA. K vychytávání nadbytečných FFA z cirkulace slouží v organismu primárně tuková tkáň. V adipocytech jsou mastné kyseliny reesterifikovány a uloženy ve formě triglyceridů (TAG). Překročení skladovací kapacity tukové tkáně nebo její dysfunkce vede k ukládání nadbytečných lipidů v ektopických lokalizacích, což vede k funkčnímu a morfologickému poškození daných tkání (lipotoxicita) (Brons C. a Grunnet L.G., 2017). Kromě zvýšené hladiny volných mastných kyselin se na ektopické akumulaci tuků může podílet alterace transportních systémů, které facilitují vstup mastných kyselin do buněk (Krusinova E. a Pelikanova T., 2008). Ektopické lipidy se typicky ukládají v buňkách kosterního svalu, v kardiomyocytech, hepatocytech a v buňkách Langerhansových ostrůvků. Kumulace intramyocelulárních lipidů (IMCL) v buňkách kosterního svalu hraje zásadní roli v rozvoji svalové inzulinové rezistence.

Za fyziologických podmínek využívá buňka kosterního svalu mastné kyseliny jako energetický substrát během pohybové aktivity a při hladovění. Mastné kyseliny vstupující do buňky kosterního svalu mohou buďto podlehnout β -oxidaci v mitochondriích a být využity k okamžité produkci ATP, být reesterifikovány a ve formě TAG uloženy v tukových kapénkách v cytoplazmě anebo být použity k syntéze fosfolipidů a dalších intermediálních lipidových metabolitů. Při nadbytečném přísunu FFA je překročena oxidativní kapacita svalových mitochondrií i možnosti skladování ve formě TAG a mastné kyseliny začnou vstupovat do patologických metabolických drah vedoucích k tvorbě intermediálních metabolitů jako jsou mastné kyseliny s dlouhým řetězcem navázané na acetyl-koenzym A (LCFA-CoA, long chain fatty acid-coenzyme A), diacylglyceroly (DAG) a ceramidy.

Na zvýšené množství IMCL a negativní korelaci s inzulinovou senzitivitou u diabetiků 2. typu i zdravých osob upozornily nejprve bioptické studie (Falholt K. et al., 1988; Pan D.A. et al., 1997). Později byla vazba potvrzena již za použití MRS i u prvostupňových příbuzných diabetiků (Jacob S. et al., 1999; Perseghin G. et al., 1999) a zdravých osob (Krssak M. et al.,

1999; Virkamaki A. et al., 2001). Negativní vazba mezi IMCL a inzulínovou senzitivitou je popsána i u diabetiků 1. typu (Perseghin G. et al., 2003). Vysoký obsah IMCL byl ovšem oproti všem očekáváním popsán i u trénovaných atletů s vysokou úrovní inzulínové senzitivity (Goodpaster B.H. et al., 2001) a fenomén byl nazván „paradox atletů“. V této skupině osob dokonce vyšší obsah IMCL koreluje pozitivně s inzulínovou senzitivitou a vysoká aerobní kapacita (VO_{2max}) je silným prediktorem obsahu IMCL (Thamer C. et al., 2003). Klíčovou roli zde patrně bude hrát metabolizovatelnost IMCL. Studie provedená na zvířecím modelu potvrzuje uvedenou hypotézu – krysy léčené etoxomirem, inhibitorem karnitin-palmitoyltransferázy, který blokuje vstup mastných kyselin do mitochondrií, vykazovaly vzestup IMCL s paralelním poklesem inzulínové senzitivity (Dobbins R.L. et al., 2001).

Zvýšená nabídka mastných kyselin interferuje s inzulínovou signální kaskádou a může navodit IR řadou mechanismů. Dlouho známá je kompetice energetických substrátů (Randlův cyklus), kdy metabolity vznikající při rozkladu mastných kyselin zpětnovazebně inhibují enzymy glykolýzy a glykogenogeneze včetně hexokinázy, která reguluje vstup glukózy do buněk (Randle P.J., 1998). Důsledkem je poté snížená schopnost kosterního svalu metabolizovat glukózu.

Poměr mezi oxidací a ukládáním lipidů je ovlivňován aktivitou AMP-aktivované protein kinázy (AMPK) a podléhá řadě regulačních vlivů. AMPK je enzym aktivovaný zvýšením poměru AMP/ATP a reaguje na pokles ATP například při fyzické aktivitě nebo hladovění. AMPK při zvýšené potřebě ATP zvyšuje oxidaci lipidů a potlačuje jejich syntézu. Rovnováhu mezi oxidací tuků a lipogenezou dále ovlivňují působky produkované tukovou tkání (adipokiny) nebo imunokompetentními buňkami vcestovalými do zánětlivě změněné tukové tkáně (cytokiny). Některé působky (rezistin, RBP4, $TNF\alpha$) jsou asociované s rozvojem IR a naopak adiponektin, visfatin či leptin jsou spojovány s účinky opačnými. Leptin a adiponektin zvyšují oxidaci mastných kyselin v játrech, svalech a Langerhansových ostrůvcích cestou aktivace AMPK. Deficit leptinu či leptinová rezistence stejně jako deficit adiponektinu tak také vede k ektopickému hromadění tuku ve svalech, játrech, β -buňkách a k rozvoji IR. Dysregulace AMPK může stát v pozadí ektopického hromadění tuku a je považována za důležitý patogenetický faktor při vzniku IR (Ruderman N.B. et al., 2013).

Mitochondriální dysfunkce, která se projeví sníženou kapacitou oxidace mastných kyselin, představuje další možnou příčinu svalové IR (Kelley D.E. et al., 2002; Schrauwen P. et al., 2010). Schopnost mitochondrií efektivně metabolizovat lipidy je dána jejich počtem a enzymovou aktivitou. U diabetiků 2. typu již byla například prokázána nižší aktivita enzymů

zapojených do oxidativní fosforylace (Mootha V.K. et al., 2003; Patti M.E. et al., 2003). Otázkou zůstává, zda se jedná o poruchu primární zodpovědnou za nadměrnou kumulaci IMCL nebo zda je vznik mitochondriální dysfunkce poruchou sekundární, kdy naopak nadměrná kumulace IMCL a jejich toxických metabolitů indukují oxidační stres a poškozují tak mitochondriální funkci. Pohybový trénink vede u obézních osob i u pacientů s diabetem 2. typu ke zvýšení počtu mitochondrií i ke zvýšení aktivity jejich enzymů (Hood D.A. et al., 2011; van Tienen F.H. et al., 2012; Hesselink M.K. et al., 2016). Posouzení mitochondriální kapacity in vivo je možné za pomoci fosforové spektroskopie.

Dalším mechanismem, který se podle experimentálních studií výraznou měrou podílí na vzniku IR, je toxický efekt nahromaděných lipidových metabolitů v cytosolu. Klíčovou roli zřejmě hrají diacylglyceroly (DAG) a ceramidy. DAG fungují intracelulárně jako druhý posel aktivující určité izoformy proteinkinázy C (PKC). Aktivita PKC následně inhibuje funkci PI3K a PKB/Akt, což vede ke snížené translokaci GLUT 4 transportérů k buněčné membráně a k rozvoji IR (Kitessa S.M. a Abeywardena M.Y., 2016). Kumulace DAG byla prokázána u obezity, diabetu 2. typu a tréninkové programy s redukcí hmotnosti vedou k poklesu jejich koncentrace. U trénovaných atletů s celkově vyšším obsahem IMCL byla také zjištěna vyšší koncentrace DAG, ale v porovnání s osobami se sedavým způsobem života u nich byl prokázán nižší stupeň saturace mastných kyselin (Li Y. et al., 2015). Ceramidy inhibují inzulinovou signalizační kaskádu podobným způsobem jako DAG, navíc přispívají k tvorbě kyslíkových radikálů a jsou spojovány i s mitochondriální dysfunkcí. I u ceramidů byla popsána kumulace u obézních osob a negativní korelace s inzulinovou senzitivitou (Larsen P.J. a Tennagels N., 2014).

Produkce reaktivních forem kyslíku a dusíku a indukce oxidačního stresu je jedním z mechanismů toxického působení mastných kyselin (Schrauwen P. et al., 2010), který přímo poškozují DNA, strukturální bílkoviny a lipidy a aktivuje řadu dalších systémů (např. NF- κ B, p38, MAPK) (Evans J.L. et al., 2003). Mastné kyseliny a jejich acyl CoA mohou také přímo měnit genovou expresi stovek genů. Slouží jako specifické ligandy řady nukleárních receptorů a kontrolují expresi mnoha transkripčních faktorů, např. sterol response element-binding proteins (SREBP) nebo peroxisome proliferator-activated receptorů (PPARs) (Masi L.N. et al., 2013). Kromě toho mají funkci strukturálních lipidů, jsou součástí buněčných membrán, ovlivňují jejich fluiditu a funkci receptorů a jsou prekurzorem prostanoidů.

Na vzniku svalové inzulinové rezistence se podílejí i další mechanismy. Důležitou roli hraje také složení svalových vláken, denzita kapilár a krevní průtok v kosterním svalu. Při IR byla potvrzená porucha vasodilatace a endotel může být další strukturou, která odpovídá za

snížený odsun glukózy do svalu. Kosterní sval je producentem stovek myokinů, z nichž některé svými parakrinními a endokrinními účinky ovlivňují citlivost kosterního svalu k účinku inzulínu. Svalový metabolismus může být ovlivňován řadou dalších působků produkovaných nejen adipocyty, jak bylo výše zmíněno, ale i hepatocyty, endotelem, buňkami střevní sliznice, imunokompetentními buňkami nebo CNS.

1.1.2 INZULINOVÁ REZISTENCE V CNS

Dlouho se předpokládalo, že inzulín funguje pouze jako regulátor anabolického metabolismu v periferních tkáních a nemá žádný vliv na mozkový metabolismus. V posledních letech se ale ukazuje, že inzulín funguje jako neuromodulátor, který v mozkové tkáni plní řadu úkolů, z nichž některé jsou zcela odlišné od jeho periferní funkce.

Mozkový inzulín funguje jako neuropeptid s neurotrofním a neuromodulačním působením s pozitivním vlivem na růst, diferenciaci a synaptickou plasticitu neuronů (Stockhorst U. et al., 2004). Mozek hraje klíčovou roli v udržování metabolické homeostázy a inzulín je jedna z mnoha signalizačních molekul, které mozek informují o energetickém stavu organismu. Inzulín se v mozku přímo účastní kontroly energetické bilance, příjmu potravy, tvorby tělesných tukových zásob, metabolismu glukózy v játrech, systémové odpovědi na hypoglykémii, termoregulace a reprodukce (Gerozissis K., 2008; Banks W.A. et al., 2012). Mezi další funkce inzulínu v mozkové tkáni patří ovlivňování emocí a vyšších kognitivních funkcí jako je učení a paměť.

Inzulínové receptory jsou rozmístěny po celém mozku a mozková tkáň exprimuje inzulínovou signalizační kaskádu (Havrankova J. et al., 1978). Nejvyšší výskyt inzulínových receptorů je popisován v čichovém laloku, hypothalamu, hippocampu, mozečku, amygdale a v mozkové kůře. Neurony vykazují vyšší počet inzulínových receptorů než buňky glie a jejich množství klesá s věkem (Frolich L. et al., 1998). Periferní inzulínémie ovlivňuje přes rozsáhlý systém receptorů koncentraci inzulínu v CNS. Inzulín je transportován přes hematoencefalickou bariéru (HEB) saturabilním procesem, váže se na mozkové inzulínové receptory a signál je dále přenášen přes intracelulární signalizační kaskády pomocí drah PI3K/Akt a Ras/MAP podobně jako v periferních tkáních (Banks W.A. et al., 2012). U zvířecích modelů se setkáváme s rozdílným vzorcem transportních mechanismů v závislosti na úrovni inzulínémie. Inhibice transportu byla popsána u obézních inzulínorezistentních Zucker krys (Baskin D.G. et al., 1985), naproti tomu inzulínopenická zvířata s alloxanovým nebo

streptozocinovým diabetem vykazují zvýšení transportu inzulinu přes HEB (Banks W.A. et al., 1997).

Vliv inzulinu na určité hypotalamické neurony přímo ovlivňuje periferní metabolické procesy. Mozkový inzulin snižuje produkci neuropeptidu Y a tím aktivitu celé orexigenní osy a naopak zvyšuje aktivitu anorexigenně působícího proopiomelanokortinu (Kleinriders A. et al., 2014). Centrálně podaný inzulin suprimuje v játrech endogenní produkci glukózy. V kosterním svalu zvyšuje vychytávání glukózy a její ukládání ve formě glykogenu. V tukové tkáni dochází k inaktivaci hormon-senzitivní lipázy, ke zvýšení exprese lipogenních proteinů a k supresi lipolýzy (Roh E. et al., 2016; Kullmann S. et al., 2016; Kleinriders A. et al., 2014). Experimenty s geneticky modifikovanými zvířaty (NIRKO - knock out myši s odstraněným genem pro inzulinový receptor v neuronech) prokázaly, že izolovaný defekt v účinku inzulinu vázaný na CNS vede ke zvýšenému příjmu potravy, rozvoji obezity, lehké inzulinové rezistenci a hypertriglyceridémii (Bruning J.C. et al., 2000). Řada zvířecích i humánních studií potvrzuje po intranasálním nebo intracerebrálním podání inzulinu anorexigenní chování a podporu periferních anabolických procesů (Kullmann S. et al., 2016). Intranasální podávání inzulinu také zvyšuje postprandiální termogenezi a snižuje periferní inzulinémii (Benedict C. et al., 2011).

Zkoumání inzulinové rezistence v mozkovém metabolismu se v posledních letech týkalo hlavně demence Alzheimerovského typu (AD), ale IR se může týkat i řady metabolických funkcí a dokonce i přestupu glukózy přes HEB. S rozvojem AD je spojena periferní hyperinzulinémie se současným deficitem inzulinu v cerebrospinální tekutině. V mozkové tkáni se v nadbytku ukládá amyloid β , který je za normálních okolností štěpený inzulinem. Nedostatečný efekt inzulinu vede dále ke zvýšené fosforylaci tau proteinu, který se ukládá intraneuronálně a tvoří zde neurofibrilární klubka (tangles). Kumulace amyloidu β a degenerovaného tau proteinu vede k poškození neuronů. U AD byla také v některých mozkových oblastech (parietální lalok a hippocampus) popsána hypometabolizace glukózy. Mezi další mechanismy zodpovědné za rozvoj AD patří snížená produkce acetylcholinu, rezistence k IGF-1, oxidační stres, prozánětlivý stav a mitochondriální dysfunkce v CNS (Kullmann S. et al., 2016; de la Monte S.M., 2014). Aplikace inzulinu intranasálně vede u osob s AD ke zlepšení kognitivních funkcí (Craft S. et al., 2012; Reger M.A. et al., 2008).

Mozková inzulinová rezistence byla prokázána i v metabolických efektech. Intranasální podávání zvyšuje celotělovou inzulinovou senzitivitu ověřenou clampem, ale pouze u štíhlých osob (Heni M. et al., 2014). Požití glukózy vede k útlumu aktivity v paraventriculárním a ventromediálním jádru hypotalamu hodnocené fMRI také pouze u štíhlých osob (Matsuda M.

et al., 1999). Obézní osoby vykazují menší katabolickou odpověď na intranasálně podaný inzulin (Hallschmid M. et al., 2008). Při magnetoencefalografii byla spontánní beta a theta kortikální aktivita vyšší při hyperinzulinovém euglykemickém clampu u štíhlých osob v porovnání s osobami obézními (Tschritter O. et al., 2006) a s osobami s vysokou hladinou FFA (Tschritter O. et al., 2009). Po intranasálně podaném inzulinu jsou popsány vyšší evokované potenciály v určitých zrakových areách jen u štíhlých v porovnání s obézními (Guthoff M. et al., 2011). Nepřímé důkazy o určité mozkové inzulinové rezistenci podaly i spektroskopické studie, které budou zmíněny v kapitole 1.2.2 (Karczewska-Kupczewska M. et al., 2013; Emmanuel Y. et al., 2013).

Přestup glukózy přes HEB je obecně hodnocen jako inzulin insenzitivní, ale objevují se práce upozorňující na vyšší akumulaci glukózy v mozku po podání inzulinu (Hertz M.M. et al., 1981; Bingham E.M. et al., 2002; Anthony K. et al., 2006). Velmi zajímavou otázkou je, zda by i v transferu glukózy přes HEB mohl existovat nějaký stupeň inzulinové rezistence. Týkal by se zřejmě jen menší části transferu, který je zprostředkován inzulinsenzitivními GLUT 4 transportéry, které jsou v malé míře v mozku také přítomny (McEwen B.S. a Reagan L.P., 2004). První skupinou, která upozornila na možnost inzulinové rezistence v přestupu glukózy přes HEB, byl kolektiv autorů (Anthony K. et al., 2006), který u skupiny rezistentních osob zjistil při vyšetření PET při inzulinové infuzi (0,3mU/kg/min) menší vzestup mozkového metabolismu glukózy v porovnání s osobami senzitivními. Závěrem jejich práce je konstatování, že 15-20% mozkového klidového glukózového metabolismu je citlivé na inzulin a u osob s inzulinovou rezistencí je signifikantně sníženo. Tento vliv je podle autorů studie nejvíce vyjádřen ve ventrálním striatu a prefrontálním kortexu, což jsou mozkové oblasti zapojené do kontroly chuti a motivace, a zřejmě je nejvíce patrný při nízké periferní inzulinémii. Inzulin samozřejmě nemusí přímo stimulovat přestup glukózy přes HEB, ale může stimulovat metabolismus neuronů a výsledky této studie naznačují, že minimálně v jednom z těchto procesů bude existovat určitý stupeň rezistence.

Další zajímavé výsledky přináší PET studie, ve které vedla clampem navozená hyperinzulinémie (1mU/kg/min) ke zvýšení mozkového metabolismu glukózy o 12% jen u osob s poruchou glukózové tolerance. U zdravých dobrovolníků nebylo popsáno zvýšení mozkového metabolismu a nedošlo u nich ani ke zvýšení průtoku krve mozem. Autoři předkládají hypotézu, že u zdravých osob už bylo maximálního efektu inzulinu dosaženo při hodnotě odpovídající lačné inzulinémii a pouze osoby s určitým stupněm inzulinové rezistence vyžadovaly hyperinzulinémii k dosažení zvýšení mozkového metabolismu glukózy (Hirvonen J. et al., 2011). Nicméně pokud by tato hypotéza měla být platná, měly by osoby s

poruchou glukózové tolerance mít nižší bazální metabolismus glukózy, což studie nepotvrdila. Stejná skupina publikovala další práci, ve které u morbidně obézních osob v porovnání se zdravými kontrolami prokazuje zvýšený mozkový metabolismus glukózy při hyperinzulinovém clampu s normalizací 6 měsíců po bariatrickém zákroku. Bazální mozkový glukózový metabolismus se mezi obézními a kontrolami nelišil (Tuulari J.J. et al., 2013). Výskyt určitého stupně IR v mozkovém metabolismu je dnes již nezpochybnitelný, ale otázkou samozřejmě zatím zůstává, zda se jedná o příčinu nebo důsledek přítomnosti diabetu a obezity.

1.2 MAGNETICKÁ REZONANCE SPEKTROSKOPIE PŘI VÝZKUMU INZULINOVÉ REZISTENCE

Princip nukleární magnetické rezonance byl popsán v roce 1946 fyziky Edwardem Purcelllem a Felixem Blochem, kteří za tento objev obdrželi v roce 1952 Nobelovu cenu. V klinické medicíně je magnetická rezonance využívána od začátku sedmdesátých let. Běžně jsou používány dvě základní techniky - zobrazování – Magnetic resonance imaging (MRI), při kterém získáváme anatomické obrazy orgánů, a spektroskopie – Magnetic resonance Spectroscopy (MRS), kdy dostáváme informaci o zastoupení vybraných metabolitů ve zkoumané tkáni.

Vyšetření magnetickou rezonancí přináší pro vyšetřované subjekty řadu výhod – jedná se o metodu neinvazivní, nebolestivou, s minimální zátěží, bez použití rentgenového záření. Nemohou ho absolvovat pouze pacienti s klaustrofobií nebo s přítomností MR nekompatibilních implantátů v těle. Vyšetření je snadno opakovatelné a tak umožňuje i provádění dynamických a intervenčních studií a magnetická rezonance tak nabízí unikátní možnost hodnotit metabolismus tkání in vivo.

Množství detekovatelných metabolitů je dáno obsahem vybraných izotopů (^1H , ^{31}P , ^{13}C), které jsou zobrazitelné pomocí MRS. Limitující je i koncentrace daných látek – je možné stanovit pouze několik desítek metabolitů s koncentrací vyšší než 1mmol/l. Moderní přístroje s vyšší silou magnetického pole (minimálně 3T) nabízejí vyšší rozlišovací schopnost. Výstupem vyšetření je křivka - spektrum, kde jsou na ose X vyneseny rezonanční frekvence zkoumaných izotopů, a na ose Y odpovídající intenzity signálů. Rezonanční frekvence, pod kterými se dané metabolity ve spektru zobrazují, jsou pro ně specifické a jsou určeny chemickými vlastnostmi těchto látek. Intenzita signálu je přímo úměrná koncentraci látky ve zkoumaném objemu tkáně. Absolutní koncentraci je možné zjistit pouze srovnáním se spektrem standardu o známé koncentraci. Množství daných látek je tedy běžně vyjadřováno ve vzájemných poměrech anebo je vztahováno k látkám, u kterých se předpokládá stálá koncentrace (což je ve svalu například kreatin).

Vyšetřit s pomocí MRS je možné prakticky všechny tkáně v těle, v biomedicínské praxi se nejvíce používá vodíková spektroskopie (^1H MRS), při které zachycujeme rezonanční frekvenci funkčních skupin obsahujících protonové jádro (^1H). Díky tomu, že 70% lidského těla je tvořeno vodou, signály atomů vodíku z molekul vody tvoří hlavní složku spektra a je nutné je softwarově potlačit. ^1H MRS představuje klasickou metodu využívanou v neurologii

a příbuzných oborech k neinvazivnímu hodnocení metabolismu mozkové tkáně. Dalším typickým využitím je kvantifikace obsahu lipidů v kosterním svalu nebo v jaterní tkáni.

Velmi často používanou modalitou je fosforová spektroskopie (^{31}P MRS). Také izotop ^{31}P se v přírodě hojně vyskytuje, takže signál je dobře detekovatelný. Získáváme informace především o obsahu makroergních fosfátů s možností hodnocení energetického metabolismu vybraných tkání. Nejčastěji je tato metoda používána k vyšetřování pacientů s metabolickými onemocněními svalů, ale umožňuje hodnocení energetického metabolismu i v myokardu, játrech nebo CNS.

Uhlíkový izotop ^{13}C , který je dobře detekovatelný za pomoci magnetické rezonance, se ve srovnání s izotopem ^{14}C přirozeně vyskytuje jen v 1%. Nativně je tedy možné sledovat jen metabolismus molekul s vysokým obsahem uhlíku jako je například jaterní glykogen. Podání látek obohacených izotopem ^{13}C a sledování jeho inkorporace do dalších molekul nám ale umožňuje podrobnější mapování řady metabolických drah. Při použití značené glukózy nebo acetátu je možné sledovat metabolické reakce citrátového cyklu a navazujícího glutamát – glutaminového cyklu ve svalu, játrech nebo v mozkové tkáni.

Techniky zaměřené na stanovení sloučenin obsahujících jiná rezonující jádra (^{15}N , ^{19}F , ^{23}Na) jsou klinicky využívány jen výjimečně.

Klinická aplikace MRS v řadě medicínských oborů byla v poslední době přehledně popsána v několika pracích (Befroy D.E. a Shulman G.I., 2011; Hannukainen J.C. et al., 2014; Hwang J.H. a Choi C.S., 2015; Di Gialleonardo V. et al., 2016).

1.2.1 KOSTERNÍ SVÁL

Kosterní sval představuje jeden z cílových orgánů působení inzulinu a zkoumání jeho metabolismu s pomocí MRS nabízí šanci odhalit některé patofyziologické mechanismy zodpovědné za rozvoj svalové inzulinové rezistence. Vodíková spektroskopie umožňuje hodnotit metabolismus svalových lipidů, fosforová spektroskopie energetické procesy ve svalu a uhlíková metabolismus glykogenu.

VODÍKOVÁ SPEKTROSKOPIE: ^1H MRS kosterního svalů se zaměřuje hlavně na oblast vodíkových signálů patřících methylovým ($-\text{CH}_3$) a methylenovým ($-\text{CH}_2-$) skupinám mastných kyselin. Mimo oblast mastných kyselin je ve vodíkovém spektru viditelný i signál kreatinu, jehož koncentrace bývá konstantní a považuje se za interní standard. Intenzita

vodíkových signálů patřících mastným kyselinám bývá proto běžně vyjadřována jako poměr k intenzitě signálu kreatinu. Typické ^1H spektrum kosterního svalu je na Obr. 1.2.1.

V kosterním svalu je možné rozlišit dva kompartmenty lipidů – intramyocelulární lipidy (IMCL), které představují tukové kapénky v cytoplazmě svalových buněk v těsném kontaktu s mitochondriemi, a dále extramyocelulární lipidy (EMCL), které jsou tvořeny tukovými buňkami provazcovitě orientovanými v septech nebo fasciích podél svalových buněk. Oba kompartmenty představují formu ektopické akumulace tukové tkáně. Myocyty přijímají mastné kyseliny z cirkulace, buď je znovu esterifikují a ukládají ve formě IMCL v cytoplazmě nebo je transportují k mitochondriální membráně, kde jsou přeneseny dovnitř a následně oxidovány a využity k produkci ATP. IMCL slouží jako energetický zdroj okamžitě dostupný během pohybové aktivity. Obsah IMCL u osob se sedavým způsobem života koreluje s celkovým obsahem tělesného tuku (Sinha R. et al., 2002).

Základní vyšetřovací metodou ke stanovení obsahu lipidů ve svalech je svalová biopsie, která je ale invazivní a je zatížena řadou rizik. Pokud chceme rozlišit IMCL a EMCL, je při histologickém zpracování nutné použít speciální barvení nebo vyšetření elektronovým mikroskopem. Protože oba kompartmenty mají jiné prostorové geometrické uspořádání a signály se zobrazí v jiné části spektra (Schick F. et al., 1993), představuje magnetická rezonance elegantní neinvazivní metodu k diferenciaci obou kompartmentů. Reproducibilita měření IMCL byla potvrzena již v roce 1997, kdy bylo prokázáno, že kvantifikace je nezávislá na orientaci svalového vlákna a intraindividuální variabilita při opakovaném měření je velmi nízká (Boesch C. et al., 1997). Vyšetření EMCL je bohužel spojeno s větší chybou metody, protože množství zachyceného ektopického tuku je ovlivněné orientací voxelu. ^1H MRS rozliší díky odlišnému frekvenčnímu posunu i vodíkové molekuly patřící skupinám - CH_2 - a - CH_3 . Výsledné spektrum tedy umožňuje podle velikosti peaku kvantifikovat množství - CH_2 - a - CH_3 skupin v extramyocelulárním i intramyocelulárním kompartmentu. Modernější přístroje s vyšší rozlišovací schopností (minimálně 3T) umožňují i rozlišení vodíkových molekul obklopujících dvojně vazby (tj. skupiny $-\text{CH}=\text{}$).

Vzhledem k nutnosti přesného prostorového nastavení vyšetřovaného svalu v magnetickém poli jsou vyšetřovány rutinně jen svaly dolních končetin (m. tibialis anterior, m. soleus a event. i m. vastus lateralis). M. soleus je tvořen převážně svalovými vlákny I. typu, která jsou oxidativní, bohatě prokrvená a obsahují více IMCL. Pomalu se kontrahují a jsou přednostně využívána k vytrvalostní aktivitě. M. tibialis anterior je tvořen spíše vlákny typu II, která jsou glykolytická, rychle se kontrahují a jsou aktivní při rychlé pohybové aktivitě. Odlišné zastoupení jednotlivých typů vláken je třeba brát v úvahu při hodnocení obsahu IMCL v

jednotlivých studií. Vysoká korelace mezi bioptickými vyšetřeními a ¹H MRS byla opakovaně ověřena (Howald H. et al., 2002; Szczepaniak L.S. et al., 1999). Několik spektroskopických studií také potvrdilo negativní korelaci mezi inzulínovou senzitivitou a obsahem IMCL u osob se sedavým způsobem života (Jacob S. et al., 1999; Perseghin G. et al., 1999; Krssak M. et al., 1999; Virkamaki A. et al., 2001).

MRS umožnila provedení řady dynamických studií s cílem popsat metabolismus IMCL. Množství IMCL je závislé na dostupnosti substrátů a je prokázáno, že vysokotuková dieta jejich obsah zvyšuje (Decombaz J. et al., 2000; Larson-Meyer D.E. et al., 2008). Intravenózní podávání lipidů při hyperinzulinovém clampu vedlo u zdravých osob k významnému vzestupu množství IMCL se souběžným poklesem inzulínové senzitivity. Samotná hyperinzulinémie ani hyperlipidémie ovšem obsah IMCL neovlivnila (Brechtel K. et al., 2001a; Bachmann O.P. et al., 2001). V jiné studii (Boden G. et al., 2001) popisují autoři naopak velký vzestup IMCL po samotném intravenózním podávání lipidů a pokles při izolované hyperinzulinémii. Jednodenní hladovění sníží obsah IMCL (Machann J. et al., 2011). Dlouhodobější hladovění vede při lipolýze tukové tkáně k vzestupu volných mastných kyselin a k paralelnímu nárůstu obsahu IMCL (Stannard S.R. et al., 2002; Wietek B.M. et al., 2004).

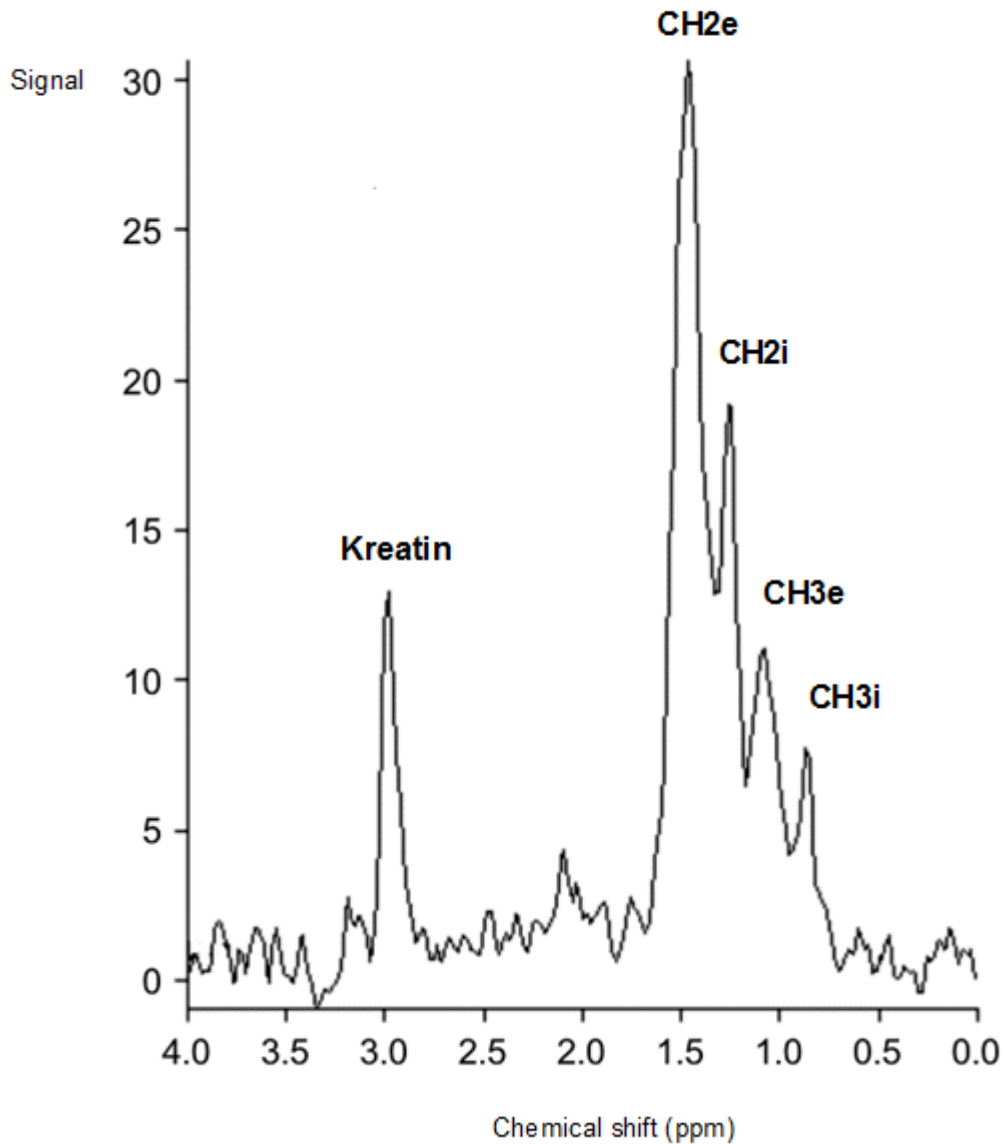
IMCL slouží jako zdroj energie okamžitě dostupný během pohybu a výsledky dynamických studií prováděných za pomoci MRS potvrzují pokles jejich obsahu po krátkodobé fyzické zátěži (Brechtel K. et al., 2001b; Egger A. et al., 2013; Bucher J. et al., 2014). Výsledky dlouhodobějších tréninkových programů nejsou jednotné. Podle některých studií vede trénink k adaptivnímu zvýšení obsahu IMCL spolu s vzestupem inzulínové senzitivity a mitochondriální oxidativní kapacity (Schrauwen-Hinderling V.B. et al., 2003; Dube J.J. et al., 2008; Meex R.C. et al., 2010). Naopak pokles IMCL po dlouhodobém tréninkovém programu udává jiná skupina autorů (Solomon T.P. et al., 2008). Stejně tak efekt dietních redukčních programů na obsah IMCL je nejednoznačný, zdá se ale, že větší váhový pokles je s redukcí obsahu IMCL spojený (Snel M. et al., 2012). Bariatrická chirurgie vede k poklesu obsahu IMCL se souběžným vzestupem inzulínové senzitivity (Adami G.F. et al., 2005).

Možnosti medikamentózního ovlivnění obsahu IMCL byly také zkoumány, ale ne všechny studie s léky s inzulínsenzitizujícím účinkem redukcí IMCL popsaly: první skupina autorů (Teranishi T. et al., 2007) popisuje pokles IMCL po metforminu, ale další autoři (Tamura Y. et al., 2008; Huang Z. et al., 2013) žádnou změnu v obsahu IMCL po léčbě metforminem nepopisují. Při podávání pioglitazonu je u pacientů s diabetem 2. typu opakovaně popisováno zlepšení inzulínové senzitivity se souběžným poklesem IMCL (Teranishi T. et al., 2007;

Ravikumar B. et al., 2008; Bajaj M. et al., 2010), naopak podávání rosiglitazonu ke snížení obsahu IMCL nevede ani přes zlepšení inzulínové senzitivity (Mayerson A.B. et al., 2002; Schrauwen-Hinderling V.B. et al., 2008). Léčba telmisartanem u obézních osob neovlivnila obsah IMCL (Chetty V.T. et al., 2014). Podávání simvastatinu diabetikům 2. typu nevede ke snížení obsahu IMCL (Szendroedi J. et al., 2009a)

Obsah IMCL negativně koreluje s plazmatickou koncentrací adiponektinu, který stimuluje oxidaci lipidů v kosterním svalu (Thamer C. et al., 2002; Perseghin G. et al., 2007; Koska J. et al., 2008). Zajímavé jsou výsledky recentní studie, která prokazuje pozitivní korelaci mezi koncentrací acetylkarnitinu transportujícího mastné kyseliny do mitochondrií a inzulínovou senzitivitou (Lindeboom L. et al., 2014).

Obrázek 1.2.1: Typické ^1H spektrum kosterního svalu (*m. tibialis anterior*)

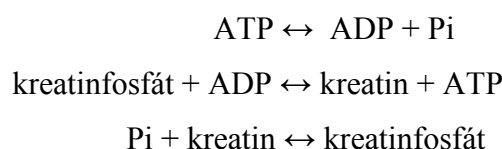


Vysvětlivky: CH_{2e} , signál odpovídající extracelulárním CH_2 skupinám; CH_{2i} , signál odpovídající intracelulárním CH_2 skupinám; CH_{3e} , signál odpovídající extracelulárním CH_3 skupinám; CH_{3i} , signál odpovídající intracelulárním CH_3 skupinám; signál kreatinu je používán jako referenční

FOSFOROVÁ SPEKTROSKOPIE: Fosfor je v kosterním svalu přítomen zejména v makroergních fosfátech a za pomoci ^{31}P MRS můžeme tedy nepřímě hodnotit energetický metabolismus svalů (Kurkova D. et al., 1997). Ve spektru (Obr. 1.2.2) se zobrazuje signál odpovídající fosfomonoesterům (PME), fosfodiesterům (PDE), fosfokreatinu (PCr), anorganickému fosfátu (Pi) a adenosintrifosfátu (ATP). Signál PME odpovídá lipidovým prekurzorům jako je fosfoetanolamin a fosfocholin, které slouží k tvorbě buněčných membrán. Signál PDE představuje sloučeniny typu glycerol-3-fosfocholin a glycerol-3-fosfoetanolamin, které jsou považovány za degradační produkty buněčných membrán. Fosfokreatin (PCr) představuje nejvyšší peak ve fosfátovém spektru a slouží se svou vysokoenergetickou fosfátovou vazbou jako zásobárna energie pro regeneraci ATP. Anorganický fosfát (Pi) vzniká štěpením ATP. Signál ATP je tvořen 3 peaky, které odpovídají jednotlivým atomům fosforu v molekule ATP (α , β , γ ATP). Peak β ATP bývá minimálně kontaminován sousedními signály a nejlépe odráží celkový obsah molekul ATP v tkáni. Mezi dopočítatelné parametry patří koncentrace intracelulárního magnesia (Mg^{2+}) a intracelulární pH.

ATP představuje základní energetický zdroj pro svalovou kontrakci. Za uvolnění energie je štěpeno na ADP a anorganický fosfát (Pi). Díky kreatinfosfátázové reakci se ani během cvičení koncentrace ATP nemění, kreatinfosfát uvolňuje fosfát k okamžité regeneraci ATP z ADP. Během fyzické aktivity tedy stoupá koncentrace anorganického fosfátu a kreatinu, z kterých se po ukončení fyzické aktivity znovu resyntetizuje kreatinfosfát a energetický cyklus ve svalu se tak uzavírá. Při fyzické aktivitě tedy typicky dochází k poklesu koncentrace PCr a ke komplementárnímu vzestupu koncentrace Pi a ADP, po ukončení pohybu se koncentrace vrací k výchozím hodnotám.

Zjednodušené schéma reakcí v kosterním svalu:

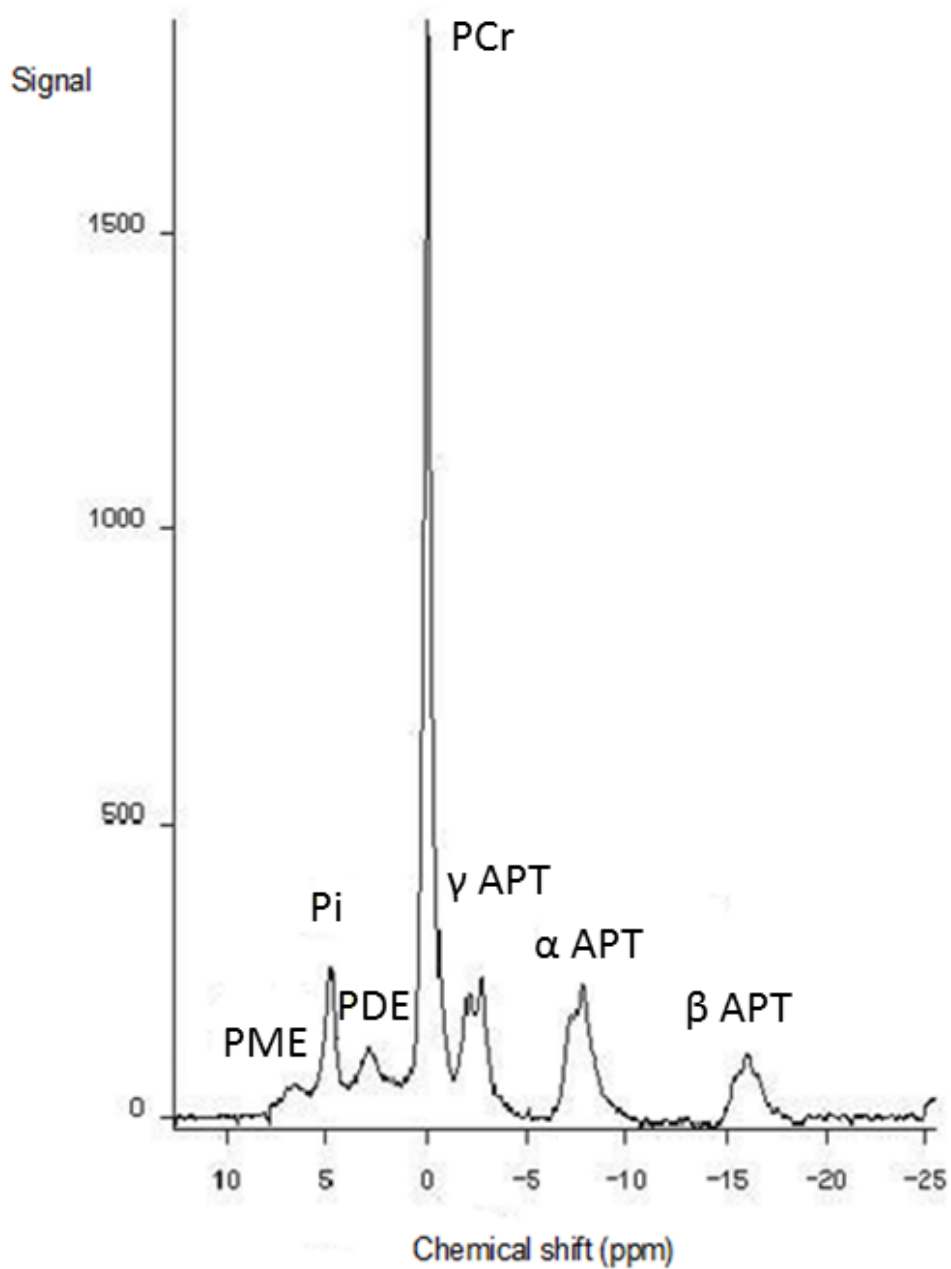


Ze statických fosforových spekter je možné určit poměry mezi určitými singály, zejména se hodnotí poměr PCr/ β ATP a Pi/ β ATP. Již bazálně jsou u diabetiků popisovány nižší koncentrace PCr, Pi a β ATP v porovnání se zdravými kontrolami (Wu F.Y. et al., 2012).

Ze zátěžových spekter při fyzické aktivitě je možné odečítat změny v koncentraci PCr a Pi během pohybu. Po skončení je z rychlosti resyntézy PCr (PCr recovery rate constant), která

probíhá čistě oxidativně, možné nepřímo hodnotit funkční kapacitu svalových mitochondrií. Další možností hodnocení mitochondriální funkce je měření klidové rychlosti syntézy ATP (ATP synthetic flux) za pomoci tzv. saturační transfer metody (saturation transfer method) (Kemp G.J. a Brindle K.M., 2012). Již byla ověřena korelace mezi mitochondriální kapacitou zjištěnou za pomoci ^{31}P MRS a bioptickým hodnocením aktivity vybraných enzymů dýchacího řetězce (Praet S.F. et al., 2006). Podle autorů studie (Larson-Meyer D.E. et al., 2000) korelují spektroskopicky zjištěné parametry svalové mitochondriální funkce s maximální aerobní kapacitou VO_2max . Nižší mitochondriální oxidativní kapacita je na základě vyšetření ^{31}P MRS popisována u diabetiků 2. typu (Szendroedi J. et al., 2007; Schrauwen-Hinderling V.B. et al., 2007; Wu F.Y. et al., 2012) i jejich inzulinrezistentních potomků (Petersen K.F. et al., 2004; Petersen K.F. et al., 2005b). Ne všechny práce ale při vyšetření ^{31}P MRS sníženou svalovou mitochondriální kapacitu u diabetiků 2. typu potvrzují (De Feyter H.M. et al., 2008; Bajpeyi S. et al., 2011).

Obrázek 1.2.2: Typické ^{31}P spektrum kosterního svalu (m. soleus)



Vysvětlivky: PME, signál odpovídající fosfomonoesterům; Pi, anorganický fosfát; PDE, fosfodiester; PCr, fosfokreatin; α , β a γ APT, signály odpovídající jednotlivým fosfátům v molekule ATP

UHLÍKOVÁ SPEKTROSKOPIE: V kosterním svalu je vzhledem k vysokému počtu uhlíkových atomů možné stanovit koncentraci glykogenu i bez použití značené glukózy. Byla již provedena řada studií mapujících kinetiku svalového glykogenu v různých klinických situacích (Roden M., 2001). Snížená syntéza svalového glykogenu může být zodpovědná za rozvoj inzulinové rezistence u diabetiků 2. typu (Shulman G.I. et al., 1990).

Použití značeného acetátu (^{13}C acetát), který vstupuje do citrátového cyklu a následně se mění na glutamát, umožňuje za pomoci ^{13}C MRS sledovat rychlost obohacení glutamátového poolu značenými izotopy uhlíku a tak nepřímo hodnotit rychlost oxidativních pochodů ve svalu. I ^{13}C MRS přináší nepřímé důkazy o snížené mitochondriální oxidativní kapacitě u potomků diabetiků - po infúzi značeného acetátu byla prokázána snížená rychlost inkorporace ^{13}C do glutamátu (Befroy D.E. et al., 2007).

Zajímavé výsledky přináší i kombinované spektroskopické studie – například skupina autorů (van der Graaf M. et al., 2010) prokázala v kosterním svalu za použití $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ MRS negativní korelaci mezi obsahem IMCL a rychlostí syntézy svalového glykogenu.

1.2.2 MOZKOVÁ TKÁŇ

Vyšetřování mozkové tkáně a jejího metabolismu za pomoci MRS se používá velmi často v řadě klinických oborů. Nejčastěji se používá vodíková spektroskopie k hodnocení metabolismu vybraných aminokyselin, podstatně méně často je používána fosforová spektroskopie k hodnocení energetického metabolismu mozku. Uhlíková spektroskopie s využitím značeného izotopu glukózy umožňuje sledovat metabolismus glukózy, glykogenu a dalších látek z glukózy vznikajících. První spektroskopická práce zkoumající mozkový metabolismus u diabetiků byla publikována již před 25 lety (Kreis R. a Ross B.D., 1992).

VODÍKOVÁ SPEKTROSKOPIE: ^1H MRS umožňuje detekovat subklinické metabolické abnormality mozkové tkáně provázející diabetes 1. i 2. typu. Při použití magnetického pole o intenzitě 1,5T je možné dobře zobrazit signály myoinositolu, cholinu, kreatinu, kyseliny gama-aminomáselné (GABA), N-acetylaspartátu (NAA) a s určitými omezeními vzhledem k nízké koncentraci i signál glukózy. Signály glutamátu a glutaminu bývají při použití 1,5T od sebe obtížně odlišitelné a prezentují se jako sumární signál (Glx). Při použití polí s vyšší rozlišovací schopností je rozlišení signálů glutamátu a glutaminu možné a jsou zachytitelné i

signály dalších molekul jako je alanin, glycin, taurin, laktát, glutathion, fosfoetanolamin a askorbát. Typické vodíkové spektrum je na Obrázku 1.2.3.

Myoinositol (převažující stereoizomer inositolu) se nachází téměř výlučně v astrocytech, kde tvoří součást membrán a je považován za marker gliálních buněk (Govindaraju V. et al., 2000). Vzniká přímo z glukózy polyolovou cestou přes glukózu-6-fosfát a inositol-1-fosfát a při hyperglykémii dochází k jeho nadměrné kumulaci. Myoinositol funguje také jako intracelulární druhý posel a osmoregulátor a předpokládá se, že koncentrace myoinositolu může být zvýšená ve spojitosti s poruchami osmolality při hyperglykémii. Doba trvání hyperglykémie by měla pozitivně korelovat s nadbytkem myoinositolu v mozku a většina studií také tento předpoklad potvrzuje. Autoři (Kreis R. a Ross B.D., 1992) popisují elevaci myoinositolu u diabetiků obou typů v bílé i šedé hmotě. Vyšší signál myoinositolu byl popsán v několika studiích u diabetiků 1. typu (Makimattila S. et al., 2004; Heikkila O. et al., 2009; Northam E.A. et al., 2009), 2. typu (Sahin I. et al., 2008) a dokonce i u pacientů s pouhým metabolickým syndromem (Haley A.P. et al., 2010).

N-acetylaspartát (NAA) je volná aminokyselina, která se v mozkové tkáni vyskytuje ve vysoké koncentraci (představuje také nejvyšší signál v ¹H MR spektru mozkové tkáně) a považuje se za neuronální marker. Jeho hodnota odráží neuronální denzitu, viabilitu i funkcionalitu. Dlouhodobá hyperglykémie může vést k poškození neuronů a snížené hodnoty NAA jsou pak odrazem neuronální dysfunkce, ztráty neuronů nebo abnormalit v neuronální struktuře (Govindaraju V. et al., 2000). Většina publikovaných prací popisuje snížení signálu NAA u diabetiků 1. typu (Kreis R. a Ross B.D., 1992; Heikkila O. et al., 2009; Northam E.A. et al., 2009) i 2. typu (Sahin I. et al., 2008). Podle další studie (Makimattila S. et al., 2004) negativně koreluje vypočtená hodnota celoživotní expozice glukóze s hodnotou NAA ve frontální bílé hmotě. Skupina autorů (Wootton-Gorges S.L. et al., 2007) popisuje reverzibilitu snížené koncentrace NAA po úspěšné léčbě diabetické ketoacidózy u dětí.

Cholin je nutný k syntéze neurotransmiteru acetylcholinu zapojeného v kognitivních procesech a dále k syntéze fosfocholinu, který je hlavní součástí buněčných membrán (Govindaraju V. et al., 2000). Předpokládá se, že vyšší koncentrace cholinu může být markerem zvýšeného obratu nebo poškození buněčných membrán. Většina prací popisuje u diabetiků zvýšenou koncentraci cholinu v bílé i šedé hmotě (Kreis R. a Ross B.D., 1992; Geissler A. et al., 2003; Makimattila S. et al., 2004; Northam E.A. et al., 2009), některé studie ale popisují nižší hodnoty (Sarac K. et al., 2005; Sahin I. et al., 2008).

Celkový kreatin je v ¹H MR spektru sumou kreatinu a fosfokreatinu. Obě molekuly jsou zapojené do energetického metabolismu buněk a odráží tak mozkový energetický status.

Fosfokreatin slouží i zde jako zásobárna pro produkci ATP. Zvýšený kreatin je popisován v souvislosti se zvýšeným oxidativním metabolismem a snížené hodnoty jsou pozorovány ve stavech hypometabolismu, u tumorů a mozkových příhod (Govindaraju V. et al., 2000). Skupina autorů (Heikkila O. et al., 2008) zjistila vyšší hladinu kreatinu v thalamu u osob s metabolickým syndromem, což vysvětluje určitým stupněm alterace energetického metabolismu ve spojení s narušeným metabolismem glukózy.

Glutamát je nejvíce zastoupenou aminokyselinou v lidském mozku a funguje zde jako excitační neurotransmitter (Govindaraju V. et al., 2000). Je prekurzorem pro aspartát, další excitační neurotransmitter, a pro inhibiční neurotransmitter GABA. Glutamin je prekurzorem glutamátu a je uskladněn v astrocytech. Velký vzestup glutaminu bývá popisován při alteraci glutamát - glutaminového cyklu při hyperamonémii. Elevace glutaminu v mozku se považuje za dobrý indikátor jaterního onemocnění (Govindaraju V. et al., 2000). Vyšší hladina glutamátu byla změřena v okcipitoparietální šedé hmotě u osob s metabolickým syndromem (Haley A.P. et al., 2010). U diabetiků 1. typu byla zjištěna vyšší hodnota Glx v prefrontální kůře (Lyo I.K. et al., 2009). Naproti tomu u pacientů s diabetem a depresí byly popsány nižší koncentrace Glx v subkortikálních oblastech v porovnání se zdravými kontrolami a s diabetiky bez deprese (Ajilore O. et al., 2007). GABA funguje v mozku jako inhibiční neurotransmitter a změny v její koncentraci jsou zmiňovány jen zřídka. Recentně byla publikována práce o relativně vyšší koncentraci GABA v hypotalamu v porovnání s ostatními regiony a byl zaznamenán trend k poklesu při akutní hypoglykémii (Moheet A. et al., 2014).

Detekce signálu glukózy je vzhledem k její nízké koncentraci v mozkové tkáni (1mmol/l) při nižších intenzitách magnetického pole obtížnější, ale několik studií již popsalo její vyšší koncentraci v mozkové tkáni u diabetiků (Kreis R. a Ross B.D., 1992; Makimattila S. et al., 2004; Heikkila O. et al., 2009). Tento nález je logický, protože hlavní množství glukózy se dostává do mozku přes hematoencefalickou bariéru difuzí podle koncentračního gradientu proporcionálně ke své periferní koncentraci. Skupina autorů (Sequist E.R. et al., 2001) zjistila lineární vztah mezi plazmatickou a cerebrální hladinou glukózy pro rozmezí plazmatické glykémie 5-24 mmol/l. Také molekula laktátu je v mozkové tkáni přítomna v nízké koncentraci a je tudíž velmi obtížně detekovatelná. Signál se objevuje až za patologických okolností například při ischemickém poškození mozkové tkáně (Govindaraju V. et al., 2000).

Podle kolektivu autorů (Raininko R. a Mattsson P., 2010), který zkoumal s pomocí MRS koncentrace mozkových parametrů v závislosti na věku, dochází v průběhu stárnutí k

vzestupu myoinositolu, k poklesu NAA a Glx a zdá se tedy, že změny mozkových struktur zjišťované u diabetiků odpovídají urychleným změnám běžným při stárnutí mozku.

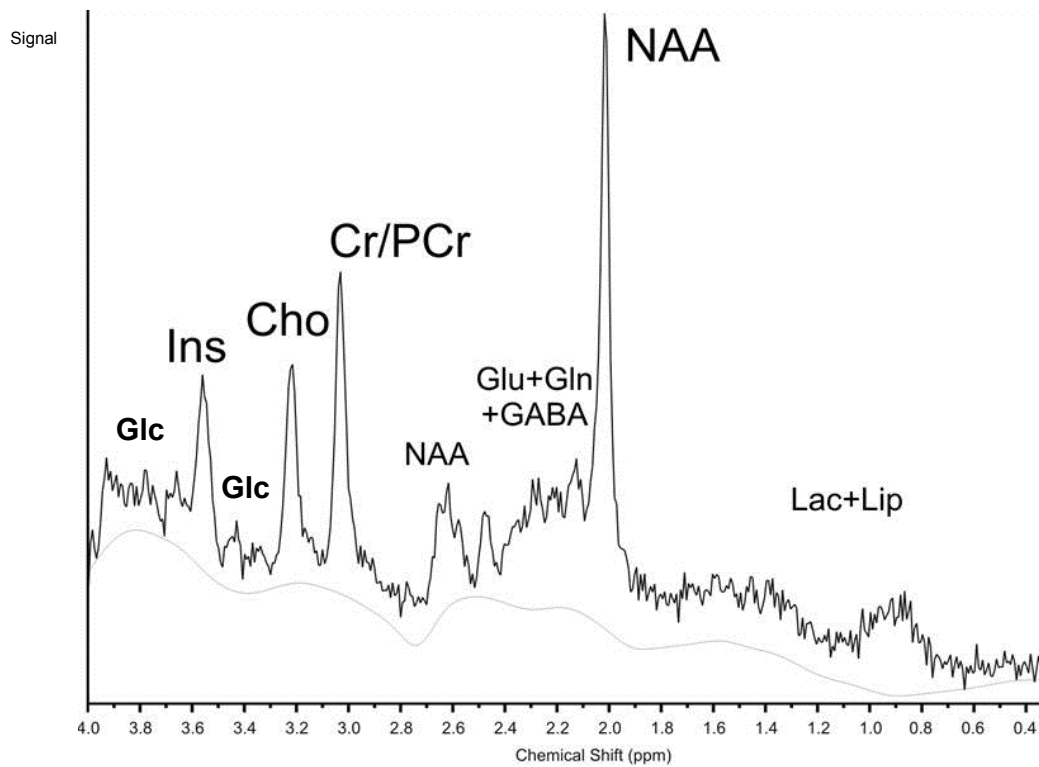
S použitím ^1H MRS je možné provádět i řadu dynamických studií. Velmi zajímavou je otázka vlivu inzulínu na mozkový metabolismus. Studie autorů (Seaquist E.R. et al., 2001) zkoumala, zda inzulín ovlivňuje transport glukózy přes HEB. Porovnávala koncentraci glukózy v mozku při hyperglykémii při podávání inzulínu i bez něj a neprokázala žádný vliv souběžně podávaného inzulínu. Další autoři (Karczewska-Kupczewska M. et al., 2013) hodnotili vliv hyperinzulinémie na koncentrace vybraných metabolitů pomocí MRS. Skupinu zdravých dobrovolníků rozdělili podle inzulínové senzitivity a zjistili, že k určitým změnám při inzulínové infúzi (vzestup NAA a Glx, pokles myoinositolu a cholinu) došlo pouze v inzulínsenzitivní skupině. Inzulínová senzitivita dokonce pozitivně korelovala s hodnotou NAA a Glx a negativně s hodnotou myoinositolu. Studie potvrzuje určitý stupeň inzulínové rezistence v metabolismu mozkové tkáně a vzhledem k faktu, že NAA funguje jako marker neuronální viability a funkcionality, je možné, že inzulínorezistentní osoby vykazují zhoršený neuronální metabolismus.

Hyperglykemický clamp s dosažením glykémie 18mmol/l vedl u diabetiků k menšímu vzestupu glykémie v několika mozkových oblastech vyjma cerebella (Heikkila O. et al., 2010a; Heikkila O. et al., 2010b). Výsledky by mohly svědčit pro protektivní adaptaci HEB na dlouhodobou hyperglykémii u diabetiků 1. typu. Naproti tomu další autoři (Seaquist E.R. et al., 2005) popisují při hyperglykemickém clampu (16mmol/l) pouze nesignifikantní pokles mozkové koncentrace glukózy u špatně kompenzovaných diabetiků 1. typu v porovnání se zdravými kontrolami. Akutní navození hyperglykémie ovlivňuje i koncentraci dalších metabolitů měřitelných pomocí MRS. Studie autorů (Mangia S. et al., 2013) porovnávala koncentrace mozkových metabolitů při hyperglykemickém clampu (16 mmol/l) provedeném při 4T. Popisují 6% snížení koncentrace NAA a glutamátu ve skupině diabetiků 1. typu v porovnání se zdravými kontrolami, což interpretují jako ztrátu nebo spíše dysfunkci neuronů při hyperglykémii.

Akutně navozená hypoglykémie u zdravých dobrovolníků nevede při následném hyperglykemickém clampu ke zvýšení koncentrace glukózy v mozku hodnocené MRS (Criego A.B. et al., 2005a). Naproti tomu u diabetiků 1. typu s poruchou rozeznávání glykémie popisují autoři (Criego A.B. et al., 2005b) v mozku vyšší hladinu glukózy během následujícího hyperglykemického clampu (16mmol/l) v porovnání se zdravými dospělými. Toto pozorování připisují aktivaci protektivních mechanismů spuštěných opakovanými hypoglykémiami. Adaptace pacientů s T1DM na opakované hypoglykémie byla prokázána i

ve studiích hodnotících koncentraci mozkového glutamátu, který vzniká z glukózy, po akutně navozené hypoglykémii. U diabetiků byla na rozdíl od zdravých kontrol koncentrace glutamátu v mozku zachována (Bischof M.G. et al., 2006; Terpstra M. et al., 2014)

Obrázek 1.2.3: Typické ^1H spektrum mozkové tkáně (parietální bílá hmota)



Vysvětlivky: Glc, glukóza; Ins, inositol; Cho, cholin; Cr/PCr, kreatin + fosfokreatin; NAA, N-acetylaspartát + N-acetylaspartátglutamát; Glu + Gln + GABA, signály glutamátu, glutaminu a GABA; Lac, laktát; Lip, signály lipidů a makromolekul, šedá linie odpovídá sumaci signálů makromolekul

FOSFOROVÁ SPEKTROSKOPIE: Fosforová spektroskopie umožňuje hodnotit mozkový energetický metabolismus. Snížený poměr PCr/ATP byl již popsán u diabetiků 1. typu (Bischof M.G. et al., 2004) a odráží zde zřejmě alteraci energetického metabolismu. Další studie popisuje po navození hyperglykémie vzestup hodnoty PCr v mozkové tkáni (Oltmanns K.M. et al., 2008). Nepřímo je za pomoci ^{31}P spektroskopie možné hodnotit i inzulínovou rezistenci – studie autorů (Emmanuel Y. et al., 2013) porovnávala poměr PCr/ATP v hippocamu u zdravých dobrovolníků. Po 4-hodinovém podávání lipidové infúze (autoři vzhledem k přestupu volných MK přes HEB předpokládají navození IR i v mozkové tkáni) došlo k signifikantnímu snížení poměru PCr/ATP. Dle autorů chyběla v buňkách po navození určitého stupně inzulínové rezistence glukóza, což omezilo následnou produkci zásobní energetické molekuly PCr. Intranasálně podaný inzulín, který obchází HEB a působí přímo na mozkovou tkáň, zvýšil v mozku hladinu ATP i PCr a vedl následně k menšímu perorálnímu příjmu (Jauch-Chara K. et al., 2012).

UHLÍKOVÁ SPEKTROSKOPIE: Koncentrace mozkové glukózy i glykogenu je nízká, takže k metabolickým studiím je třeba využívat glukózu značenou izotopem ^{13}C . Na zvířecích modelech bylo potvrzeno, že po přestupu HEB je značený uhlík inkorporován do aminokyselin N-acetylaspartátu, glutamátu, glutaminu, GABA, alaninu a laktátu (Kanamatsu T. a Tsukada Y., 1994). Studie tedy umožňují sledovat metabolické procesy v citrátovém cyklu nebo glutamát – glutaminový cyklus mezi neurony a astrocyty.

S pomocí ^{13}C MRS bylo provedeno několik studií zkoumajících mozkový metabolismus při hypoglykémii. Zachování glukózového metabolismu u diabetiků při lehké hypoglykémii již bylo potvrzeno (van de Ven K.C. et al., 2013). Při hypoglykémii bylo popsáno zrychlené uvolňování glukózy z glykogenu a následně kompenzatorně zvýšená syntéza glykogenových zásob (Gruetter R. et al., 2003; Tesfaye N. et al., 2011; Oz G. et al., 2012). Jako alternativní energetický substrát při hypoglykémii může sloužit laktát (De Feyter H.M. et al., 2013) i acetát (Gulanski B.I. et al., 2013). Laktát jakožto alternativní zdroj energie při hypoglykémii byl potvrzen i v recentní studii (Wiegers E.C. et al., 2016) za pomoci vodíkové spektroskopie.

1.2.3 DALŠÍ ORGÁNY

JÁTRA: Základní vyšetřovací metodou určenou ke kvantifikaci jaterního tuku je ^1H MRS, která umožňuje i upřesnění diagnózy non-alkoholické steatohepatitidy (Szczepaniak L.S. et al., 2005; Thomas E.L. et al., 2005). Metabolická situace v jaterní tkáni je v některých ohledech podobná poměrům v kosterním svalu a ektopická akumulace lipidů je i zde spojená s inzulinovou rezistencí. Opakovaně byla prokázána negativní korelace mezi obsahem intrahepatálního tuku (IHCL) a parametry inzulinové senzitivity (Seppala-Lindroos A. et al., 2002; Tiikkainen M. et al., 2002). Podobně jako v kosterním svalu vede krátkodobé hladovění k vzestupu IHCL (Moller L. et al., 2008), ale dlouhodobé redukční programy obsah IHCL snižují (Petersen K.F. et al., 2005a; Larson-Meyer D.E. et al., 2008). Jednorázová fyzická zátěž obsah IHCL zvyšuje, což je zásadní rozdíl oproti IMCL (Egger A. et al., 2013; Bucher J. et al., 2014). Dlouhodobé tréninkové programy obsah IHCL snižují (van der Heijden G.J. et al., 2010; Yoshimura E. et al., 2011). Pokles IHCL byl popsán po podávání glitazonů (Mayerson A.B. et al., 2002; Phielix E. et al., 2013) a exenatidu (Dutour A. et al., 2016).

Při použití fosforové spektroskopie byla u diabetu 2. typu popsána narušená energetika jaterních buněk. Byl zjištěn nižší obsah ATP v hepatocytech (Szendroedi J. et al., 2009b; Schmid A.I. et al., 2011) i nižší vzestup koncentrace ATP po jídle (Fritsch M. et al., 2015). Vysoká koncentrace jaterního glykogenu zde umožňuje mapovat jeho metabolismus bez použití značeného izotopu ^{13}C (Roden M. et al., 2001). Snížená postprandiální syntéza glykogenu byla popsána u pacientů s diabetem 1. (Hwang J.H. et al., 1995) i 2. typu (Krssak M. et al., 2004). Použití značených mastných kyselin umožnilo u diabetiků 2. typu průkaz zvýšené postprandiální akumulace tuků v jaterní tkáni (Ravikumar B. et al., 2005)

MYOKARD: Situace v myokardu je v řadě ohledů podobná situaci v kosterním svalu. Vodíkové spektrum umožňuje kvantifikovat intramyocelulární lipidy a i zde byla prokázána vazba na poruchu glukózové tolerance nebo přímo diabetes 2. typu (McGavock J.M. et al., 2007). U diabetiků 2. typu byla zjištěna asociace mezi obsahem IMCL a diastolickou dysfunkcí (Korosoglou G. et al., 2012). Fosforová spektroskopie prokazuje u pacientů s diabetem 1. typu bez průkazu srdečního onemocnění nižší poměr PCr/ATP v porovnání se zdravými kontrolami (Metzler B. et al., 2002). Podobné výsledky prezentuje studie další skupiny autorů (Diamant M. et al., 2003) a u diabetiků 2. typu navíc popisuje korelaci parametrů mitochondriální a diastolické dysfunkce. Autoři (Scheuermann-Freestone M. et al.,

2003) zjistili u diabetiků 2. typu také nižší klidový poměr PCr/ATP s průkazem pomalejší resyntézy po fyzické zátěži.

TUKOVÁ TKÁŇ: Perspektivní se zdá i spektroskopie tukové tkáně. Složení mastných kyselin je možné zkoumat za pomoci ^1H MRS podobně jako v kosterním svalu (Ren J. et al., 2008). Vzhledem k vysoké koncentraci uhlíkových atomů je ale možné použít i ^{13}C MRS (Hwang J.H. et al., 2003). Použití magnetického pole o vyšší intenzitě umožňuje i rozlišení uhlíků sousedících s dvojnými vazbami s možností posoudit procento nasycených a nenasycených mastných kyselin. Zajímavé perspektivy přináší i analýza tukové tkáně v kostní dřeni (Machann J. et al., 2008).

2. CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE

Cílem práce je přispět k objasnění iniciálních patofyziologických pochodů zodpovědných za vznik inzulinové rezistence.

Hypotéza: Inzulinová rezistence je spojená s metabolickými abnormalitami buněk kosterního svalu a mozkové tkáně již v preklinických fázích onemocnění.

Dílčí cíle:

1. Zhodnotit energetický metabolismus kosterního svalu (m. soleus) s pomocí ^{31}P MRS u potomků hypertoniků a zdravých kontrol a testovat vztahy k míře inzulinové rezistence (studie 1)

Hypotéza: Potomci hypertoniků vykazují vyšší míru inzulinové rezistence. Energetický status m. soleus ve skupině potomků hypertoniků je odlišný od kontrolní skupiny. Existuje vazba mezi alterovaným svalovým metabolismem, stupněm inzulinové rezistence a hypertenzí

2. Zhodnotit obsah intramyocelulárních lipidů s pomocí ^1H MRS v kosterním svalu (m. tibialis anterior) u subjektů s poruchou lačné glykémie a testovat vliv podávání telmisartanu (160mg/den, 3 týdny) formou randomizované, zaslepené, placebem kontrolované studie, na změnu parametrů inzulinové senzitivity a na obsah intramyocelulárních lipidů (studie 2)

Hypotéza: U osob s poruchou lačné glykémie existuje korelace mezi obsahem intramyocelulárních lipidů a inzulinovou senzitivitou. Podávání telmisartanu vede ve srovnání s placebem ke zvýšení inzulinové senzitivity a k poklesu obsahu intramyocelulárních lipidů v m. tibialis anterior.

3. Hodnocení bazálních koncentrací vybraných metabolitů v mozkové tkáni s pomocí ^1H MRS u subjektů s diabetem 1. typu a zdravých kontrol. Testování vlivu akutní suprafyziologické hyperinzulinémie (2mU/kg/min) na mozkový metabolismus (studie 3)

Hypotéza: U pacientů s diabetem 1. typu existují změny v koncentracích vybraných metabolitů v mozkové kůře. Akutní hyperinzulinémie vede k vzestupu koncentrace glukózy v mozkové tkáni. Inzulinem indukovaný vzestup koncentrace glukózy v CNS je rozdílný mezi diabetiky a kontrolami a je závislý na stupni inzulinové senzitivity.

3. POPIS VYBRANÝCH METOD POUŽITÝCH V JEDNOTLIVÝCH STUDIÍCH

3.1 ORÁLNÍ GLUKÓZOVÝ TOLERANČNÍ TEST

V testu po podání 75g glukózy byly stanoveny hodnoty glukózy, imunoreaktivního inzulínu (IRI) a C peptidu v časech 0, 30, 60 a 120 minut. Suma jednotlivých hodnot glukózy, IRI a C peptidu (Σ Gly, Σ IRI a Σ Cpep) byla použita jako jedno z kritérií hodnocení glukózového metabolismu ve studii 1.

3.2 HYPERINZULINOVÝ EUGLYKEMICKÝ CLAMP

Vyšetření hyperinzulinovým euglykemickým clampem bylo provedeno s cílem kvantifikovat inzulínovou senzitivitu a ve studii 3 i s cílem navodit hyperinzulinémií a zkoumat její vliv na metabolismus mozkové tkáně. Pacienti byli vyšetřováni ambulantně po celonočním lačnění známou metodikou (DeFronzo R.A. et al., 1979). Rychlost kontinuální inzulínové infúze (Actrapid HM 100 U/ml, Novo Nordisk, Kodaň, Dánsko) byla ve studiích 1 a 2 udržována na 1mU/kg/min (dosažena konstantní hyperinzulinémie přibližně 75 μ U/ml) a ve studii 3 na 2mU/kg/min (dosažena konstantní hyperinzulinémie přibližně 140 μ U/ml). Rychlost infúze s 15% glukosou byla upravována s cílem udržet glykémii 5mmol/l. Délka clampového vyšetření ve studii 1 byla deset hodin, ve studii 2 dvě hodiny a ve studii 3 tři hodiny. Vyšetření ve studii 3 bylo provedeno přímo v prostorech magnetické rezonance.

Citlivost na inzulín byla hodnocena následujícími parametry: spotřeba glukózy (M), metabolická clearance glukózy (MCR) a index inzulínové senzitivity (M/I). Hodnota M byla získána vydělením střední rychlosti glukózové infúze během určené periody clampu tělesnou hmotností (mg/kg/min). MCR byla zjištěna vydělením hodnoty M průměrnou glykemií během dané clampové periody (ml/kg/min). Index M/I byl vypočten vydělením hodnoty M průměrnou inzulínemií během sledovaného clampového úseku (mg/kg/min/mIU/l). Ve studii 1 byla v rámci hodnocení vazby inzulínové senzitivity a spektroskopických parametrů používána i suma hodnot M, MCR a M/I z jednotlivých clampových period.

3.3 SPEKTROSKOPIE MAGNETICKOU REZONANCÍ

Vyšetření MRS byla prováděna po celonočním lačnění přístrojem Siemens Vision (Erlangen, Německo) se silou magnetické indukce 1,5T. Pacienti byli vyšetřováni v poloze vleže na zádech.

Fosforové spektrum kosterního svalu ve studii 1 bylo získáno za pomoci duální povrchové cívkou $^1\text{H}/^{31}\text{P}$. Spektrum bylo získáno z celého objemu m. soleus za pomoci FID sekvence (TR 5s, 16 akvizic, 512 bodů, šíře spektra 4000Hz). Spektra byla vyhodnocena za pomoci standardního softwaru Siemens Numaris. Ke statistickému hodnocení byly použity poměry intenzit signálů jednotlivých makroergních fosfátů. Hodnota intracelulárního pH a koncentrace intracelulárního Mg^{2+} (Mgi) byla dopočítána podle publikovaných vzorců (Gupta R.K. et al., 1978; Thompson C.H. et al., 1995). Typické fosforové spektrum je na Obr. 1.2.2.

Vodíkové spektrum kosterního svalu (studie 2) bylo měřeno v jednobáňové cirkulárně polarizované hlavové cívce. Měření probíhalo v m. tibialis anterior, pro lokalizaci byly použity T1 vážené obrazy ve třech kolmých rovinách. Objem voxelu byl přibližně 4,2ml. Pozice voxelu byla upravena tak, aby obsahovala co nejméně viditelné intersticiální tkáň nebo tuku. Byla použita měřicí sekvence single voxel PRESS s parametry TR/TE 2000ms/270ms, počet akvizic byl 256 anebo 512 podle velikosti voxelu. Spektra byla analyzována za pomoci LCModelu (LCModel web page), signál kreatinu byl použit jako interní standard a ke statistickému hodnocení byly použity poměry signálů methylových a methylenových skupin ke kreatinu. Typické vodíkové spektrum je na Obr. 1.2.1.

Vodíková spektra mozkové tkáň (studie 3) byla měřena v cirkulárně polarizované hlavové cívce. Bylo použito měřicí sekvence single voxel s lokalizací pomocí stimulovaného echa (STEAM) s parametry TR/TE/TM= 5000/10/15 ms. Měření probíhala z oblasti parieto-okcipitální bílé hmoty s objemem voxelu přibližně 10ml. Počet akvizic byl 220, celková doba měření jednoho spektra byla 18,5minuty. Pro lokalizaci měřené oblasti byly použity standardní T2 vážené obrazy ve třech kolmých rovinách. Absolutní kvantifikace spekter byla provedena metodikou LCModel (LCModel web page). Koncentrace metabolitů byly uváděny jako molární koncentrace. Typické vodíkové spektrum mozkové tkáň je na Obr. 1.2.3.

3.4 NEPŘÍMÁ KALORIMETRIE

Utilizace substrátů a energetický výdej byl hodnocený nepřímou kalorimetrií (Ferrannini E., 1988). Spotřeba O_2 a výdej CO_2 byl měřen během 45 minutového intervalu před zahájením clampových vyšetření (metabolický monitor VMAX, Sensor Medics, Anaheim, CA, USA). Odpady dusíku do moči byly stanoveny z bazálního vzorku moči. Neoxidativní spotřeba glukózy (NEOX) byla spočítána po odečtení rychlosti glukózové oxidace od M.

3.5 LABORATORNÍ STANOVENÍ

Plazmatická glykémie během clampu byla měřena s použitím glukózo-oxidázové metody (Beckman Glucose Analyzer; Beckman Instruments, Fullerton, California, USA). Plazmatická hodnota imunoreaktivního inzulinu byla stanovena metodou RIA – radioimunoassay (Insulin IRMA Kit, Immunotech, Praha, Česká republika). C peptid byl hodnocen stejnou metodou (C peptid IRMA Kit, Immunotech, Praha, Česká republika). Celkový cholesterol, frakce HDL cholesterolu a sérové triglyceridy byly měřeny enzymatickou metodou s použitím CHOD-PAP testu (Hoffmann-LaRoche, Basel, Švýcarsko). Hodnota frakce LDL cholesterolu byla dopočítána s použitím modifikované verze Friedwaldovy rovnice.

Hodnota volných mastných kyselin byla stanovena half-micro testem (Roche Diagnostics GmbH; Penzberg; Německo). Plazmatická koncentrace TNF α byla měřena imunoesejí (Human TNF α UltraSensitive RIA kit; BioSource International, Camarillo, CA, USA). Plazmatická koncentrace rezistinu byla měřena Human Resistin Elisa kitem (BioVendor Laboratory Medicine Inc., Brno, Česká republika). Plazmatická koncentrace leptinu byla měřena Human Leptin ELISA kitem (BioVendor Laboratory Medicine Inc., Brno, Česká republika). Plazmatická koncentrace adiponektinu byla měřena Human Adiponectin ELISA kitem (BioVendor Laboratory Medicine Inc., Brno, Česká republika). Hodnota glykovaného hemoglobinu ve studii 1 (DCCT) byla stanovena metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s použitím Bio-Rad Hemoglobin A1c Column Testu (Bio-Rad Laboratories GmbH; Munich, Germany). Hodnota glykovaného hemoglobinu ve studii 3 byla stanovena stejnou metodou, ale výsledky byly standardizovány na jednotky IFCC (Goodall I., 2005). Hodnota glykovaného hemoglobinu ve studii 2 byla stanovena HPLC metodou (Tosoh HLC-723 G7; Tosoh Corporation, Tokyo, Japan) a metoda byla kalibrována na jednotky IFCC. Koncentrace sérového magnesia byla stanovena fotometricky s použitím xylidinové modfi.

3.6 STATISTICKÁ ANALÝZA

Hodnoty jsou uváděny jako průměr \pm SD. Ke zhodnocení vazeb mezi antropometrickými, metabolickými a spektroskopickými parametry v jednotlivých studiích byl použit Pearsonův nebo Spearmanův korelační koeficient, ve studii 1 byla použita i vícenásobná lineární regresní analýza. Ve studii 1 při parametrické distribuci zkoumané veličiny byl použit k porovnání dvou skupin párový T test. Ve studii 2 byl při porovnávání dvou měření u téhož pacienta vzhledem k neparametrické distribuci zkoumané veličiny použit Wilcoxonův párový test. Vliv inzulinémie na vybrané parametry byl ve studii 1 a 3 hodnocen analýzou rozptylu

(ANOVA – analysis of variance with repeated measures). Hodnota $P \leq 0,05$ byla považována za statisticky signifikantní. Ke statistické analýze byl použit software Statgraphics Plus 5.1 a GraphPad Prism 5.

4. USPOŘÁDÁNÍ STUDIÍ, PŘEHLED VÝSLEDKŮ A DISKUSE

4.1 STUDIE 1

Metabolické charakteristiky m. soleus ve vztahu k inzulinové senzitivě u potomků hypertoniků (příloha č. 1)

Hypertenze patří spolu s inzulinovou rezistencí, dyslipidémií a glukózovou intolerancí mezi základní komponenty metabolického syndromu. Patogeneze vzniku metabolického syndromu není doposud objasněna, ale předpokládá se, že inzulinová rezistence v ní hraje zásadní roli. Několik studií již prokázalo sníženou inzulinovou senzitivitu u doposud normotenzních potomků hypertoniků (Beatty O.L. et al., 1993; Facchini F. et al., 1992; Ferrari P. et al., 1991; Endre T. et al., 1994; Vlasakova Z. et al., 2004). V patogenezi hypertenze pravděpodobně hrají roli i abnormality v koncentracích některých iontů jako je natrium, kalium, kalcium nebo magnesium. Někteří autoři předpokládají také vazbu mezi deficitem intracelulárního magnesia a rozvojem diabetu (Paolisso G. a Barbagallo M., 1997; Barbagallo M. et al., 2003). Kosterní sval je jedním z cílových orgánů inzulinového působení a myocyty mají podobnou bioenergetiku jako buňky hladkého svalu ve stěnách cév, které se regulace krevního tlaku přímo účastní. Každý biochemický proces, který se odehrává v myocytech, ovlivňuje energetický status buňky. Rozdíl v působení inzulinu v kosterním svalu u inzulinsenzitivních a rezistentních osob má tedy přímý dopad na energetiku buňky. Výsledné koncentrace makroergních fosfátů jsou závislé také na funkci mitochondrií a řada prací popisuje výskyt mitochondriální dysfunkce ve spojitosti s inzulinovou rezistencí (Kelley D.E. et al., 2002; Schrauwen P. et al., 2010). Koncentrace makroergních fosfátů mohou být detekovatelné fosforovou spektroskopií (^{31}P MRS). Spektrum umožňuje hodnotit koncentrace fosfomonoesterů (PME), fosfodiesterů (PDE), fosfokreatinu (PCr), anorganického fosfátu (Pi) a ATP (sumární signál Patp a signál βATP) a je možné i dopočítat koncentraci intracelulárního magnesia (Mgi) z chemického posunu mezi signálem αATP a βATP (Gupta R.K. et al., 1978; Bock J.L. et al., 1985). Hodnota intracelulárního pH může být určena z chemického posunu mezi Pi a PCr (Thompson C.H. et al., 1995).

U pacientů s primární juvenilní hypertenzí již byly za pomoci ^{31}P MRS detekovány rozdíly v energetickém statusu kosterního svalu (Hajek M. et al., 2002). Energetický metabolismus kosterního svalu u osob v preklinickém stádiu hypertenze doposud nebyl zkoumán. Cílem

naší studie bylo porovnat za pomoci ^{31}P MRS metabolické charakteristiky m. soleus u potomků hypertoniků (OH) a zdravých kontrol (C) a zjistit, zda existuje vazba mezi stupněm citlivosti na inzulin a metabolismem makroergních fosfátů ve svalu.

Charakteristika subjektů a schéma studie: Skupina OH byla tvořena 10 mladými zdravými dobrovolníky, kteří měli minimálně jednoho z rodičů s diagnostikovanou hypertenzí. Kontrolní skupinu tvořilo 13 osob bez rodinné anamnézy hypertenze, diabetu, obezity nebo ICHS. Všechny osoby zařazené do studie měly normální výsledky v oGTT podle kritérií The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (Genuth S. et al., 2003). Hodnoty krevního tlaku byly u všech v pásmu normy podle kritérií The European Society for Hypertension (European Society of Hypertension-European Society of Cardiology Guidelines C., 2003). Klinické a laboratorní charakteristiky obou skupin jsou uvedeny v tabulce 4.1.1. Ke zhodnocení inzulinové senzitivity byly použity sumární hodnoty M, MCR a M/I z jednotlivých period 10-ti hodinového hyperinzulinemického euglykemického clampu (perioda 1: minuty 100-120, 2: 180-200, 3: 280-300, 4: 360-380, 5: 480-500, 6: 580-600). K posouzení glukózového metabolismu byly použity i sumární hodnoty glykémie, C peptidu a IRI z oGTT (časy 0, 30, 60 a 120 minut). Energetický metabolismus m. soleus byl hodnocen za pomoci ^{31}P MRS (parametry P_i , PCr, Patp, βATP , PDE, PME a jejich poměry, dopočítáno bylo pH a Mgi).

Tabulka 4.1.1: Charakteristika souboru

	POTOMCI HYPERTONIKŮ (n = 10)	KONTROLY (n = 13)	P
Věk (roky)	27,4 ± 3,8	26,6 ± 4,8	NS
BMI (kg/m ²)	25,1 ± 3,4	24,4 ± 1,5	NS
WHR	0,89 ± 0,1	0,85 ± 0,1	NS
TK s (mmHg)	129,7 ± 6,0	115,6 ± 4,0	***
TK d (mmHg)	78,8 ± 4,7	67,8 ± 5,1	***
HbA1c (%) (DCCT)	5,14 ± 0,2	5,08 ± 0,3	NS
Chol (mmol/l)	4,65 ± 1,2	4,46 ± 1,1	NS
HDL (mmol/l)	1,22 ± 0,2	1,11 ± 0,2	NS
LDL (mmol/l)	2,68 ± 1,1	2,6 ± 0,8	NS
TAG (mmol/l)	1,76 ± 0,9	1,76 ± 0,8	NS
MgS (mmol/l)	0,78 ± 0,1	0,83 ± 0,1	NS

Vysvětlivky: BMI, body mass index; WHR, poměr pas-boky; TKs, systolický krevní tlak; TKd, diastolický krevní tlak; HBA1c, glykovaný hemoglobin, DCCT, kalibrace glyk. hemoglobinu; Chol, celkový cholesterol; HDL, high-density lipoprotein cholesterol; LDL, low-density lipoprotein cholesterol; TAG, sérové triglyceridy; MgS, sérové magnesium

*** p < 0.001; NS, není signifikantní

Výsledky: Klinické a biochemické charakteristiky obou skupin se nelišily (Tabulka 4.1.1), pouze hodnota systolického a diastolického krevního tlaku byla signifikantně vyšší ve skupině OH ($P < 0,001$). Výsledky oGTT a clampů jsou uvedeny v Tabulce 4.1.2. Všechny hodnoty byly fyziologické, ale byl zaznamenán trend k nižší inzulínové senzitivitě u OH. Ve skupině OH byla zjištěna nižší hodnota $\sum M/I$ ($p = 0,011$) během clampu a během oGTT vyšší hodnota $\sum C$ peptidu ($p = 0,015$) a trend k vyšší hodnotě $\sum IRI$ ($p = 0,055$). Koncentrace metabolitů stanovených ^{31}P MRS jsou uvedeny v tabulce 4.1.3. Mezi skupinami nebyly zjištěny rozdíly v koncentraci makroergních fosfátů. Hraniční rozdíl byl zjištěn pouze v poměru $Pi/\beta ATP$ s vyšší hodnotou ve skupině OH. Korelační koeficienty mezi vybranými antropometrickými, metabolickými a spektroskopickými parametry jsou uvedeny v tabulce 4.1.4.

Mezi dalšími korelacemi neuvedenými v tabulce jsou podstatné pozitivní korelace mezi poměrem PDE/PME a hmotností ($r = 0,45$; $p < 0,05$) a hodnotou C peptidu 0 ($r = 0,45$; $p < 0,05$). Poměr $Pi/\beta ATP$ koreloval s obvodem pasu ($r = 0,44$; $p < 0,05$). Poměr $PCr/\beta ATP$ koreloval s hmotností ($r = 0,51$; $p < 0,05$). Hodnota Mgi negativně korelovala s WHR ($r = -0,44$; $p < 0,05$), obvodem pasu ($r = -0,43$; $p < 0,05$) a celkovým cholesterolem ($r = -0,43$; $p < 0,05$). Silná pozitivní korelace byla dále zjištěna mezi hodnotou MgS a inzulínovou senzitivitou vyjádřenou jako $\sum M$ ($r = 0,63$; $p = 0,001$), $\sum MCR$ ($r = 0,59$; $p < 0,01$) i $\sum M/I$ ($r = 0,51$; $p < 0,01$). Hodnota diastolického krevního tlaku korelovala negativně s $\sum M$ ($r = -0,42$; $p < 0,05$) a s $\sum M/I$ ($r = -0,54$; $p < 0,01$). Podle výsledků vícečetné regresní analýzy s fosfátovými metabolity jako nezávislými proměnnými závisela hodnota systolického i diastolického tlaku na poměru $Pi/\beta ATP$.

Tabulka 4.1.2: Výsledky oGTT a hyperinzulinového clampu

	POTOMCI HYPERTONIKŮ (n = 10)	KONTROLY (n=13)	P
Gly 0 min (mmo/l)	4,99 ± 0,5	5,01 ± 0,3	NS
ΣGly (mmol/l)	23,7 ± 3,1	22,2 ± 2,9	NS
IRI 0 min (mIU/l)	10,0 ± 4,4	8,85 ± 2,8	NS
ΣIRI (mIU/l)	199,3 ± 97,4	129,8 ± 36,2	NS; p = 0,055
C pep 0 min (pmol/ml)	0,69 ± 0,2	0,6 ± 0,2	NS
ΣC pep (pmol/ml)	9,78 ± 0,7	7,24 ± 0,7	*
ΣM (mg/kg/min)	62,12 ± 13,3	75,58 ± 16,8	NS
ΣMCR (ml/kg/min)	68,38 ± 16,0	82,17 ± 18,3	NS
ΣM/I(mg/kg/min/mIU/l)	0,74 ± 0,47	1,42 ± 0,65	*

Vysvětlivky: Gly, glykémie; ΣGly; suma glykemií během oGTT; IRI, imunoreaktivní inzulin; ΣIRI, suma hodnot IRI během oGTT; C pep, C peptid; ΣCpep, suma hodnot C peptidu během oGTT; M, spotřeba glukózy; MCR, metabolická clearance glukózy; M/I, index inzulinové senzitivity; * p < 0,05; NS, není signifikantní

Tabulka 4.1.3: Parametry svalového metabolismu v m. soleus hodnocené ³¹P MRS

	POTOMCI HYPERTONIKŮ (n = 10)	KONTROLY (n=13)	P
PCr/Pi	7,05 ± 1,21	7,63 ± 1,07	NS
PCr/Patp	1,63 ± 0,08	1,38 ± 0,08	NS
PCr/PME	19,7 ± 8,1	18,84 ± 4,19	NS
PCr/PDE	8,4 ± 3,9	7,58 ± 1,93	NS
PCr/βATP	6,9 ± 1,3	6,47 ± 0,77	NS
Pi/PME	2,75 ± 1,02	2,49 ± 0,56	NS
Pi/PDE	1,21 ± 0,57	1,02 ± 0,27	NS
Pi/βATP	1,00 ± 0,21	0,86 ± 0,15	NS; p=0,08
Pi/Patp	0,24 ± 0,05	0,21 ± 0,03	NS
PDE/βATP	1,03 ± 0,49	0,93 ± 0,24	NS
PDE/PME	2,47 ± 0,77	2,59 ± 0,77	NS
PME/βATP	0,42 ± 0,22	0,36 ± 0,08	NS
Patp/βATP	4,25 ± 0,79	4,08 ± 0,38	NS
Patp/PME	12,03 ± 4,97	11,8 ± 2,54	NS
Patp/PDE	5,11 ± 2,45	4,78 ± 1,18	NS
Mgi	608,8 ± 81,2	632,4 ± 123,9	NS
pH	7,07 ± 0,02	7,06 ± 0,03	NS

Vysvětlivky: PCr, fosfokreatin; Pi, anorganický fosfát; Patp, sumární signál ATP; βATP, jeden ze signálů ATP; PME, fosfomonoestery; PDE, fosfodiestery; Mgi, ionizované intracelulární magnesium; pH, intracelulární pH
NS, není signifikantní

Tabulka 4.1.4: Korelace mezi vybranými antropometrickými, metabolickými a spektroskopickými charakteristikami

	Σ Cpep	Σ IRI	TAG	chol	TKs	TKd	WHR	BMI
PCr/Pi	-0,2	-0,27	0,22	0,04	-0,26	-0,15	-0,27	-0,07
PCr/Patp	0,14	0,06	-0,33	-0,27	0,43*	0,08	-0,33	-0,04
PCr/ β atp	0,51*	0,53**	0,27	0,05	0,33	0,37	-0,03	0,45*
Pi/Patp	0,23	0,21	-0,34	-0,17	0,413*	0,18	0,11	0,02
Pi/ β atp	0,54**	0,60**	-0,02	-0,02	0,48*	0,42*	0,17	0,408
PDE/PME	0,27	0,15	0,45*	0,25	-0,28	-0,1	0,03	0,38
Mgi	-0,21	0,1	-0,22	-0,42*	0,1	0,05	-0,44*	0,12
BMI	0,61**	0,68***	0,43*	0,47*	0,28	0,37	0,08	/
WHR	0,36	0,32	0,47*	0,58**	0,15	0,14	/	/
TKs	0,5*	0,51*	-0,08	0,14	/	0,75***	/	/
TKd	0,5*	0,62**	0,13	0,2	0,75***	/	/	/
chol	0,43*	0,43*	0,66***	/	/	/	/	/
TAG	0,33	0,414*	/	/	/	/	/	/
IRI	0,84***	/	/	/	/	/	/	/
Σ Cpep	/	/	/	/	/	/	/	/

Vysvětlivky: Σ Cpep, suma hodnot C peptidu během oGTT; Σ IRI, suma hodnot IRI během oGTT; TAG, sérové triglyceridy; Chol, celkový cholesterol; TKs, systolický krevní tlak; TKd; diastolický krevní tlak; WHR, poměr pas-boky; BMI, body mass index; PCr, fosfokreatin; Pi, anorganický fosfát; Patp, 3 signály ATP; PME, fosfomonoestery; PDE, fosfodiester; β ATP, signál β ATP; Mgi, ionizované intracelulární magnezium

* < 0,05; ** < 0,01; *** < 0,001;

Diskuse: V našem souboru jsme prokázali korelaci mezi metabolickými parametry jako je Σ IRI a Σ Cpep s krevním tlakem. Hodnoty Σ IRI a Σ C peptid představují silný prediktor predispozice k rozvoji inzulinové rezistence u osob s doposud normální glukózovou tolerancí. Hodnota MgS se mezi skupinami nelišila, ale zjistili jsme silnou korelaci mezi inzulinovou senzitivitou vyjádřenou jako Σ M, Σ MCR nebo Σ M/I a MgS. Hodnota Mgi byla mezi skupinami také srovnatelná, nekorelovala s hodnotou TK ani s inzulinovou senzitivitou, ale byla zjištěna negativní korelace mezi Mgi a WHR i obvodem pasu a dále mezi Mgi a celkovým cholesterolem.

Hypomagnesemie provází diabetes mellitus 2. typu (Gommers L.M. et al., 2016). Deficit intracelulárního magnezia v buňkách krevních elementů je dlouhodobě známý i u hypertenze (Resnick L.M. et al., 1988; Barbagallo M. et al., 1997; Mo Z. et al., 1999) i diabetu 2. typu (Resnick L.M. et al., 1988; Resnick L.M. et al., 1993a; Barbagallo M. et al., 1997; Barbagallo M. et al., 2003; Mo Z. et al., 1999) a ve většině případů byla zjištěna přímo negativní korelace

mezi hodnotou TK a Mgi (Resnick L.M. et al., 1988; Resnick L.M. et al., 1991; Mo Z. et al., 1999). Studie autorů (Corica F. et al., 1998) prokázala největší pokles Mgi v krevních destičkách u pacientů s kombinací hypertenze a diabetu. Jiná studie naopak považuje diabetes za základní podmínku vedoucí k poklesu Mg a neprokazuje přídatný vliv hypertenze (Mo Z. et al., 1999).

V případě svalových buněk byla deplece magnesia prokázána na zvířecích modelech s hypertenzí v hladkých svalových buňkách v aortě a v kosterním svalu (Jelicks L.A. a Gupta R.K., 1990; Ng L.L. et al., 1992; Kisters K. et al., 2000). Naproti tomu jiní autoři (Sebekova K. et al., 1999) nenašli žádný rozdíl v hladině Mgi v kosterním svalu u inzulínrezistentních osob se sníženou renální funkcí a další skupina (Hajek M. et al., 2002) nezjistila žádnou signifikantní změnu v hladině Mgi v kosterním svalu u hypertenzních osob.

Inzulin podstatným způsobem ovlivňuje koncentraci intracelulárního magnesia. Inkubace erytrocytů s inzulinem vede k vzestupu Mgi u normotenzních, ale nikoliv hypertenzních pacientů (Barbagallo M. et al., 1997). Naopak deplece Mgi může být navozena po inkubaci erytrocytů v roztoku s vysokou koncentrací glukózy (Barbagallo M. et al., 1997; Resnick L.M. et al., 1993b). Hyperglykémie navozená v oGTT vede k redukci Mgi v erytrocytech a Mgi negativně koreluje s integrovanou inzulinovou odpovědí v oGTT (Resnick L.M. et al., 1990).

Všechny hodnoty sérového magnesia v naší studii byly ve fyziologickém rozmezí, ale korelace s inzulinovou senzitivitou byla přesto zjevná. Hodnota sérového magnesia nemusí vždy odpovídat celotělovým intracelulárním zásobám. Intracelulární pool je pravděpodobně více chráněn vzhledem ke svým biologickým funkcím. Negativní korelace mezi Mgi a WHR nebo obvodem pasu v naší studii ale ukazuje, že i obsah Mgi může být během rozvoje metabolického syndromu alterován. Limitací naší studie je fakt, že jsme zároveň nehodnotili koncentraci sérového ionizovaného magnesia. Magnesium funguje jako kofaktor řady enzymatických reakcí včetně reakcí zapojených do homeostázy glukózy a inzulinu. Otázka suplementace magnesia může být důležitá z terapeutického hlediska, protože podle výsledků recentních metaanalýz zlepšuje parametry glukózového metabolismu a inzulinovou senzitivitu (Simental-Mendia L.E. et al., 2016; Veronese N. et al., 2016; Morais J.B.S. et al., 2017). Suplementace magnesia má dle další nové metaanalýzy i malý pozitivní vliv na pokles krevního tlaku (Zhang X. et al., 2016).

Při hodnocení energetického metabolismu se předpokládá, že i když myocyty kosterního svalu nejsou přímo vystaveny účinku zvýšeného krevního tlaku, i jejich metabolismus bude odrážet změny, ke kterým dochází při hypertenzi v hladkých svalových buňkách cév.

Kosterní sval je navíc klasickým cílovým orgánem působení inzulínu a IR je typicky spojena s rozvojem hypertenze.

Mezi skupinami OH a C jsme nezjistili žádné rozdíly v energetickém metabolismu, hraničně vyšší byl poměr $Pi/\beta ATP$ ve skupině OH. Tento poměr také vykazoval nejvíce korelací s parametry inzulínové senzitivity (ΣC_{pep} , ΣIRI , obvod pasu) i s hodnotou systolického a diastolického krevního tlaku. Vyšší poměr $Pi/\beta ATP$ odráží konsumpci ATP a zvýšenou produkci anorganického fosfátu, který při rozkladu ATP vzniká. Zvýšení krevního tlaku může vést k aktivaci energetického metabolismu se zvýšenou utilizací ATP a jeho pomalejší resyntézou, což vede k přechodné kumulaci Pi . Reakce na hraniční hypertenzi by mohla být analogická reakci na fyzickou zátěž, při které také dochází ke konsumpci ATP. Alternativním vysvětlením může být výskyt určité lehké formy mitochondriální dysfunkce, která provází IR a která je spojená s nižší produkcí ATP v dýchacím řetězci. Alterace energetického metabolismu by zde odrážela primární dysfunkci zodpovědnou za rozvoj IR, nikoliv reakci na přítomnost hypertenze. Současně zjištěná pozitivní korelace mezi poměrem $PCr/\beta ATP$ a parametry inzulínové senzitivity (ΣC_{pep} , ΣIRI , hmotnost a BMI) opět ukazuje na možnost nižší produkce ATP ve vazbě na IR.

Zjistili jsme i pozitivní korelaci mezi TKs a $PCr/Patp$. PCr funguje jako energetický rezervoár pro resyntézu ATP. První reakcí na zátěž ve skupině mladých a zatím ještě prehypertenzních osob může být také neformace PCr tak, aby byla jeho hodnota udržována na stabilní nebo spíše vyšší úrovni pro případ zvýšené potřeby. Podobný mechanismus byl popsán ve skupině profesionálních cyklistů, kteří měli v kosterním svalu vyšší hladinu PCr (Hug F. et al., 2005). Přesnější odpovědi by nám nabídlo hodnocení absolutních koncentrací daných makroergních fosfátů nikoliv pouze hodnocení jejich poměrů.

Mitochondriální dysfunkce v kosterním svalu ve spojení s inzulínovou rezistencí byla již popsána u starších osob (Petersen K.F. et al., 2003) i u potomků diabetiků (Petersen K.F. et al., 2004). Alterace energetického metabolismu byla popsána také u myokardu, kde byla prokázána jasná negativní korelace mezi poměrem $PCr/Patp$ a myokardiální funkcí při dilatační kardiomyopatii, ischemické chorobě nebo chlopenní vadě a při léčbě byla prokázána parciální reverzibilita (Beer M., 2004). Podobné změny byly zjištěny i u asymptomatických diabetiků (Scheuermann-Freestone M. et al., 2003; Metzler B. et al., 2002; Diamant M. et al., 2003) nebo hypertoniků (Lamb H.J. et al., 1999) při diastolické dysfunkci. Uvedené výsledky potvrzují aktivaci energetického metabolismu s nižší schopností resyntézy PCr . Ovšem byla publikována i studie, která žádné rozdíly v koncentracích PCr a ATP v myokardu u hypertoniků neprokázala (Beer M. et al., 2002). Není jasné, zda jsou tyto výsledky

aplikovatelné také na metabolismu kosterního svalu. U pacientů s neléčenou hypertenzí byla v klidu popsána nižší hodnota PCr a po fyzické zátěži došlo k většímu poklesu koncentrace PCr a k jeho pomalejší resyntéze. Podobně byl popsán větší pokles poměru ATP/Pi také s pomalejší regenerací podobně jako v myokardu (Ronquist G. et al., 1995). Autoři (Hajek M. et al., 2002) popisují v kosterním svalu hypertenzních osob vyšší poměry PCr/Pi, PCr/ β ATP, PCr/Patp a PDE/ β ATP a nižší poměry Pi/PDE, PCr/PME a Pi/Patp. Skupina (Sebekova K. et al., 1999) popsala v kosterním svalu inzulinorezistentních pacientů se sníženou renální funkcí nižší poměr ATP/Pi a vyšší poměr PCr/ATP. Výsledky publikovaných studií ukazují na určitý stupeň relativního nedostatku ATP v kosterním svalu, který může odpovídat snížené funkci svalových mitochondrií.

Bylo provedeno také několik dynamických studií k posouzení role inzulinu ve svalovém fosfátovém metabolismu. Skupina autorů (Taylor D.J. et al., 1991) popisuje zvýšení Pi v buňkách lidského kosterního svalu po infuzi inzulinu a jeho snížení v plazmě. Autoři (Fisher M.J. a Dillon P.F., 1989) popisují vzestup PCr a pokles Pi při perfuzi krysího močového s měchýře inzulinem.

Hodnota PDE se zvyšuje s věkem a odráží náhradu myofibril tukovou tkání (Kurkova D. et al., 1997). Hodnota PME je naopak vysoká v dětství a postupně klesá (McCully K. et al., 1999). Poměr PDE/PME koreloval v naší studii s váhou, C peptidem a TAG a zdá se tedy, že na koncentrace PDE a PME mají vliv i jiné faktory než pouze věk.

Závěr: U osob s predispozicí k rozvoji hypertenze je vyjádřen v porovnání se zdravými kontrolami určitý stupeň inzulinové rezistence. Hodnota sérového magnesia koreluje přímo se stupněm inzulinové senzitivity. Hodnota intracelulárního magnesia v kosterním svalu koreluje negativně pouze s vybranými ukazateli metabolického syndromu, nikoliv přímo s inzulinovou senzitivitou. Korelace mezi vybranými svalovými energetickými charakteristikami, výší krevního tlaku a parametry inzulinové senzitivity ukazuje na alteraci energetického metabolismu kosterního svalu ve spojení s rozvojem hypertenze a / nebo inzulinové rezistence.

4.2 STUDIE 2

Vliv telmisartanu na obsah intramyocelulárních lipidů u osob s poruchou lačné glykémie (příloha č. 2)

Rozvoj inzulinové rezistence je spojen s ektopickou akumulací tuků. Kosterní sval je jedním z orgánů, kde se inzulinová rezistence typicky projevuje a je zde provázána kumulací IMCL. Mechanismus, který je za ektopickou akumulaci lipidů zodpovědný, není přesně známý, ale pravděpodobně částečně souvisí s narušenou funkcí podkožní tukové tkáně. Dysfunkční tuková tkáň není schopna pojmout a zpracovat zvýšenou nabídku triglyceridů. Cirkulující triglyceridy vstupují do myocytů, a pokud je zde překročena mitochondriální oxidativní kapacita, dochází ke kumulaci lipidových kapének v cytoplazmě. Vazba ektopické akumulace IMCL na inzulinovou rezistenci je dlouhodobě známá (Jacob S. et al., 1999; Perseghin G. et al., 1999).

Telmisartan je blokátor receptoru pro angiotensin II. V literatuře je popisován pozitivní vliv blokády systému renin-angiotensin-aldosteron (RAS) na inzulinovou senzitivitu (Scheen A.J., 2004; McGuire D.K. et al., 2008; Das U.N., 2016). V tukové tkáni jsou exprimovány všechny komponenty systému RAS a po jeho blokádě dochází ke stimulaci adipogeneze (Sharma A.M., 2006; Kalupahana N.S. a Moustaid-Moussa N., 2012). Angiotenzin II je negativním regulátorem adipogeneze a jeho působení vede k tvorbě velkých dysfunkčních adipocytů, které jsou spojovány s IR a chronickým zánětem (Slamkova M. et al., 2016). Naopak plně funkční malé diferencované adipocyty jsou schopny kumulovat nadbytečné množství lipidů a brání tak jejich ektopickému ukládání.

Telmisartan funguje také jako parciální modulátor receptoru PPAR γ , který reguluje expresi řady genů zapojených do intermediárního metabolismu glukózy a lipidů a pozitivně tak ovlivňuje inzulinovou senzitivitu. PPAR γ je exprimován hlavně v tukové tkáni, kde reguluje adipogenní a lipogenní metabolické dráhy. Po stimulaci PPAR γ dochází k diferenciaci adipocytů z preadipocytů. Důsledkem je opět zvýšená kapacita tukové tkáně, která brání ektopické akumulaci lipidů (Monsalve F.A. et al., 2013). Osoby s dominantní negativní mutací v receptoru PPAR γ trpí parciální lipodystrofií, inzulinovou rezistencí a dalšími komponentami metabolického syndromu (Savage D.B. et al., 2003).

Naše skupina již u osob s poruchou lačné glykémie prokázala pozitivní vliv terapie telmisartanem na snížení lačné glykémie (Wohl P. et al., 2010; příloha č. 4). O efektu telmisartanu na ektopickou akumulaci lipidů doposud existuje v literatuře jen minimum údajů a nebyl zkoumán ve skupině osob s poruchou lačné glykémie. Cílem naší studie je vyhodnotit vliv telmisartanu na ektopickou akumulaci lipidů v kosterním svalu (m. tibialis anterior) v této skupině osob. Předpokládali jsme, že prokážeme korelaci mezi stupněm inzulínové senzitivity a kumulací IMCL. Dále jsme očekávali, že pozitivní vliv telmisartanu na diferenciaci podkožní tukové tkáně zprostředkovaný buďto inhibicí RAS nebo aktivací PPAR γ bude mít dopad i na redukci obsahu IMCL v kosterním svalu.

Charakteristika subjektů a schéma studie: Do studie bylo zařazeno 10 osob s metabolickým syndromem a poruchou lačné glykémie definovanými podle kritérií NCEP-ATPIII (Grundy S.M. et al., 2005). Antropometrické a metabolické charakteristiky jsou uvedeny v tabulce 4.2.1.

Tabulka 4.2.1: Charakteristika souboru

N	10
Věk (roky)	49,5 \pm 6,1
BMI (kg/m ²)	29,3 \pm 4,4
Obvod pasu (cm)	103,9 \pm 8,2
Systolický krevní tlak (mmHg)	134,0 \pm 12,6
Diastolický krevní tlak (mmHg)	90,0 \pm 10,8
HbA1c (mmol/mol) (IFCC)	37,8 \pm 3,6
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,70 \pm 0,93
HDL cholesterol (mmol/l)	0,99 \pm 0,12
LDL cholesterol (mmol/l)	3,61 \pm 0,91
Sérové triglyceridy (mmol/l)	2,55 \pm 1,56
Plasmatická glukóza 0min, oGTT (mmol/l)	6,08 \pm 0,36
Plasmatická glukóza 120min, oGTT (mmol/l)	6,90 \pm 2,0

Vysvětlivky: BMI, body mass index; oGTT, orální glukózový toleranční test; HbA1c, glykovaný hemoglobin, IFCC, kalibrace glykovaného hemoglobinu; HDL, high-density lipoprotein cholesterol; LDL, low-density lipoprotein cholesterol

Pacienti neužívali žádnou antidiabetickou medikaci, antihypertenzní terapie byla upravena během 4-týdenního úvodního období: inhibitory ACE a sartany byly vysazeny a v případě potřeby nahrazeny metabolicky neutrálními blokátory kalciových kanálů. Studie byla randomizovaná, placebem kontrolovaná, dvojitě zaslepená, cross-over se dvěmi

terapeutickými periodami. Po 4-týdenním vstupním období byli účastníci randomizováni k 3-týdennímu užívání 160mg telmisartanu (Micardis 80mg; Boehringer Ingelheim Pharma GmbH, Ingelheim am Rhein, Germany) nebo placebo. Po 2-týdenním vymývacím období byla léčba na další 3 týdny vyměněna. Na konci každého testovacího období byla provedena ¹H MRS m. tibialis anterior a 2-hodinový hyperinzulinový euglykemický clamp spolu s nepřímou kalorimetrií. Při vyšetření MRS byl hodnocen obsah IMCL (skupiny CH_{2i} a CH_{3i}) a obsah EMCL (skupiny CH_{2e} a CH_{3e}) a jejich vzájemné poměry.

Výsledky: Podávání telmisartanu neovlivnilo tělesnou hmotnost ($89,9 \pm 19,6$ vs $89,8 \pm 20,1$ kg; NS) ani systolický krevní tlak ($127,2 \pm 11,5$ vs $134,4 \pm 13,3$ mmHg; NS), ale vedlo ke snížení diastolického krevního tlaku ($81,7 \pm 7,5$ vs $90,0 \pm 10,9$ mmHg; $p = 0,03$) a lačné glykémie ($5,20 \pm 0,59$ vs $5,58 \pm 0,45$ mmol/l; $p = 0,04$). Výsledky clampového vyšetření byly srovnatelné včetně inzulínové senzitivity: MCR ($4,28 \pm 1,8$ vs $4,46 \pm 1,5$ ml/kg/min; NS) a *M* ($4,28 \pm 1,6$ vs $3,92 \pm 1,0$ mg/kg/min; NS). Kalorimetrické parametry jako je energetický výdej, respirační kvocient, utilizace substrátů a NEOX se také nelišily. Nebyly zaznamenány ani rozdíly v bazálních koncentracích plazmatických adipokinů (Tabulka 4.2.2). Podávání telmisartanu neovlivnilo obsah IMCL: CH_{2i} ($3,47 \pm 2,15$ vs $2,82 \pm 1,23$; NS) a CH_{3i} ($0,67 \pm 0,42$ vs $0,52 \pm 0,25$; NS) ani EMCL: CH_{2e} ($9,97 \pm 4,78$ vs $9,61 \pm 7,38$; NS) a CH_{3e} ($1,6 \pm 0,98$ vs $1,6 \pm 1,29$; NS). Poměr EMCL/IMCL se mezi skupinami nelišil. Poměr CH₂/CH₃ byl vyšší v extracelulárním kompartmentu po telmisartanu (CH_{2e}/CH_{3e} vs CH_{2i}/CH_{3i}: $6,66 \pm 1,4$ vs $5,45 \pm 1,21$; $p = 0,02$ i po placebo (CH_{2e}/CH_{3e} vs CH_{2i}/CH_{3i}: $6,42 \pm 1,53$ vs $5,53 \pm 0,82$; $p = 0,04$). Korelace mezi metabolickými a spektroskopickými ukazateli jsou uvedeny v tabulce 4.2.3.

Tabulka 4.2.2: Hladiny plazmatických adipokinů po telmisartanu a placebo

	TELMISARTAN	PLACEBO	VÝZNAMNOST
N	10	10	
Adiponektin (ug/ml)	$6,21 \pm 2,01$	$6,35 \pm 2,55$	NS
Leptin (ng/ml)	$16,36 \pm 6,59$	$13,94 \pm 5,22$	NS
TNF α (pg/ml)	$8,30 \pm 3,15$	$8,39 \pm 2,02$	NS
Resistin (ng/ml)	$3,2 \pm 1,03$	$2,95 \pm 0,91$	NS

Vysvětlivky: NS, není signifikantní

Tabulka 4.2.3: Korelace mezi vybranými metabolickými a spektroskopickými ukazateli po podávání placebo a telmisartanu

	TELMISARTAN CH _{2i}	TELMISARTAN CH _{3i}	PLACEBO CH _{2i}	PLACEBO CH _{3i}
BMI	+0,37	+0,59	+0,53	+0,42
CHOL	-	-	- 0,98 ***	- 0,86 **
TAG	+0,45	+0,48	- 0,1	+0,02
FFA	+0,39	+0,50	+0,21	+0,30
FPG	+0,18	+0,23	+0,76 *	+0,44
M	- 0,36	- 0,47	- 0,47	- 0,39
MCR	- 0,31	- 0,38	- 0,70 *	- 0,49
Adiponektin	- 0,60; p=0,07	- 0,54	- 0,77 *	- 0,70 *
Leptin	+0,25	+0,43	+0,47	+0,36
TNF α	+0,45	+0,65 *	+0,27	+0,23

Vysvětlivky: BMI, body mass index; CHOL, celkový cholesterol; TAG, sérové triglyceridy; FFA, volné mastné kyseliny; M, spotřeba glukózy během clampu; MCR, metabolická clearance glukózy během clampu

* p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001

Diskuse: Nezjistili jsme žádný vliv podávání telmisartanu na obsah IMCL v m. tibialis anterior u osob s poruchou lačné glykémie. Informací o působení sartanů na obsah IMCL je velmi málo, doposud byla publikována jen jedna studie – u osob s abdominální obezitou (z nichž mělo 15% poruchu glukózové tolerance nebo zvýšenou lačnou glykémii) nebyl popsán žádný vliv podávání 160mg telmisartanu po dobu 24 týdnů na obsah IMCL v m. soleus (Chetty V.T. et al., 2014).

Obsah IMCL odráží u osob se sedavým způsobem života stupeň inzulínové rezistence. Podávání sartanu v naší studii vedlo sice k poklesu lačné glykémie, ale neovlivnilo významně inzulínovou senzitivitu hodnocenou hyperinzulínovým clampem, jejíž jasné zvýšení by k redukci obsahu IMCL zřejmě bylo nutné. Přehledná práce autorů (Snel M. et al., 2012) hodnotící vliv dietních opatření na obsah IMCL popisuje redukci tohoto kompartmentu až při dosažení relativně velkého hmotnostního úbytku, přestože i menší pokles váhy vedl ke zlepšení inzulínové senzitivity. Podobně jsou známy výsledky studií, kdy podávání metforminu neovlivnilo obsah IMCL i přes jasný pozitivní vliv na inzulínovou senzitivitu (Tamura Y. et al., 2008; Huang Z. et al., 2013). Zdá se tedy, že IMCL představuje relativně stabilní metabolický kompartment a roli nemusí hrát jen samotná akumulace IMCL, ale i následná tvorba DAG a ceramidů, které negativně ovlivňují inzulínovou senzitivitu.

Telmisartan působí jako částečný PPAR γ agonista. PPAR γ ligandy ovlivňují podporou diferenciace tukových buněk redistribuci lipidů z ektopických lokalizací do adipocytů v

tukové tkáni. Dále byla na zvířecím modelu po podání telmisartanu v porovnání s losartanem a valsartanem popsána vyšší oxidace palmitátu v kosterním svalu a tato oxidace byla in vitro zablokována podáním PPAR γ antagonisty (Sugimoto K. et al., 2008). U glitazonů, které také stimulují PPAR γ receptor, byla popsána v případě pioglitazonu redukce obsahu IMCL spolu s vzestupem inzulínové senzitivity (Teranishi T. et al., 2007; Ravikumar B. et al., 2008; Bajaj M. et al., 2010; Rasouli N. et al., 2005). Podávání rosiglitazonu pacientům s diabetem 2. typu překvapivě nevedlo k poklesu IMCL i přes vzestup inzulínové senzitivity (Mayerson A.B. et al., 2002; Schrauwen-Hinderling V.B. et al., 2008). Zlepšení inzulínové senzitivity je pravděpodobně pro redukci obsahu IMCL podmínkou nutnou, ale nikoliv vždy postačující. Limitací naší studie bylo jen krátkodobé ovlivnění receptoru PPAR γ , které nemuselo být dostatečné pro dosažení maximálního efektu. V případě jiných ektopických lokalit (viscerální tuk) byla již redistribuce tukové tkáně po léčbě telmisartanem popsána (Chujo D. et al., 2007; Shimabukuro M. et al., 2007). Efekt telmisartanu byl výraznější než u valsartanu nebo losartanu (Murakami K. et al., 2013; Huang G.Z. et al., 2011).

Metabolismus IMCL mohou ovlivňovat ale také jiné mechanismy. Experimentální studie supiny autorů (Takeuchi K. et al., 2013) prokázala aktivační efekt telmisartanu na mitochondriální funkci v buňkách hladkého svalu, který nezávisel na stimulaci PPAR γ . Pokud by bylo podobné působení prokázáno i v kosterním svalu, mohlo by významným způsobem ovlivňovat oxidaci IMCL.

Jak bylo již výše uvedeno, aktivace PPAR γ vede k diferenciaci podkožní tukové tkáně, která svou zvýšenou kapacitou brání ektopické kumulaci lipidů. Podávání aktivátorů PPAR γ by mělo tedy vést k poklesu obsahu IMCL a naopak k absolutnímu nebo relativnímu vzestupu EMCL, které jsou analogické k podkožní tukové tkáni. Dvě studie s podáváním rosiglitazonu také tento přesun potvrdily (Mayerson A.B. et al., 2002; Godoy-Matos A.F. et al., 2010). Hodnota EMCL ani poměr EMCL/IMCL se v naší studii nelišil. Distribuce tukových buněk ve formě EMCL podél svalových vláken ale není homogenní a změřený obsah EMCL je na rozdíl od IMCL významně ovlivněn pozicí voxelu. Většina autorů v současné době absolutní hodnotu EMCL ani nehodnotí.

V naší studii jsme také hodnotili poměr CH₂/CH₃ v intracelulárním i extracelulárním kompartmentu. Z uvedeného poměru bychom mohli získat podrobnější informace o složení mastných kyselin tvořících IMCL a EMCL. Signál CH₃ odpovídá koncovým methylovým skupinám v řetězcích mastných kyselin a signál CH₂ odpovídá metylénům uvnitř řetězců. Rozlišovací schopnost magnetické rezonance při použití 1,5T nám bohužel neumožňuje věrohodně zachytit signál skupin –CH= obklopujících dvojnásobné vazby. Nejvíce zastoupené

masné kyseliny v lidském těle jsou kyselina palmitová, stearová a olejová s poměrem CH_2/CH_3 14, 16 a 14. Porovnání intenzit signálů CH_3 a CH_2 neodpovídá díky J modulačnímu efektu skutečnému fyziologickému poměru daných skupin, ale přesto složení řetězců mastných kyselin do určité míry odráží. Poměr CH_2/CH_3 v extracelulárním kompartmentu byl signifikantně vyšší po podávání telmisartanu i placebo a zdá se tedy, že v extracelulárním kompartmentu jsou obsaženy masné kyseliny s delším nebo vícenasyceným řetězcem. V literatuře je již popsána vazba mezi skladbou intramyocelulárních lipidů a inzulinovou rezistencí – skupina autorů (Manco M. et al., 2000) popisuje vyšší zastoupení saturovaných mastných kyselin u pacientů s vyšším stupněm inzulinové rezistence. Podobně je nižší procento polynenasycených mastných kyselin ve fosfolipidech v membránách myocytů spojováno s inzulinovou rezistencí (Borkman M. et al., 1993).

Po podání placebo bylo zachyceno několik signifikantních korelací mezi metabolickými a svalovými parametry. Zjistili jsme překvapivě velmi silnou negativní korelaci mezi IMCL (CH_2 i CH_3) a celkovým cholesterolem, ale nebyla zjištěna žádná korelace s hodnotou triglyceridů nebo volných mastných kyselin. Popsali jsme negativní korelaci mezi CH_2i a inzulinovou senzitivitou (MCR) podobně jako v literatuře (Jacob S. et al., 1999; Perseghin G. et al., 1999). Pozitivní korelace mezi CH_2i a lačnou glykemií podporuje existenci vazby mezi IMCL a inzulinovou rezistencí. Negativní korelace mezi IMCL (CH_2i i CH_3i) a adiponektinem je opět analogická k literárním údajům u obézních osob (Weiss R. et al., 2003; Koska J. et al., 2008) nebo potomků diabetiků (Perseghin G. et al., 2007). Negativní vazba mezi adiponektinem a obsahem IMCL je logická, protože adiponektin stimuluje v kosterním svalu oxidaci mastných kyselin (Liu Y. a Sweeney G., 2014). Po podávání telmisartanu jsme zjistili z původních korelací pouze trend k negativní vazbě mezi adiponektinem a CH_2i . Nově byla popsána pozitivní korelace mezi CH_3i a plazmatickou hodnotou $TNF\alpha$. Hodnota cholesterolu po léčbě telmisartanem nebyla zjišťována, ostatní vazby mezi IMCL, MCR a lačnou glykemií zmizely. Oxidace lipidů zjištěná nepřímou kalorimetrií nekorelovala s IMCL ani po léčbě placebem ani telmisartanem. Podle skupiny autorů (Lattuada G. et al., 2005) ovšem ani jasný vztah mezi celotělovou oxidací lipidů a oxidabilitou kompartmentu IMCL neexistuje.

Závěr: U osob s poruchou lačné glykémie se sedavým způsobem života jsme prokázali negativní vazbu mezi obsahem IMCL na jedné straně a inzulinovou senzitivitou, adiponektinem a celkovým cholesterolem na straně druhé. Hodnota lačné glykémie pozitivně korelovala s obsahem IMCL. Krátkodobé podávání telmisartanu nemělo žádný vliv na obsah

IMCL, přestože pozitivně ovlivnilo lačnou glykémii. Po léčbě telmisartanem ztratil IMCL kompartment svoji původní vazbu na některé parametry inzulinové senzitivity. Podávání telmisartanu zřejmě vedlo ke změně typických metabolických charakteristik IMCL. Pokles lačné glykémie po léčbě telmisartanem byl dosažen pozitivním ovlivněním jiných metabolických drah.

4.3 STUDIE 3

Vliv akutní hyperinzulinémie na mozkový metabolismus (příloha č. 3)

Inzulin nefunguje pouze jako regulátor energetického metabolismu v periferních tkáních, ale významnou roli hraje i v metabolismu centrální nervové soustavy (CNS). Mimo neurotropního a neuromodulačního působení v CNS je stěžejní úlohou mozkového inzulinu kontrola energetické bilance a příjmu potravy, kdy svým působením v hypotalamu moduluje periferní metabolické procesy a působí jako anorexigenní signál. Řada studií již prokázala na zvířecích modelech určitý stupeň inzulinové rezistence v centrálním metabolickém působení, které se projevuje zvýšeným příjmem potravy, rozvojem hypotalamického hypogonadismu, hypotermie, sníženou tvorbou bílé tukové tkáně, zvýšenou jaterní produkcí glukózy a sníženou systémovou odpovědí na hypoglykémii (Kleinridders A. et al., 2014). Není doposud známé, zda je mozková inzulinová rezistence primární příčinou rozvoje diabetu a obezity nebo se již jedná o důsledek patologických periferních procesů.

Definitivně také zatím není zodpovězena otázka, zda inzulin nějakým způsobem ovlivňuje transfer glukózy přes HEB a zda i zde hraje nějakou roli IR. Glukóza je základním energetickým substrátem pro neurony a její nepřetržitá dostupnost je nutná k udržení funkce mozkových buněk. Hladina glukózy v mozku je určována dodávkou krevním řečištěm, transportem přes HEB a dále metabolickým obratem v mozkové tkáni. Glukóza vstupuje do mozku přes HEB procesem facilitované difúze podle koncentračního gradientu. Transport glukózy je regulovaný prostřednictvím sítě GLUT transportérů, z nichž jednotlivé třídy mají různou distribuci, funkci i úroveň inzulinové senzitivity (McEwen B.S. a Reagan L.P., 2004). GLUT -1 transportér je hlavní izoformou glukózových transportérů v HEB, je přítomný na astrocytech a funguje nezávisle na účinku inzulinu. Transportéry GLUT-3 zajišťují uptake glukózy z intersticia do neuronů a jsou také inzulin-insenzitivní. V mozku jsou ale přítomné i transportéry GLUT 4, které jsou citlivé na inzulin a jsou lokalizované zejména v některých buňkách mozečku, hippocampu a hypotalamu (Banks W.A. et al., 2012). Ve většině studií nebyl zjištěn vyšší přestup glukózy přes HEB při fyziologické nebo lehce suprafyziologické inzulinémii (Eastman R.C. et al., 1990; Cranston I. et al., 1998; Hasselbalch S.G. et al., 1999; Seaquist E.R. et al., 2001) a transport glukózy přes HEB je hodnocen jako inzulin independentní. Vyšší akumulace glukózy v mozku po podání inzulinu byla ale již také

popsána (Hertz M.M. et al., 1981; Bingham E.M. et al., 2002; Anthony K. et al., 2006), recentní studie popisuje vyšší mozkový glukózový metabolismus při hyperinzulinémii jen u morbidně obézních osob (Tuulari J.J. et al., 2013).

Mnohaletá přítomnost diabetu vede k alteraci mozkového metabolismu a diabetická encefalopatie bývá v posledních letech řazena mezi pozdní komplikace diabetu. Jedná se o heterogenní jednotku, která je charakterizována humorálními, elektrofyziologickými a strukturálními změnami ve spojení s kognitivní dysfunkcí, depresivními a úzkostnými poruchami. Primární postižení je způsobené hyperglykemií a sníženým účinkem inzulínu. V patofyziologii hraje roli ovlivnění funkce CNS kumulací metabolitů glukózy. Vyskytuje se v závislosti na době trvání onemocnění a v konečné fázi vede k apoptóze neuronů. Sekundární postižení mozkové tkáně je důsledkem aterosklerotických změn mozkových cév a opakovaných hypoglykemických příhod. Dalšími faktory spolupodílejícími se na vzniku encefalopatie jsou oxidační stres, poruchy hematoencefalické bariéry, hyperosmolalita, ketoacidóza, neuroendokrinní a neurochemické změny (Gerozissis K., 2008; Banks W.A. et al., 2012; Brands A.M. et al., 2004).

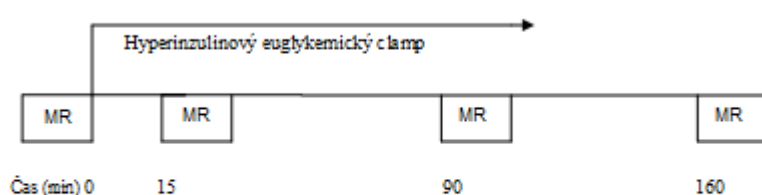
Postižení CNS zůstává u mnoha pacientů na subklinické úrovni a specifické vyšetřovací metody nejsou běžně užívané. Strukturální změny mozkové tkáně vázané na pokročilejší stádia diabetické encefalopatie jsou detekovatelné ve formě kortikální atrofie, lézí bílé hmoty a mozkových infarktů. Experimentální studie se snaží odhalit funkční nebo metabolické postižení mozkové tkáně ještě před vznikem ireverzibilních strukturálních změn a ¹H MRS je jednou z metod, která umožňuje měření koncentrace mozkové glukózy a dalších metabolitů odhalit doposud subklinická postižení spojená s diabetem.

Cílem naší studie bylo posoudit bazální abnormality mozkové tkáně zjištěné MRS a dále zhodnotit vliv akutní suprafyziologické hyperinzulinémie navozené in vivo clampem na mozkový metabolismus u osob s diabetem 1. typu, u kterých je také popisován určitý stupeň IR (Greenbaum C.J., 2002), a u zdravých kontrol. Vliv hyperinzulinémie na metabolismus CNS u zdravých osob v porovnání s diabetiky 1. typu doposud nebyl zkoumán. Předpokládali jsme, že hyperinzulinémie ovlivní transport glukózy přes HEB a vliv hyperinzulinémie bude odlišný mezi diabetiky a kontrolami. Očekávali jsme také, že hyperinzulinémie ovlivní i metabolismus dalších molekul zobrazitelných ¹H MRS. Předpokládali jsme rozdílné metabolické dopady podle úrovně inzulínové senzitivity.

Charakteristika subjektů a schéma studie: Do studie byla zařazena skupina diabetiků 1. typu (D) léčených buďto intenzifikovaným inzulínovým režimem nebo inzulínovou pumpou a

skupina zdravých kontrol (C) s negativním oGTT a s negativní rodinnou anamnézou diabetu. Klinické a biochemické charakteristiky obou skupin jsou uvedeny v tabulce 4.3.1. Celé vyšetření probíhalo v prostorách magnetické rezonance. Před zahájením clampu proběhla vstupní ¹H MRS parietální bílé hmoty. Hyperinzulinémie byla navozena clampem (2mU/kg/min; 5mmol/l; 3 hodiny). Během clampu byla provedena ještě další 3 spektra v trvání 18,5 minuty v časech 14, 87 a 158 minut (Obr 4.3.1)

Obrázek 4.3.1: Schéma studie:



Tabulka 4.3.1: Charakteristika souboru

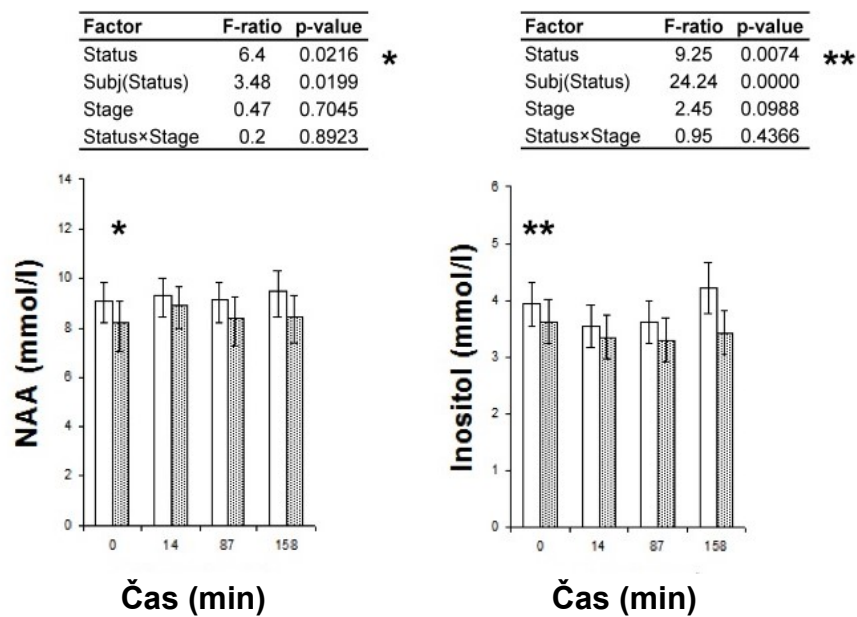
	DIABETICI	KONTROLY
N	4	4
Věk (roky)	24,0 ± 2,3	27,0 ± 2,2
Trvání diabetu (roky)	7,5 ± 4,7	/
BMI (kg/m ²)	23,7 ± 2,1	24,9 ± 3,8
WHR	0,83 ± 0,09	0,88 ± 0,04
HbA1c (mmol/mol) (IFCC)	51 ± 11	29 ± 5
Systolický TK (mmHg)	115,0 ± 4,1	118,3 ± 7,7
Diastolický TK (mmHg)	76,3 ± 4,8	75,5 ± 6,4
Cholesterol celkový (mmol/l)	4,4 ± 1,0	4,8 ± 0,6
HDL cholesterol (mmol/l)	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,2
LDL cholesterol (mmol/l)	2,6 ± 0,9	3,0 ± 0,9
TAG (mmol/l)	0,96 ± 0,4	0,78 ± 0,3
M (mg/kg/min)	8,66 ± 3,1	9,29 ± 3,0
MCR (ml/kg/min)	9,11 ± 3,2	9,49 ± 3,6

Vysvětlivky: BMI, body mass index; WHR, poměr pas-boky; HbA1c, glykovaný hemoglobin, IFCC, kalibrace glykovaného hemoglobinu; TK, krevní tlak; TAG, sérové triglyceridy; M, spotřeba glukózy; MCR, metabolická clearance glukózy

Výsledky: Bazální koncentrace několika metabolitů byla vyšší u C: N-acetylaspartát ($p = 0,02$), cholin ($p = 0,03$), kreatin ($p = 0,002$) a inositol ($p = 0,007$) (Obr. 4.3.2 a 4.3.3). Bazální koncentrace glukózy, GABA, glutaminu, glutamátu a laktátu byly srovnatelné. Po navození hyperinzulinémie zůstaly koncentrace cholinu, kreatinu, GABA, inositolu, laktátu a NAA stabilní po celou dobu clampu. Kompozitní signál glutamin/glutamát (Glx) zůstal také stabilní, ale dle analýzy dat v LCModelu došlo na konci clampu k vzestupu v koncentraci glutaminu ($p=0,04$) (Obr. 4.3.4) a byl zjištěn i trend k poklesu koncentrace glutamátu ($p=0,08$) (Obr. 4.3.5). Reakce na hyperinzulinémii byla uniformní v celém souboru ($n= 8$). Koncentrace glukózy během clampu byla velmi nízká, takže detekce signálu byla komplikovaná. Po navození hyperinzulinémie došlo v celém souboru k alteraci koncentrace glukózy ($p = 0,003$). Iniciálně lehce zvýšená koncentrace glukózy v D během clampu klesla. Vstupně nižší koncentrace glukózy v C po navození hyperinzulinémie stoupla (Obr. 4.3.5). Vliv hyperinzulinémie se mezi skupinami lišil ($p = 0,015$). Úroveň inzulinové senzitivity byla mezi skupinami stejná a na koncentraci mozkových metabolitů neměla vliv.

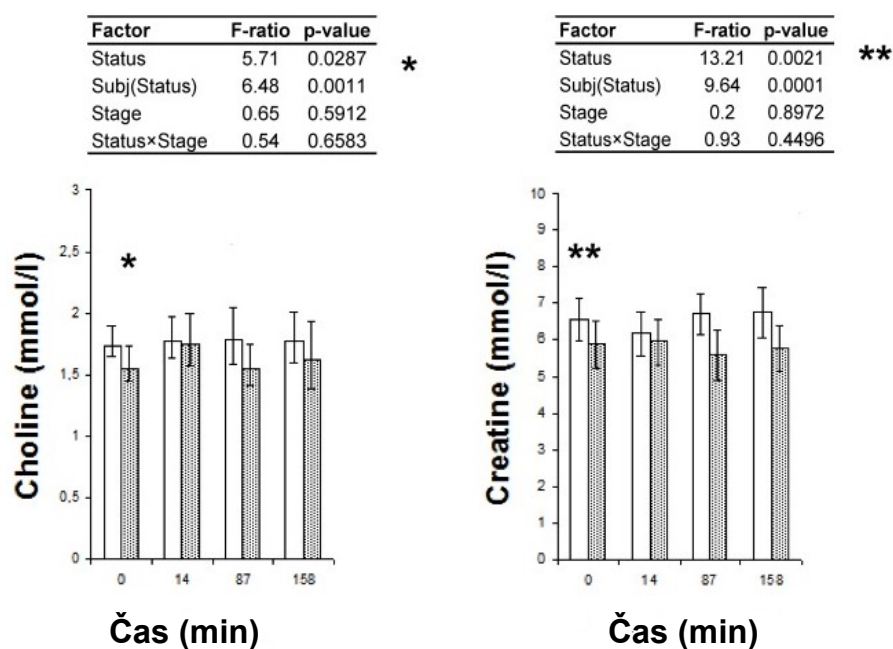
Obrázek 4.3.2: Koncentrace NAA (N-acetylaspartát + N-acetylaspartátglutamát) a inositolu v mozkové tkáni během hyperinzulinového clampu (časy 0, 14, 87 a 158 minut) ve skupině C (bílý sloupec) a D (šedý sloupec). Bílé a šedé sloupce představují retransformované střední hodnoty s 95% konfidenčními intervaly. Hodnota F odpovídá výsledku Fisherova testu. Hodnota P vyjadřuje statistickou významnost mezi bazálními koncentracemi ve skupině C a D.

* < 0.05; ** < 0.01



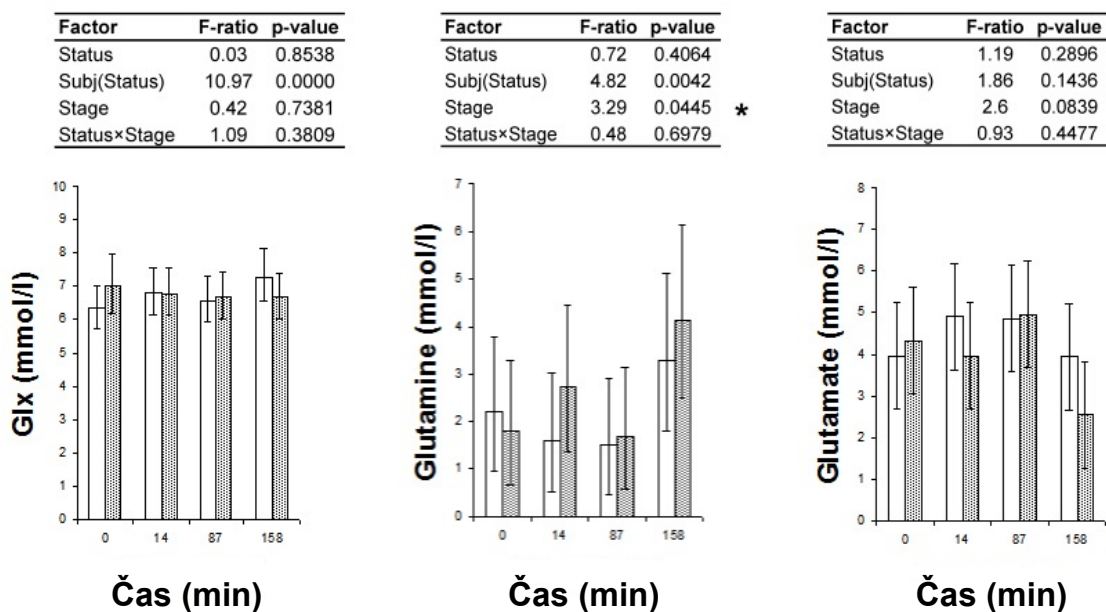
Obrázek 4.3.3: Koncentrace cholinu a kreatinu v mozkové tkáni během hyperinzulinového clampu (časy 0, 14, 87 a 158 minut) ve skupině C (bílý sloupec) a D (šedý sloupec). Bílé a šedé sloupce představují retransformované střední hodnoty s 95% konfidenčními intervaly. Hodnota F odpovídá výsledku Fisherova testu. Hodnota P vyjadřuje statistickou významnost mezi bazálními koncentracemi ve skupině C a D.

* < 0.05; ** < 0.01



Obrázek 4.3.4: Koncentrace Glx (kompozitní signál glutaminu a glutamátu), glutaminu a glutamátu v mozkové tkáni během hyperinzulinového clampu (časy 0, 14, 87 a 158 minut) ve skupině C (bílý sloupec) a D (šedý sloupec). Bílé a šedé sloupce představují retransformované střední hodnoty s 95% konfidenčními intervaly. Hodnota F odpovídá výsledku Fisherova testu. Hodnota P vyjadřuje statistickou významnost mezi bazální a stimulovanou hodnotou.

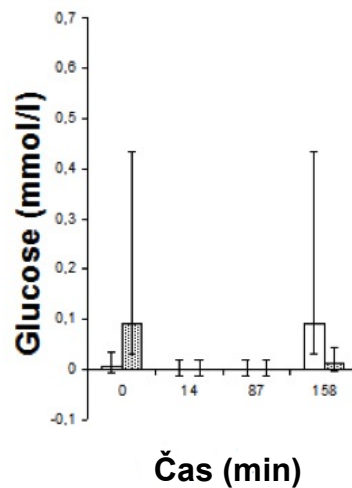
* < 0.05



Obrázek 4.3.5: Koncentrace glukózy v mozkové tkáni během hyperinzulinového clampu (časy 0, 14, 87 a 158 minut) ve skupině C (bílý sloupec) a D (šedý sloupec). Bílé a šedé sloupce představují retransformované střední hodnoty s 95% konfidenčními intervaly. Hodnota F odpovídá výsledku Fisherova testu. Hodnota P vyjadřuje statistickou významnost mezi bazální a stimulovanou hodnotou a rozdílnou reakci na hyperinzulinémií mezi C a D.

* < 0.05; ** < 0.01

Factor	F-ratio	p-value	
Status	0.02	0.8900	
Subj(Status)	1.5	0.2342	
Stage	6.61	0.0033	**
Status×Stage	4.56	0.0152	*



Diskuse: Bazálně jsme zjistili nižší koncentraci NAA, inositolu, cholinu a kreatinu ve skupině D. Velikost našeho souboru byla malá, ale řada již dříve publikovaných studií upozorňuje na rozdíly v bazální koncentraci vybraných metabolitů v mozkové tkáni mezi pacienty s diabetem a kontrolami. Naše výsledky odpovídají publikovaným pracím jen částečně. V naší studii byly k prezentaci výsledků používány absolutní koncentrace daných metabolitů v mmol/l získané pomocí LCModelu (LCMmodel web page). Většina publikovaných prací považuje signál kreatinu v mozkové tkáni za konstantní a k prezentaci hodnot používá poměry ke kreatinu. Koncentrace kreatinu se ale může za patologických okolností měnit (Govindaraju V. et al., 2000), což může výsledky uváděné formou poměrů zkreslovat. I v naší studii jsme zjistili nižší koncentraci kreatinu ve skupině D, což potvrzuje náš předpoklad.

Elevace inositolu (myoinositolu) byl u diabetiků obou typů v literatuře zmíněna již několikrát (Kreis R. a Ross B.D., 1992; Heikkila O. et al., 2009; Makimattila S. et al., 2004; Cameron F.J. et al., 2005; Sahin I. et al., 2008; Geissler A. et al., 2003). Z výše uvedených prací ale jen Mäkimattila, Kreis a Cameron porovnávají přímé intenzity signálu myoinositolu a nikoliv jen poměry k signálu kreatinu nebo vody. V naší studii jsme zjistili signifikantní pokles hodnoty jak myoinositolu tak kreatinu – pokud bychom k hodnocení použili poměr myoinositol/kreatin, nezjistili bychom mezi skupinami žádný rozdíl. Pokles koncentrace NAA odpovídá výsledkům z většiny publikovaných studií, ovšem většina autorů opět používala k hodnocení poměr NAA/kreatin (Kreis R. a Ross B.D., 1992; Heikkila O. et al., 2008; Sarac K. et al., 2005; Sahin I. et al., 2008; Wootton-Gorges S.L. et al., 2007). Data ohledně koncentrace cholinu nejsou tak jednoznačná – několik prací (Kreis R. a Ross B.D., 1992; Makimattila S. et al., 2004; Geissler A. et al., 2003 a Modi S. et al., 2008) popisuje elevaci cholinu v bílé i šedé hmotě mozkové u diabetiků obou typů a dokonce i u pacientů s poruchou glukózové tolerance (Sahin I. et al., 2008). Oproti tomu jiná práce (Sarac K. et al., 2005) popisuje nižší hladinu cholinu v parietální bílé hmotě u dětí se špatně kontrolovaným diabetem.

Po navození hyperinzulinémie zůstaly koncentrace cholinu, kreatinu, inositolu a NAA stabilní. Intenzita kompozitního signálu Glx (glutamát + glutamin) zůstala také stejná, ale u signálu glutaminu došlo k signifikantnímu vzestupu a u signálu glutamátu byl v průběhu clampu zjištěn trend k poklesu koncentrace. Vývoj koncentrací glutaminu a glutamátu byl stejný v celém souboru bez ohledu na diagnózu diabetu. Kvalita rozlišení těchto metabolitů je ovšem při měření 1,5T limitovaná.

Hyperinzulinémie měla rozdílný vliv na koncentraci mozkové glukózy u diabetiků a u kontrol. Koncentrace glukózy v mozku se ovšem blíží 1 mmol/l, což omezuje možnosti rozlišení jejího signálu při používání 1,5T skeneru. Bazálně byla zjištěna lehce zvýšená hodnota u diabetiků, která v průběhu clampu klesla. U kontrol oproti tomu byla vstupně nižší koncentrace glukózy, která během clampu stoupla. Stupeň inzulínové senzitivity v naší studii výsledky neovlivnil, ale hodnoty M a MCR byly v obou skupinách srovnatelné a pohybovaly se v úzkém rozmezí. Vyšší bazální koncentrace mozkové glukózy u diabetiků je v souladu s doposud publikovanými daty (Kreis R. a Ross B.D., 1992; Makimattila S. et al., 2004; Heikkilä O. et al., 2009). Skupina autorů (Sequist E.R. et al., 2001) popsala lineární vztah mezi plazmatickou a cerebrální hladinou glukózy pro rozmezí plazmatické glykémie 5-24 mmol/l a plazmatická glykémie byla u subjektů ve skupině D před zahájením clampu skutečně o 2,6 mmol/l vyšší. Hladina glukózy v mozku je výslednicí dodávky krevním řečištěm, transportu přes HEB (který závisí na rychlosti difúze podle koncentračního gradientu a případném vlivu inzulínu) a rychlosti jejího dalšího metabolismu. Otázka, zda ovlivňuje inzulín přestup glukózy přes HEB a její další metabolismu, doposud nebyla definitivně objasněna.

Doposud provedené MRS studie zkoumající přímý vliv inzulínu na přestup glukózy přes HEB přinášejí negativní výsledky (Sequist E.R. et al., 2001). Při vyšetření MRS je ale měřena pouze aktuální koncentrace nativní glukózy v mozku. V případě, že by část glukózy byla po přestupu HEB ihned zmetabolizována, nebylo by možné tento rozdíl za pomoci MRS zjistit. PET studie umožňují kvantifikovat celkové množství značené glukózy, která přestoupí HEB bez ohledu na její další metabolický osud. Bylo publikováno několik studií, které považují přestup glukózy přes HEB za alespoň částečně inzulínsenzitivní. Podle skupin autorů (Bingham E.M. et al., 2002) a (Anthony K. et al., 2006) je asi 15-20% klidového mozkového metabolismu glukózy inzulínsenzitivní. Recentní PET studie připouští zvýšení mozkového metabolismu glukózy při hyperinzulinémii jen u morbidně obézních osob (Tuulari J.J. et al., 2013). Jiné PET studie uvedené výsledky nepotvrdily, ale popisují při infúzi inzulínu zvýšenou rychlost defosforylace glukózy (Eastman R.C. et al., 1990; Hasselbalch S.G. et al., 1999), takže hyperinzulinémie patrně nějakým způsobem opravdu ovlivňuje mozkový metabolismus.

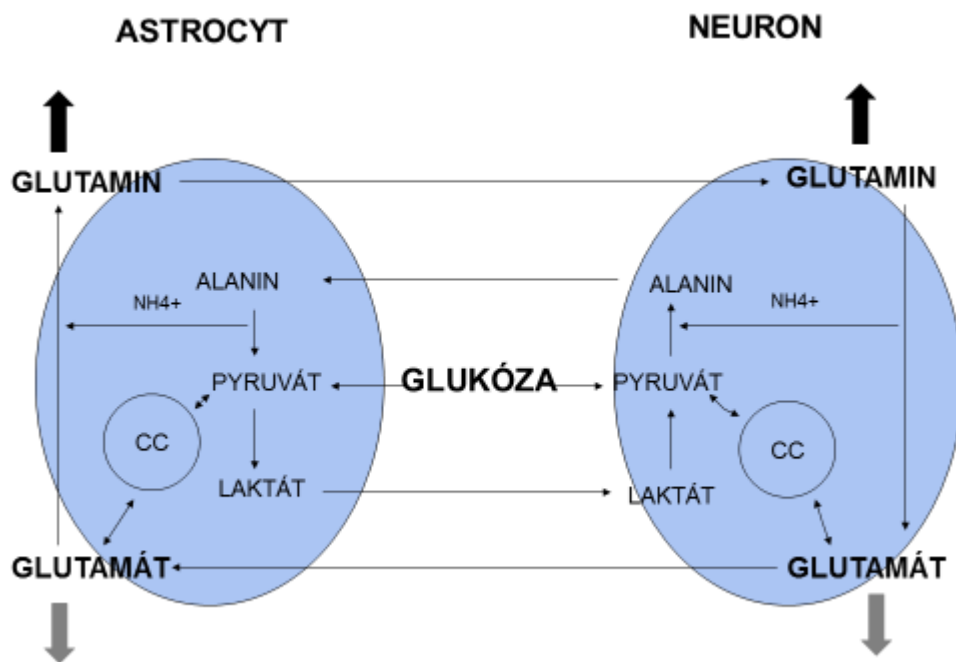
Po přechodu přes HEB vstupuje glukóza buďto do neuronů nebo astrocytů. Astrocyty neurony početně výrazně převyšují a jsou hlavním místem její další přeměny. Většina glukózy je rychle zmetabolizována k zajištění produkce ATP. Prvním krokem je glykolytická konverze na pyruvát, který buďto vstupuje do citrátového cyklu nebo podléhá transaminaci za vzniku

alaninu. V citrátovém cyklu a následných metabolických pochodech je z glukózy tvořena i řada dalších aminokyselin, hlavními jsou neurotransmitery glutamát, glutamin, GABA a aspartát. V citrátovém cyklu se z alaninu tvoří alfa-ketoglutarát, který může být následně transformován na glutamát. Glutamát pak vstupuje do glutamin-glutamátového cyklu nebo podléhá transaminaci zpět na alanin a uzavírá tak metabolický cyklus (Obr. 4.3.6). Při sledování glukózy značené izotopem ^{13}C bylo na zvířecích modelech potvrzeno, že po přestupu HEB je inkorporována do aminokyselin N-acetylaspartátu, glutamátu, glutaminu, GABA, alaninu a laktátu (Kanamatsu T. a Tsukada Y., 1994; Tyson R.L. a Sutherland G.R., 1998; Qu H. et al., 2000). Glukóza může být také skladována v astrocytech ve formě mozkového glykogenu. Ukládání mozkové glukózy ve formě glykogenu je přímo podporováno inzulinem, což bylo potvrzeno na zvířecím modelu za pomoci infúze značené ^{13}C glukózy (Choi I.Y. et al., 2003).

Je otázkou, zda se případný zvýšený přestup glukózy přes HEB může odrazit ve změně koncentrací jiných metabolitů, které jsou z ní tvořeny. V naší studii došlo po navození hyperinzulinémie k alteraci koncentrací glutaminu a glutamátu. Naše výsledky vzhledem k nižší přesnosti měření při použití 1,5T nejsou definitivní, ale ukazují na možnosti dalšího zkoumání nepřímých vlivů inzulinu na mozkový metabolismus. Alternativním vysvětlením může být změna aktivity neuronů indukovaná inzulinem, která by se projevila změnou koncentrací určitých neurotransmiterů. Je známo, že inzulin moduluje aktivitu inhibičních a excitačních receptorů jako jsou receptory pro glutamát a GABA (Zhao W.Q. et al., 2004).

Závěr: V naší studii jsme potvrdili rozdíl v bazálních koncentracích vybraných metabolitů (NAA, cholin, inositol, kreatin) v mozkové tkáni mezi diabetiky 1. typu a kontrolami, což potvrzuje negativní ovlivnění mozkového metabolismu přítomností diabetu. Prokázali jsme vliv hyperinzulinémie na změnu mozkové koncentrace glukózy, glutaminu a glutamátu (trend), což jsou neurotransmitery syntetizované přímo z glukózy. Do budoucna bude potřeba doplnit studie na větším souboru pacientů a na modernějších MR přístrojích. Zdá se ale, že transfer nebo metabolismus glukózy v mozku je nějakým způsobem ovlivňován inzulinem a to u diabetiků 1. typu i u zdravých kontrol. Inzulin může přímo zvyšovat přestup glukózy přes HEB nebo může ovlivňovat aktivitu neuronů, která se pak odrazí ve změnách koncentrací neurotransmiterů glutaminu a glutamátu.

Obrázek 4.3.6: Schéma glutamáto-glutaminového cyklu mezi astrocyty a neurony (upraveno podle Zwingmann C. et al., 2000). Šipkami jsou označeny změny koncentrací zjištěné v naší studii (vzestup koncentrace glutaminu a trend k poklesu koncentrace glutamátu)



5. SOUHRNNÁ DISKUSE

Diabetes mellitus 2. typu představuje jeden z klíčových rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění, která v rozvinutých zemích představují hlavní příčinu morbidity a mortality (Paneni F. et al., 2014; Zhang P.Y., 2014). Inzulinová rezistence je silným prediktorem pozdějšího rozvoje T2DM a rozvíjí se v řadě orgánů jako je kosterní sval, jaterní a tuková tkáň, myokard a CNS (Pelikanova T., 2014). Primární příčina IR není známá, ale víme, že manifestaci T2DM předchází o řadu let a právě v této fázi existuje největší šance na dosažení zvratu v nepříznivém metabolickém vývoji. Identifikace osob s rizikovým fenotypem a možnost ovlivnit iniciální patofyziologické pochody zodpovědné za rozvoj IR by tak mohla dramaticky omezit negativní dopady pozdějšího vzniku diabetu.

Dopady IR jsou běžně detekovány laboratorními metodami a jsou dobře prokázány změny v koncentracích vybraných biochemických parametrů, adipokinů nebo gastrointestinálních peptidů ve vazbě na sníženou účinnost inzulinu. Zobrazovací metody v minulosti nikdy primárně nesloužily k detekci časných fází IR, využívány byly až k diagnostice mikrovaskulárních a makrovaskulárních komplikací diabetu. Až metody jako je celotělová denzitometrie, CT nebo MRI přinesly možnost přesného posouzení distribuce tukové tkáně v těle a odhalily rizikovost kumulace metabolicky aktivního viscerálního tuku (Thomas E.L. et al., 2013). Další modernější zobrazovací metody jako je PET, fMRI nebo MRS dále rozšířily spektrum našich vyšetřovacích možností a umožnily nám přímo sledovat biochemické procesy probíhající ve vybraných tkáních hrajících klíčovou roli v metabolismu glukózy in vivo.

Cílem naší práce bylo přispět k pochopení patofyziologie vzniku inzulinové rezistence u osob v preklinické fázi onemocnění s využitím současných diagnostických možností magnetické rezonance spektroskopie. Záměrem bylo popsat u zkoumaných subjektů antropometrické a biochemické charakteristiky, přesně kvantifikovat stupeň inzulinové senzitivity metodou hyperinzulinového euglykemického clampu a detekovat subklinické metabolické odchylky zobrazitelné in vivo s pomocí MRS. V našich studiích jsme použili dvě nejběžnější vyšetřovací modalitty – fosforovou a vodíkovou spektroskopii. Subklinické projevy IR jsme zkoumali v kosterním svalu – orgánu typicky spojovaném s důsledky snížené funkce inzulinu - a dále v mozkové tkáni, jejíž role v patogenezi IR je objevována teprve v posledních letech. Kosterní svaly hrají klíčovou roli v postprandiální inzulinem stimulované clearance glukózy. IR v kosterním svalu se projevuje sníženou spotřebou glukózy, která vede k postprandiální hyperglykémii a následně k rozvoji diabetu 2. typu. Typickým znakem rezistentních myocytů

u osob se sedavým způsobem života je kumulace IMCL. Zvýšený obsah lipidů koreluje s IR již v preklinických fázích onemocnění, jak prokázaly studie u potomků osob s T2DM (Jacob S. et al., 1999; Perseghin G. et al., 1999). Před zavedením MRS do klinické praxe byla prakticky jedinou metodou vhodnou k jejich kvantifikaci svalová biopsie, která je samozřejmě invazivní a neumožňuje vždy spolehlivé rozlišení IMCL a EMCL. Přes mnoho let zkoumání není doposud jasné, zda kumulace IMCL představuje příčinu IR nebo zda se jedná jen o důsledek probíhající patologie. Již je prokázáno, že za zvýšenou kumulaci je zodpovědná zvýšená nabídka plazmatických mastných kyselin (Brechtel K. et al., 2001a; Bachmann O.P. et al., 2001; Boden G. et al., 2001). Dalším faktorem ovlivňujícím kumulaci IMCL je snížená schopnost jejich metabolizace. Za odbourávání mastných kyselin procesem betaoxidace se souběžnou produkcí energie jsou zodpovědné mitochondrie. Mitochondriální dysfunkce v buňkách kosterního svalu provází IR i T2DM (Kelley D.E. et al., 2002; Schrauwen P. et al., 2010; Di Meo S. et al., 2017) a opět není jasné, zda se jedná o primární příčinu rozvoje diabetu a kumulace IMCL nebo zda se jedná o důsledek toxického působení lipidových meziproductů a kyslíkových radikálů vznikajících právě při hromadění IMCL.

Energie uvolněná při zpracování mastných kyselin v mitochondriích je vázána v makroergních fosfátových vazbách a právě změny koncentrací makroergních fosfátů detekovatelné ^{31}P MRS mohou nepřímo na mitochondriální dysfunkci ukazovat. Podobně jako v případě IMCL i zde již byl za pomoci ^{31}P MRS prokázán určitý stupeň mitochondriální dysfunkce ve vazbě na IR u potomků diabetiků (Petersen K.F. et al., 2004; Petersen K.F. et al., 2005b). Provázanost metabolismu IMCL a svalových mitochondrií přímo potvrzuje experimentální zvířecí studie, kdy léčba etoximirem s blokádou vstupu mastných kyselin do mitochondrií vedla k vzestupu IMCL a paralelnímu poklesu inzulinové senzitivity (Dobbins R.L. et al., 2001). Spektroskopické studie autorů (Brehm A. et al., 2006; Brehm A. et al., 2010) prokázaly sníženou tvorbu ATP v kosterním svalu po navození chronické, ale nikoliv akutní elevace FFA.

V naší první studii jsme se zaměřili na hodnocení energetického metabolismu kosterního svalu (m. soleus) za pomoci ^{31}P MRS u mladých zdravých osob, které měly v rodinné anamnéze výskyt arteriální hypertenze. Arteriální hypertenze se typicky vyskytuje v clusteru s dalšími abnormalitami v rámci metabolického syndromu a potomci hypertoniků představují jednu ze skupin osob, u kterých máme příležitost studovat preklinické fáze onemocnění. V našem souboru pacientů jsme dle očekávání v porovnání se zdravými kontrolami prokázali vyšší stupeň inzulinové rezistence (nižší hodnota $\sum\text{M/I}$ během hyperinzulinového clampu; vyšší hodnota $\sum\text{C}$ peptidu a trend k vyšší hodnotě $\sum\text{IRI}$ během oGTT). Při hodnocení

energetického metabolismu jsme nezjistili rozdíly v bazálních klidových koncentracích svalových makroergních fosfátů (i když poměr $P_i/\beta\text{ATP}$ byl ve skupině OH hraničně vyšší). Poměr $P_i/\beta\text{ATP}$ vykazoval i nejsilnější korelace s vybranými parametry inzulínové rezistence ($\Sigma\text{C}_{\text{pep}}$ z oGTT, ΣIRI z oGTT, obvod pasu) i hodnotou systolického a diastolického krevního tlaku. Signál βATP odráží nejpřesněji koncentraci svalového ATP, signál P_i odpovídá volným fosfátům uvolněným při rozkladu ATP. Vyšší poměr $P_i/\beta\text{ATP}$ tedy odráží vyšší konzumaci ATP se zvýšenou produkcí anorganického fosfátu. Svalová buňka rezistentních osob vykazuje patrně sníženou schopnost resyntetizovat potřebné množství ATP. Příčinou může být nižší přestup substrátů (glukózy) do rezistentního myocytu nebo určitá forma mitochondriální dysfunkce. Zátěžovou situaci se zvýšenými požadavky na myocytární energetiku může představovat právě rozvíjející se arteriální hypertenze. Současně zjištěná pozitivní korelace mezi poměrem $\text{PCr}/\beta\text{ATP}$ a parametry inzulínové senzitivity ($\Sigma\text{C}_{\text{pep}}$, ΣIRI , hmotnost a BMI) opět ukazuje na možnost nižší produkce ATP ve vazbě na IR, může zde ale ukazovat i na vyšší koncentraci zásobní energetické molekuly fosfokreatinu. Limitací při hodnocení klidových fosforových spekter je fakt, že máme k dispozici pouze intenzity signálů daných molekul, nikoliv jejich přímé koncentrace, a k hodnocení používáme vzájemné poměry daných intenzit signálů. Interpretace vztahů mezi těmito poměry a parametry IR není tedy vždy jednoznačná.

Jak již bylo výše zmíněno, nižší mitochondriální oxidativní kapacita je na základě vyšetření ^{31}P MRS popisována u diabetiků 2. typu (Szendroedi J. et al., 2007; Schrauwen-Hinderling V.B. et al., 2007; Wu F.Y. et al., 2012) i jejich inzulínrezistentních potomků (Petersen K.F. et al., 2004; Petersen K.F. et al., 2005b). Ne všechny práce ale při vyšetření ^{31}P MRS sníženou svalovou mitochondriální kapacitu u diabetiků 2. typu potvrzují (De Feyter H.M. et al., 2008; Bajpeyi S. et al., 2011). I u osob s juvenilní hypertenzí byly popsány abnormality v koncentracích makroergních fosfátů v kosterním svalu (Hajek M. et al., 2002), další data u hypertenzních osob nejsou k dispozici. Ideální by bylo u potomků hypertoniků doplnění zátěžové studie se sledováním rychlosti obnovení poolu fosfokreatininu po fyzické zátěži, které by nám mohlo podat další informace o svalové mitochondriální kapacitě.

Naším primárním záměrem v této studii nebylo hodnotit vliv koncentrací iontů na arteriální hypertenzi a IR, ale z chemického posunu mezi signálem αATP a βATP je možné dopočítat i koncentraci intracelulárního magnesia (Gupta R.K. et al., 1978; Bock J.L. et al., 1985). Hypomagnesemie je popisována u osob s manifestním diabetem (Gommers L.M. et al., 2016). V našem souboru jsme rozdíl v koncentracích Mgi ještě neprokázali, ale již zde jsme zachytili negativní korelaci mezi koncentrací Mgi a obvodem pasu a Mgi a celkovým cholesterolem.

Koncentraci sérového ionizovaného magnesia k porovnání nemáme k dispozici. Hodnota celkového sérového magnesia se mezi skupinami nelišila a byla ve fyziologickém rozmezí, ale silná korelace mezi MgS a inzulínovou senzitivitou potvrdila důležitou roli, kterou hraje magnesium v udržování glukózové homoestázy (Gommers L.M. et al., 2016).

Naše druhá studie byla zaměřena na hodnocení metabolismu IMCL za pomoci ¹H MRS. Záměrem bylo kvantifikovat obsah IMCL v m. tibialis anterior u osob metabolickým syndromem a poruchou lačné glykémie se sedavým způsobem života. Vazba mezi množstvím IMCL a parametry inzulínové senzitivity v této skupině osob ještě nebyla zkoumána. Potvrdili jsme, že i u osob s poruchou lačné glykémie (a tedy s předpokládanou převažující hepatální IR) vykazuje kompartment IMCL stejné charakteristiky jako u jiných skupin v preklinických fázích diabetu stran negativní korelace s inzulínovou senzitivitou (Jacob S. et al., 1999; Perseghin G. et al., 1999) i s adiponektinem (Perseghin G. et al., 2007). Popsali jsme i velmi silnou negativní korelaci mezi IMCL a celkovým cholesterolem, nebyla ale zjištěna žádná vazba mezi IMCL a hodnotou triglyceridů nebo volných mastných kyselin. Výsledek je překvapivý, protože mezi základní charakteristiky metabolického syndromu patří elevace triglyceridů a volných mastných kyselin a nejsou popisovány vazby k celkové cholesterolémii. Korelace mezi vyšší lačnou glykémií, která odráží spíše hepatální složku IR, a IMCL potvrdila komplexnost metabolických vztahů při poruše účinku inzulínu. Vazba mezi zvýšeným obsahem IMCL a sníženou citlivostí na inzulín u osob se sedavým způsobem života je již natolik přesvědčivá, že ¹H MRS kosterního svalu by mohla být používána jako screeningová metoda k identifikaci rizikových osob nebo k posuzování efektu režimových opatření u těchto subjektů.

Dalším cílem studie bylo testovat vliv podávání telmisartanu na změnu parametrů inzulínové senzitivity a na obsah IMCL. Telmisartan pozitivně ovlivňuje inzulínovou senzitivitu a naše předchozí práce již popsala v této skupině osob vliv na snížení lačné glykémie i na inzulínem stimulovaný adipokinový profil (Wohl P. et al., 2010). Telmisartan blokuje systém RAS mimo jiné i v tukové tkáni, kde následně dochází ke stimulaci adipogeneze (Sharma A.M., 2006; Kalupahana N.S. a Moustaid-Moussa N., 2012; Slamkova M. et al., 2016) s tvorbou malých funkčních adipocytů, které jsou schopny vychytávat nadbytečné volné mastné kyseliny z cirkulace a bránit tak jejich ektopické kumulaci ve formě IMCL. Telmisartan působí i jako parciální modulátor receptoru PPAR γ , který také stimuluje adipogenezi a zvýšená kapacita tukové tkáně by opět měla bránit ektopické akumulaci lipidů (Monsalve F.A. et al., 2013). Předpokládali jsme, že tento synergický duální efekt telmisartanu na diferenciaci podkožní tukové tkáně by měl omezit ektopickou kumulaci tuků a vést tak i ke

snížení obsahu IMCL v buňkách kosterního svalu. Vliv telmisartanu na ektopickou kumulaci lipidů byl doposud zkoumán jen minimálně a to s negativním výsledkem u osob s abdominální obezitou (Chetty V.T. et al., 2014).

Po třítydenním podávání telmisartanu v dávce 160mg denně jsme nezjistili žádný vliv na obsah IMCL v m. tibialis anterior u osob s poruchou lačné glykémie. Náš výsledek potvrzuje závěry výše uvedené práce (Chetty V.T. et al., 2014). Klíčovou roli hrál patrně fakt, že během naší studie nedošlo k přímému ovlivnění inzulinové senzitivity hodnocené clampem, byť po intervenčním období došlo k poklesu lačné glykémie. Je také možné, že doba podávání telmisartanu byla příliš krátká a že k plnému rozvinutí jeho efektu by došlo až po delší době podávání. Po léčbě telmisartanem došlo ale pravděpodobně k alteraci metabolických charakteristik kompartmentu IMCL. Z původně popisovaných korelací jsme zjistili jen trend k negativní vazbě mezi IMCL a adiponektinem, korelace mezi IMCL a inzulinovou senzitivitou ani lačnou glykémií již nebyla signifikantní. Nově byla popsána korelace mezi IMCL a TNF α . Hodnota celkového cholesterolu po podávání telmisartanu nebyla bohužel zjišťována.

Zdá se tedy, že při vzniku svalové IR nehraje roli jen množství IMCL, ale i metabolické vlastnosti tohoto kompartmentu. Roli by mohlo hrát i složení mastných kyselin, které dle řady prací ovlivňuje stupeň IR (Borkman M. et al., 1993; Manco M. et al., 2000; Pelikanova T., 2014). Naše studie jako vedlejší nález prezentuje odlišné poměry CH₂/CH₃ v intracelulárním a extracelulárním kompartmentu svalových buněk, což je nepřímý ukazatel odlišného složení mastných kyselin v těchto kompartmentech. Poměr CH₂/CH₃ extracelulárně byl signifikantně vyšší po podávání telmisartanu i placebo a zdá se tedy, že jsou zde skladovány mastné kyseliny s delším nebo vícenasyceným řetězcem. Význam tohoto nálezu je zatím nejasný, k dalšímu zkoumání složení mastných kyselin v IMCL by bylo vhodné vyšetřování ¹H MRS s vyšší rozlišovací schopností (tj. alespoň 3T) s možností rozlišení atomů vodíků navázaných kolem dvojných vazeb (-CH=) nebo využití uhlíkové spektroskopie. Pozitivní efekt telmisartanu na glukózový metabolismus (Scheen A.J., 2004; McGuire D.K. et al., 2008; Das U.N., 2016) je mediován jiným způsobem než redukcí ektopické akumulace tuků.

Obě naše studie potvrdily klíčovou roli, kterou hraje kosterní sval a jeho metabolismus v rozvoji IR a to již v preklinických stádiích onemocnění. Zjištěná alterace se týkala jak energetického metabolismu myocytů v případě potomků hypertoniků, tak zvýšené kumulace IMCL u osob s metabolickým syndromem a poruchou lačné glykémie. Energetický metabolismus myocytů s kumulací IMCL přímo souvisí a ideální vyšetřovací metodou by bylo souběžné provádění vodíkové a fosforové spektroskopie u jedné skupiny osob nejlépe v rámci dynamických studií hodnotících různé druhy intervencí. Tyto kombinované studie jsou

technicky i časově náročnější, mají ovšem větší potenciál přispět k odpovědi na otázku, zda je za vznik IR v kosterním svalu primárně zodpovědná mitochondriální dysfunkce, kumulace IMCL nebo se jedná o důsledek jiných patofyziologických mechanismů.

Metabolismus kosterního svalu je v souvislosti s IR zkoumán již desítky let. Naproti tomu úloha mozkové tkáně v rozvoji IR je odhalována až v posledních letech a proto jsme náš výzkum zaměřili i tímto směrem. Mozek je centrálním orgánem kontrolujícím energetickou homeostázu organismu. Mозková tkáň byla tradičně považována za orgán inzulin-insenzitivní, ale inzulinové receptory jsou v CNS přítomny difuzně s největší četností v hypotalamu a v čichovém laloku, kde ovlivňují energetickou bilanci a tělesnou váhu, a dále v hippocampu a temporálním laloku s vlivem na modulaci kognitivních funkcí (Banks W.A. et al., 2012; Kleinridders A. et al., 2014). V posledních letech bylo publikováno několik prací, které prokazují rozdílné (a většinou snížené) působení inzulinu v některé z výše uvedených oblastí u osob s obezitou, IR nebo diabetem (Tschritter O. et al., 2006; Hallschmid M. et al., 2008; Tschritter O. et al., 2009; Guthoff M. et al., 2011; Hirvonen J. et al., 2011; Heni M. et al., 2014). Nepřímé důkazy o mozkové IR byly zjištěny i ve spektroskopických studiích (Karczewska-Kupczewska M. et al., 2013; Emmanuel Y. et al., 2013).

Vazba mezi centrální a periferní IR tedy existuje, ale opět není objasněna otázka, zda rozdílné centrální působení inzulinu u těchto osob je zodpovědné za rozvoj onemocnění nebo zda se jedná již o důsledek probíhající patologie. Spotřeba glukózy mozkem je nejvyšší ze všech orgánů lidského těla a vzhledem k faktu, že jsou zde přítomny i glukózové transportéry GLUT 4, které jsou citlivé na inzulin (Banks W.A. et al., 2012), nabízí se otázka, zda se IR nemůže projevit i v přestupu glukózy do CNS.

Detekovat IR v mozkové tkáni je složitější než v periferních orgánech, řada současných poznatků, které o centrálním působení inzulinu máme, pochází pouze ze zvířecích studií. Metody funkčního zobrazování umožňují provádět výzkum mozkové IR i u lidí. ¹H MRS nám umožňuje sledování mozkové koncentrace glukózy i dalších metabolitů obsahujících vodíkové atomy, z nichž některé navíc z glukózy přímo vznikají (Govindaraju V. et al., 2000). Problémem u současných přístrojů s nižší rozlišovací schopností je určitá nespecifičnost vyšetření, kdy je nutné hodnotit koncentrace daných látek ve větším objemu tkáně a není zatím možné se přímo zaměřit na mozková jádra kontrolující energetickou bilanci a příjem potravy.

V naší třetí studii jsme se zaměřili na zkoumání vlivu suprafyziologické hyperinzulinémie na parietální bílou hmotu u osob s diabetem 1. typu v porovnání se zdravými kontrolami. Náš projekt byl zamýšlen jako pilotní a vzhledem k technické náročnosti vyšetření prováděného

přímo v prostorách magnetické rezonance a k vysokému stupni nepohodlí pro zkoumané subjekty jsme jako cílovou skupinu vybírali mladé dobrovolníky a věkově odpovídající pacienty s diabetem 1. typu. U pacientů s diabetem 1. typu je také popisován určitý stupeň inzulinové rezistence (Greenbaum C.J., 2002) a očekávali jsme tedy, že u této skupiny pacientů bychom po navození suprafyziologické hyperinzulinémie mohli v porovnání se zdravými kontrolami zaznamenat rozdíly v přestupu glukózy přes HEB nebo v jejím dalším metabolismu v CNS. Ve skupině diabetiků jsme v mozkové tkáni opravdu zjistili bazálně lehce vyšší koncentraci glukózy, což odpovídá jejímu vyššímu přestupu přes HEB podle koncentračního spádu při současně zjištěné lehce vyšší periferní glykémii. Nález odpovídá i literárním údajům (Kreis R. a Ross B.D., 1992; Seaquist E.R. et al., 2001; Makimattila S. et al., 2004; Heikkila O. et al., 2009).

Navozená hyperinzulinémie měla u diabetiků a kontrol na koncentraci mozkové glukózy rozdílný vliv. V průběhu clampu koncentrace mozkové glukózy ve skupině diabetiků klesla, naopak ve skupině kontrol byla bazálně koncentrace mozkové glukózy velmi nízká a stoupla až během clampu. Výsledná mozková koncentrace glukózy nezávisela na úrovni inzulinové senzitivity, pouze na diabetickém statusu. Úroveň inzulinové senzitivity hodnocená clampem byla ale v celém souboru srovnatelná a u žádné vyšetřované osoby nebyla v pásmu IR. Koncentrace mozkové glukózy bohužel zůstala na hranici rozlišení po celou dobu clampu a bude třeba doplnit další studie k ověření našich výsledků.

V několika publikovaných pracích se setkáváme s popisem vyššího přestupu glukózy přes HEB po podání inzulinu (Hertz M.M. et al., 1981; Bingham E.M. et al., 2002; Tuulari J.J. et al., 2013; Anthony K. et al., 2006) a poslední zmíněná studie dokonce uvažuje o určitém stupni IR v přestupu glukózy přes HEB. Stejně tak ale existují práce, které přímý vliv inzulinu na přestup glukózy přes HEB popírají (Cranston I. et al., 1998; Seaquist E.R. et al., 2001). Další dvě studie provedené s pomocí PET také popírají vliv inzulinu na přestup glukózy do CNS, ale popisují při hyperinzulinémii zvýšenou rychlost defosforylace glukózy (Eastman R.C. et al., 1990; Hasselbalch S.G. et al., 1999), takže hyperinzulinémie patrně nějakým způsobem mozkový metabolismus opravdu ovlivňuje. Přímé porovnání pacientů s T1DM a zdravých dobrovolníků dle našich poznatků doposud nebylo provedeno.

Co se týče reakce ostatních molekul, pokud opomeneme již bazálně zjištěné rozdíly v koncentracích některých látek ve skupině diabetiků (N-acetylaspartát, cholin, kreatin, inositol), byla reakce na hyperinzulinémii v celém našem souboru uniformní a mezi kontrolami a pacienty s T1DM jsme nezaznamenali rozdíl. Koncentrace cholinu, kreatinu, inositolu a N- acetylaspartátu zůstala stejná, intenzita kompozitního signálu Glx (glutamát +

glutamin) byla také srovnatelná, ale při analýze dat v LCModelu (LCModel web page) u signálu glutaminu došlo k vzestupu a u signálu glutamátu byl v průběhu clampu zjištěn trend k poklesu koncentrace (s limitací obtížnějšího rozlišení těchto metabolitů při vyšetření 1,5T) v obou skupinách. Neurotransmitery glutamát i glutamin jsou tvořeny z glukózy, což potvrzují i spektroskopické studie sledující osud značené glukózy ^{13}C (Kanamatsu T. a Tsukada Y., 1994; Tyson R.L. a Sutherland G.R., 1998; Qu H. et al., 2000). Fakt, že navození hyperinzulinémie indukovalo změnu v koncentraci glutamátu a glutaminu, by mohl odrážet vliv hyperinzulinémie na přestup glukózy přes HEB, ale také ovlivnění neuronální nebo gliální aktivity vedoucí k rozdílům v koncentraci těchto látek.

Efekt inzulínu v CNS se tedy pravděpodobně netýká jen určitých specifických oblastí zapojených do kontroly energetické bilance a kognitivních funkcí, ale je zřejmě globální. V budoucnu bude potřeba doplnit další studie na větším souboru pacientů a na přístrojích s vyšší rozlišovací schopností k ověření tohoto předpokladu a k přesné specifikaci účinku inzulínu v CNS ve skupinách osob s různou úrovní inzulínové senzitivity.

6. ZÁVĚRY DIZERTAČNÍ PRÁCE

- U osob s predispozicí k rozvoji hypertenze a metabolického syndromu jsme při hodnocení oGTT a hyperinzulinového clampu prokázali v porovnání se zdravými kontrolami určitý stupeň inzulínové rezistence. Hodnota sérového magnesia korelovala v této skupině přímo s vyšší inzulínové senzitivitou. Hodnota intracelulárního magnesia v myocytech korelovala negativně s vybranými ukazateli metabolického syndromu, nikoliv přímo s inzulínovou senzitivitou. Koncentrace makroergních fosfátů v kosterním svalu jsou u potomků hypertoniků srovnatelné se zdravými kontrolami, hraničně vyšší poměr $P_i/\beta\text{ATP}$ v této skupině ukazuje na vyšší aktivaci energetického metabolismu v kosterním svalu s konzumpcí ATP nebo na projev určité formy mitochondriální dysfunkce. Korelace mezi koncentracemi některých svalových makroergních fosfátů, ukazateli inzulínové rezistence a vyšší krevního tlaku alteraci energetického metabolismu v kosterním svalu u potomků hypertoniků potvrzují.
- U osob s poruchou lačné glykémie se sedavým způsobem života jsme prokázali negativní vazbu mezi obsahem IMCL na jedné straně a inzulínovou senzitivitou, plazmatickým adiponektinem a celkovým cholesterolem na straně druhé. Hodnota lačné glykémie pozitivně korelovala s obsahem IMCL. Krátkodobé podávání telmisartanu nemělo žádný vliv na obsah IMCL ani na inzulínovou senzitivitu, přestože pozitivně ovlivnilo lačnou glykémii. Po léčbě telmisartanem ztratil IMCL kompartment svoji původní vazbu na některé parametry inzulínové senzitivity. Podávání telmisartanu zřejmě vedlo ke změně typických metabolických charakteristik tohoto kompartmentu.
- Zjistili jsme rozdíl v bazálních koncentracích vybraných metabolitů (NAA, cholin, inositol, kreatin) v mozkové tkáni mezi diabetiky 1. typu a kontrolami, což potvrzuje negativní ovlivnění mozkového metabolismu přítomností diabetu. V celém souboru jsme prokázali vliv akutně navozené suprafyziologické hyperinzulinémie na změnu mozkové koncentrace glukózy a neurotransmiterů glutaminu a glutamátu (trend). Je pravděpodobné, že transfer nebo metabolismus glukózy v mozku je nějakým způsobem ovlivňován hyperinzulinémií. Inzulín může přímo zvyšovat přestup glukózy přes HEB nebo může ovlivňovat neuronální aktivitu.

7. SOUHRN

Magnetická rezonance spektroskopie svou neinvazivitou a možností zachytit metabolické procesy v řadě tkání in vivo významným způsobem rozšiřuje paletu vyšetřovacích metod v současné medicíně. Diabetes mellitus 1. i 2. typu představuje komplexní metabolické onemocnění s negativními dopady na látkovou přeměnu sacharidů, lipidů i proteinů v celém organismu. Vznik inzulinové rezistence představuje klíčovou poruchu, která je zodpovědná za rozvoj diabetu 2. typu, ale negativně zasahuje i do průběhu diabetu 1. typu. Současný výzkum se zaměřuje na odhalení přesných patofyziologických mechanismů, které negativně ovlivňují inzulinovou senzitivitu a přispívají k rozvoji onemocnění. Zkoumány jsou i bezprostřední metabolické důsledky nedostatečného působení inzulinu a také mechanismy zodpovědné za rozvoj pozdních komplikací.

Magnetická rezonance spektroskopie nám velmi dobře umožňuje mapovat tkáňový metabolismus na molekulární úrovni, sledovat koncentrace vybraných látek a jejich změny v intervenčních dynamických studiích. Pozornost se zaměřuje na orgány, které jsou typickým cílem inzulinového působení, jako je kosterní sval a játra, metabolické změny jsou ovšem detekovatelné i v orgánech, kde se dříve nepředpokládaly, jako je například mozková tkáň.

Cílem našeho výzkumu bylo přispět k pochopení patofyziologie vzniku inzulinové rezistence ve skupinách subjektů, které ještě nemají rozvinutý diabetes 2. typu, ale mají jasnou predispozici k jeho vzniku. Zaměřili jsme se na zkoumání metabolismu kosterního svalu u potomků hypertoniků a na pacienty s poruchou lačné glykémie. Porucha energetického metabolismu svalových buněk je popisována u manifestního diabetu i manifestní hypertenze. S jasně rozvinutou svalovou inzulinovou rezistencí je spojována akumulace intramyocelulárních lipidů. Naším záměrem bylo prozkoumat, zda tyto typické abnormality jsou zjištěné již v preklinických stádiích těchto onemocnění – za pomoci ^{31}P MRS jsme tedy hodnotili energetický metabolismus kosterního svalu u potomků hypertoniků a s použitím ^1H MRS metabolismus intracelulárních lipidů u osob s poruchou lačné glykémie.

Energetický metabolismus kosterního svalu u osob v preklinickém stádiu hypertenze doposud nebyl zkoumán. Prokázali jsme hraniční abnormality v koncentracích vybraných makroergních fosfátů v myocytech a korelace s ukazateli inzulinové rezistence a s vyšší krevního tlaku. Naše nálezy ukazují na alteraci energetického metabolismu kosterního svalu v této skupině osob. Alterace energetického metabolismu může být příčinou i důsledkem rozvíjející se poruchy inzulinové citlivosti. V naší druhé studii jsme prokázali negativní

vazbu mezi parametry inzulínové senzitivity a koncentrací adiponektinu a hodnotou intramyocelulárních lipidů ve skupině osob s poruchou lačné glykémie, kde tato vazba ještě nebyla zkoumána. Neprokázali jsme žádný vliv podávání telmisartanu na kumulaci IMCL. O efektu telmisartanu na ektopickou akumulaci lipidů doposud existuje v literatuře jen minimum údajů a nebyl zkoumán ve skupině osob s poruchou lačné glykémie.

Naším dalším cílem bylo zkoumání vlivu suprafyziologické hyperinzulinémie v méně typickém cílovém orgánu, a to v mozkové tkáni. Podle posledních výzkumů je i v CNS vyjádřen určitý stupeň inzulínové rezistence, který může odrážet rezistenci celotělovou, ale může představovat i jeden z primárních patofyziologických mechanismů zodpovědných za rozvoj diabetu. Vzhledem k menší rozlišovací schopnosti ¹H MRS a k předpokládanému diskrétnějšímu efektu inzulínu u diabetiků 2. typu jsme ke zkoumání zvolili skupinu diabetiků 1. typu, u kterých je také popisován určitý stupeň inzulínové rezistence, a zdravých kontrol. Již bazálně jsme zjistili změny v koncentracích některých metabolitů, což potvrzuje předpokládaný negativní dopad přítomnosti diabetu na mozkový metabolismus. Vliv hyperinzulinémie na metabolismus CNS u zdravých osob v porovnání s diabetiky 1. typu doposud nebyl zkoumán. Po navození hyperinzulinémie jsme v naší studii zjistili v obou skupinách změny v koncentracích glukózy a neurotransmiteru glutaminu. Vliv inzulínu na globální mozkový metabolismus je velmi pravděpodobný, ale k přesné specifikaci bude nutné doplnit MRS studie s vyšší rozlišovací schopností.

Použití magnetické rezonance spektroskopie představuje s nově používanými přístroji s vyšší rozlišovací schopností a se stále se rozšiřujícím spektrem zachytitelných látek obrovský potenciál pro budoucí metabolické studie.

8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AD – demence Alzheimerovského typu

AMP – adenosinmonofosfát

AMPK - AMP aktivovaná kináza

ATP – adenosintrifosfát

β ATP – jeden ze signálů adenosin trifosfátů ve fosforovém spektru

BMI – body mass index

C – kontrolní skupina

CNS – centrální nervová soustava

D – skupina diabetiků ve studii 3

DAG - diacylglyceroly

DCCT – kalibrace glykovaného hemoglobinu podle Diabetes Control and Complications Trial

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EMCL – extramyocelulární lipidy

FFA – volné mastné kyseliny

fMRI – funkční magnetická rezonance

GABA – kyselina γ -aminomáselná

Glx - kompozitní signál glutaminu a glutamátu

GLUT – glukózové transportéry

HDL – frakce cholesterolu high-density lipoproteins

HEB – hematoencefalická bariéra

HbA1c – glykovaný hemoglobin

Chol – cholesterol

ICHS – ischemická chodoba srdeční

IFCC – kalibrace glykovaného hemoglobinu podle The International Federation of Clinical Chemistry

IHCL – intrahepatocelulární lipidy

IMCL – intramyocelulární lipidy

IR- inzulinová rezistence

IRI – hladina imunoreaktivního inzulinu

LDL – frakce cholesterolu low-density lipoproteins

M – spotřeba glukózy při clampu

MAPK- mitogen aktivována proteinkináza

MCR – metabolická clearance glukózy v clampu

Mgi – intracelulární magnesium

MgS – sérové magnesium

M/I – index inzulinové senzitivity

MRI – magnetická rezonance zobrazování
MRS – magnetická rezonance spektroskopie
NAA – N-acetylaspartát
NEOX – neoxidativní spotřeba glukózy
NS – nesignifikantní
OH – skupiny potomků hypertoniků ve studii 1
Patp – celkový signál adenosintrifosfátu ve fosforovém spektru
PCr - fosfokreatin
PDE – fosfodiesterý
PI3K- fosfatidylinositol-3-kináza
PET – pozitronová emisní tomografie
Pi – anorganický fosfát
PKB- proteinkináza B
PKC- proteinkináza C
PME - fosfomonoestery
PPAR γ – receptor peroxisome proliferator-activated gamma
RAS – systém renin angiotensis aldosteron
SD – směrodatná odchylka
TAG - triacylglyceroly
TKs – systolický krevní tlak
TKd – diastolický krevní tlak
TNF α – tumor necrosis factor α
T1DM – diabetes mellitus 1. typu
T2DM – diabetes mellitus 2. typu
VO_{2max} – maximální aerobní kapacita
WHR – poměr pas - boky
¹H MRS – vodíková magnetická rezonance spektroskopie
¹³C MRS – uhlíková magnetická rezonance spektroskopie
³¹P MRS – fosforová magnetická rezonance spektroskopie

9. POUŽITÁ LITERATURA

Adami GF, Parodi RC, Papadia F, Marinari G, Camerini G, Corvisieri R, Scopinaro N. Magnetic resonance spectroscopy facilitates assessment of intramyocellular lipid changes: a preliminary short-term study following biliopancreatic diversion. *Obes Surg* 2005; 15(9):1233-7.

Ajilore O, Haroon E, Kumaran S, Darwin C, Binesh N, Mintz J, Miller J, Thomas MA, Kumar A. Measurement of brain metabolites in patients with type 2 diabetes and major depression using proton magnetic resonance spectroscopy. *Neuropsychopharmacology* 2007; 32(6):1224-31.

Anthony K, Reed LJ, Dunn JT, Bingham E, Hopkins D, Marsden PK, Amiel SA. Attenuation of insulin-evoked responses in brain networks controlling appetite and reward in insulin resistance: the cerebral basis for impaired control of food intake in metabolic syndrome? *Diabetes* 2006; 55(11):2986-92.

Bachmann OP, Dahl DB, Brechtel K, Machann J, Haap M, Maier T, Loviscach M, Stumvoll M, Claussen CD, Schick F, Haring HU, Jacob S. Effects of intravenous and dietary lipid challenge on intramyocellular lipid content and the relation with insulin sensitivity in humans. *Diabetes* 2001; 50(11):2579-84.

Bajaj M, Baig R, Suraamornkul S, Hardies LJ, Coletta DK, Cline GW, Monroy A, Koul S, Sriwijitkamol A, Musi N, Shulman GI, DeFronzo RA. Effects of pioglitazone on intramyocellular fat metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(4):1916-23.

Bajpeyi S, Pasarica M, Moro C, Conley K, Jubrias S, Sereda O, Burk DH, Zhang Z, Gupta A, Kjems L, Smith SR. Skeletal muscle mitochondrial capacity and insulin resistance in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(4):1160-8.

Banks WA, Jaspan JB, Kastin AJ. Effect of diabetes mellitus on the permeability of the blood-brain barrier to insulin. *Peptides* 1997; 18(10):1577-84.

Banks WA, Owen JB, Erickson MA. Insulin in the brain: there and back again. *Pharmacol Ther* 2012; 136(1):82-93.

Barbagallo M, Gupta RK, Bardicef O, Bardicef M, Resnick LM. Altered ionic effects of insulin in hypertension: role of basal ion levels in determining cellular responsiveness. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(6):1761-5.

Barbagallo M, Dominguez LJ, Galioto A, Ferlisi A, Cani C, Malfa L, Pineo A, Busardo A, Paolisso G. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Mol Aspects Med* 2003; 24(1-3):39-52.

Baskin DG, Stein LJ, Ikeda H, Woods SC, Figlewicz DP, Porte D, Jr., Greenwood MR, Dorsa DM. Genetically obese Zucker rats have abnormally low brain insulin content. *Life Sci* 1985; 36(7):627-33.

Beatty OL, Harper R, Sheridan B, Atkinson AB, Bell PM. Insulin resistance in offspring of hypertensive parents. *BMJ* 1993; 307(6896):92-6.

Beer M, Seyfarth T, Sandstede J, Landschutz W, Lipke C, Kostler H, von Kienlin M, Harre K, Hahn D, Neubauer S. Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and failing human myocardium measured noninvasively with ³¹P-SLOOP magnetic resonance spectroscopy. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40(7):1267-74.

Beer M. Cardiac spectroscopy: techniques, indications and clinical results. *Eur Radiol* 2004; 14(6):1034-47.

Befroy DE, Petersen KF, Dufour S, Mason GF, de Graaf RA, Rothman DL, Shulman GI. Impaired mitochondrial substrate oxidation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2007; 56(5):1376-81.

Befroy DE, Shulman GI. Magnetic resonance spectroscopy studies of human metabolism. *Diabetes* 2011; 60(5):1361-9.

Benedict C, Brede S, Schioth HB, Lehnert H, Schultes B, Born J, Hallschmid M. Intranasal insulin enhances postprandial thermogenesis and lowers postprandial serum insulin levels in healthy men. *Diabetes* 2011; 60(1):114-8.

Bingham EM, Hopkins D, Smith D, Pernet A, Hallett W, Reed L, Marsden PK, Amiel SA. The role of insulin in human brain glucose metabolism: an 18fluoro-deoxyglucose positron emission tomography study. *Diabetes* 2002; 51(12):3384-90.

Bischof MG, Mlynarik V, Brehm A, Bernroider E, Krssak M, Bauer E, Madl C, Bayerle-Eder M, Waldhausl W, Roden M. Brain energy metabolism during hypoglycaemia in healthy and type 1 diabetic subjects. *Diabetologia* 2004; 47(4):648-51.

Bischof MG, Brehm A, Bernroider E, Krssak M, Mlynarik V, Krebs M, Roden M. Cerebral glutamate metabolism during hypoglycaemia in healthy and type 1 diabetic humans. *Eur J Clin Invest* 2006; 36(3):164-9.

Bock JL, Wenz B, Gupta RK. Changes in intracellular Mg adenosine triphosphate and ionized Mg²⁺ during blood storage: detection by ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Blood* 1985; 65(6):1526-30.

Boden G, Lebed B, Schatz M, Homko C, Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes* 2001; 50(7):1612-7.

Boesch C, Slotboom J, Hoppeler H, Kreis R. In vivo determination of intra-myocellular lipids in human muscle by means of localized ¹H-MR-spectroscopy. *Magn Reson Med* 1997; 37(4):484-93.

Borkman M, Storlien LH, Pan DA, Jenkins AB, Chisholm DJ, Campbell LV. The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal-muscle phospholipids. *N Engl J Med* 1993; 328(4):238-44.

Brands AM, Kessels RP, de Haan EH, Kappelle LJ, Biessels GJ. Cerebral dysfunction in type 1 diabetes: effects of insulin, vascular risk factors and blood-glucose levels. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3):159-68.

Brehm A, Krssak M, Schmid AI, Nowotny P, Waldhausl W, Roden M. Increased lipid availability impairs insulin-stimulated ATP synthesis in human skeletal muscle. *Diabetes* 2006; 55(1):136-40.

Brehm A, Krssak M, Schmid AI, Nowotny P, Waldhausl W, Roden M. Acute elevation of plasma lipids does not affect ATP synthesis in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299(1):E33-8.

Brechtel K, Dahl DB, Machann J, Bachmann OP, Wenzel I, Maier T, Claussen CD, Haring HU, Jacob S, Schick F. Fast elevation of the intramyocellular lipid content in the presence of circulating free fatty acids and hyperinsulinemia: a dynamic ¹H-MRS study. *Magn Reson Med* 2001a; 45(2):179-83.

Brechtel K, Niess AM, Machann J, Rett K, Schick F, Claussen CD, Dickhuth HH, Haering HU, Jacob S. Utilisation of intramyocellular lipids (IMCLs) during exercise as assessed by proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS). *Horm Metab Res* 2001b; 33(2):63-6.

Brons C, Grunnet LG. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Skeletal muscle lipotoxicity in insulin resistance and type 2 diabetes: a causal mechanism or an innocent bystander? *Eur J Endocrinol* 2017; 176(2):R67-R78.

Bruning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, Klein R, Krone W, Muller-Wieland D, Kahn CR. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 2000; 289(5487):2122-5.

Bucher J, Krusi M, Zueger T, Ith M, Stettler C, Diem P, Boesch C, Kreis R, Christ E. The effect of a single 2 h bout of aerobic exercise on ectopic lipids in skeletal muscle, liver and the myocardium. *Diabetologia* 2014; 57(5):1001-5.

Cameron FJ, Kean MJ, Wellard RM, Werther GA, Neil JJ, Inder TE. Insights into the acute cerebral metabolic changes associated with childhood diabetes. *Diabet Med* 2005; 22(5):648-53.

Corica F, Allegra A, Buemi M, Ientile R, Corsonello A, Bonanzinga S, Macaione S, Ceruso D. [Obesity and hypertension: the role of magnesium]. *Recenti Prog Med* 1998; 89(4):169-76.

Craft S, Baker LD, Montine TJ, Minoshima S, Watson GS, Claxton A, Arbuckle M, Callaghan M, Tsai E, Plymate SR, Green PS, Leverenz J, Cross D, Gerton B. Intranasal insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: a pilot clinical trial. *Arch Neurol* 2012; 69(1):29-38.

Cranston I, Marsden P, Matyka K, Evans M, Lomas J, Sonksen P, Maisey M, Amiel SA. Regional differences in cerebral blood flow and glucose utilization in diabetic man: the effect of insulin. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18(2):130-40.

Criego AB, Tkac I, Kumar A, Thomas W, Gruetter R, Seaquist ER. Brain glucose concentrations in healthy humans subjected to recurrent hypoglycemia. *J Neurosci Res* 2005a; 82(4):525-30.

Criego AB, Tkac I, Kumar A, Thomas W, Gruetter R, Seaquist ER. Brain glucose concentrations in patients with type 1 diabetes and hypoglycemia unawareness. *J Neurosci Res* 2005b; 79(1-2):42-7.

Das UN. Renin-angiotensin-aldosterone system in insulin resistance and metabolic syndrome. *J Transl Int Med* 2016; 4(2):66-72.

De Feyter HM, van den Broek NM, Praet SF, Nicolay K, van Loon LJ, Prompers JJ. Early or advanced stage type 2 diabetes is not accompanied by in vivo skeletal muscle mitochondrial dysfunction. *Eur J Endocrinol* 2008; 158(5):643-53.

De Feyter HM, Mason GF, Shulman GI, Rothman DL, Petersen KF. Increased brain lactate concentrations without increased lactate oxidation during hypoglycemia in type 1 diabetic individuals. *Diabetes* 2013; 62(9):3075-80.

de la Monte SM. Type 3 diabetes is sporadic Alzheimers disease: mini-review. *Eur Neuropsychopharmacol* 2014; 24(12):1954-60.

Decombaz J, Fleith M, Hoppeler H, Kreis R, Boesch C. Effect of diet on the replenishment of intramyocellular lipids after exercise. *Eur J Nutr* 2000; 39(6):244-7.

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

Di Gialleonardo V, Wilson DM, Keshari KR. The Potential of Metabolic Imaging. *Semin Nucl Med* 2016; 46(1):28-39.

Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. *J Endocrinol* 2017; 233(1):R15-R42.

Diamant M, Lamb HJ, Groeneveld Y, Endert EL, Smit JW, Bax JJ, Romijn JA, de Roos A, Radder JK. Diastolic dysfunction is associated with altered myocardial metabolism in asymptomatic normotensive patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(2):328-35.

Dobbins RL, Szczepaniak LS, Bentley B, Esser V, Myhill J, McGarry JD. Prolonged inhibition of muscle carnitine palmitoyltransferase-1 promotes intramyocellular lipid accumulation and insulin resistance in rats. *Diabetes* 2001; 50(1):123-30.

Dube JJ, Amati F, Stefanovic-Racic M, Toledo FG, Sauers SE, Goodpaster BH. Exercise-induced alterations in intramyocellular lipids and insulin resistance: the athlete's paradox revisited. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 294(5):E882-8.

Dutour A, Abdesselam I, Ancel P, Kober F, Mrad G, Darmon P, Ronsin O, Pradel V, Lesavre N, Martin JC, Jacquier A, Lefur Y, Bernard M, Gaborit B. Exenatide decreases liver fat content and epicardial adipose tissue in patients with obesity and type 2 diabetes: a prospective randomized clinical trial using magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Diabetes Obes Metab* 2016; 18(9):882-91.

Eastman RC, Carson RE, Gordon MR, Berg GW, Lillioja S, Larson SM, Roth J. Brain glucose metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus: a study in Pima Indians using positron emission tomography during hyperinsulinemia with euglycemic glucose clamp. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71(6):1602-10.

Egger A, Kreis R, Allemann S, Stettler C, Diem P, Buehler T, Boesch C, Christ ER. The effect of aerobic exercise on intrahepatocellular and intramyocellular lipids in healthy subjects. *PLoS One* 2013; 8(8):e70865.

Emmanuel Y, Cochlin LE, Tyler DJ, de Jager CA, Smith AD, Clarke K. Human hippocampal energy metabolism is impaired during cognitive activity in a lipid infusion model of insulin resistance. *Brain Behav* 2013; 3(2):134-44.

Endre T, Mattiasson I, Hulthen UL, Lindgarde F, Berglund G. Insulin resistance is coupled to low physical fitness in normotensive men with a family history of hypertension. *J Hypertens* 1994; 12(1):81-8.

European Society of Hypertension-European Society of Cardiology Guidelines C. 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003; 21(6):1011-53.

Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 2003; 52(1):1-8.

Facchini F, Chen YD, Clinkingbeard C, Jeppesen J, Reaven GM. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and dyslipidemia in nonobese individuals with a family history of hypertension. *Am J Hypertens* 1992; 5(10):694-9.

Falholt K, Jensen I, Lindkaer Jensen S, Mortensen H, Volund A, Heding LG, Noerskov Petersen P, Falholt W. Carbohydrate and lipid metabolism of skeletal muscle in type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 1988; 5(1):27-31.

Ferrannini E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* 1988; 37(3):287-301.

Ferrari P, Weidmann P, Shaw S, Giachino D, Riesen W, Allemann Y, Heynen G. Altered insulin sensitivity, hyperinsulinemia, and dyslipidemia in individuals with a hypertensive parent. *Am J Med* 1991; 91(6):589-96.

Fisher MJ, Dillon PF. ³¹P NMR study of insulin effects on the isolated perfused rabbit urinary bladder. *Magn Reson Med* 1989; 9(1):53-65.

Fritsch M, Koliaki C, Livingstone R, Phielix E, Bierwagen A, Meisinger M, Jelenik T, Strassburger K, Zimmermann S, Brockmann K, Wolff C, Hwang JH, Szendroedi J, Roden M. Time course of postprandial hepatic phosphorus metabolites in lean, obese, and type 2 diabetes patients. *Am J Clin Nutr* 2015; 102(5):1051-8.

Frolich L, Blum-Degen D, Bernstein HG, Engelsberger S, Humrich J, Laufer S, Muschner D, Thalheimer A, Turk A, Hoyer S, Zochling R, Boissl KW, Jellinger K, Riederer P. Brain insulin and insulin receptors in aging and sporadic Alzheimer's disease. *J Neural Transm (Vienna)* 1998; 105(4-5):423-38.

Geissler A, Frund R, Scholmerich J, Feuerbach S, Zietz B. Alterations of cerebral metabolism in patients with diabetes mellitus studied by proton magnetic resonance spectroscopy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2003; 111(7):421-7.

Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, Kitzmiller J, Knowler WC, Lebovitz H, Lernmark A, Nathan D, Palmer J, Rizza R, Saudek C, Shaw J, Steffes M, Stern M, Tuomilehto J, Zimmet P, Expert Committee on the D, Classification of Diabetes M. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26(11):3160-7.

Gerozissis K. Brain insulin, energy and glucose homeostasis; genes, environment and metabolic pathologies. *Eur J Pharmacol* 2008; 585(1):38-49.

Godoy-Matos AF, Bahia LR, Domingues RC, Sicuro F, Tambascia M, Geloneze B, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Adiponectin is related to intramyocellular lipid content in non-diabetic adults. *J Endocrinol Invest* 2010; 33(6):382-7.

- Gommers LM, Hoenderop JG, Bindels RJ, de Baaij JH. Hypomagnesemia in Type 2 Diabetes: A Vicious Circle? *Diabetes* 2016; 65(1):3-13.
- Goodall I. HbA1c standardisation destination--global IFCC Standardisation. How, why, where and when--a tortuous pathway from kit manufacturers, via inter-laboratory lyophilized and whole blood comparisons to designated national comparison schemes. *Clin Biochem Rev* 2005; 26(1):5-19.
- Goodpaster BH, He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(12):5755-61.
- Govindaraju V, Young K, Maudsley AA. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed* 2000; 13(3):129-53.
- Greenbaum CJ. Insulin resistance in type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18(3):192-200.
- Gruetter R, Adriany G, Choi IY, Henry PG, Lei H, Oz G. Localized in vivo ¹³C NMR spectroscopy of the brain. *NMR Biomed* 2003; 16(6-7):313-38.
- Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Jr., Spertus JA, Costa F, American Heart A, National Heart L, Blood I. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112(17):2735-52.
- Gulanski BI, De Feyter HM, Page KA, Belfort-DeAguiar R, Mason GF, Rothman DL, Sherwin RS. Increased brain transport and metabolism of acetate in hypoglycemia unawareness. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(9):3811-20.
- Gupta RK, Benovic JL, Rose ZB. The determination of the free magnesium level in the human red blood cell by ³¹P NMR. *J Biol Chem* 1978; 253(17):6172-6.
- Guthoff M, Stingl KT, Tschritter O, Rogic M, Heni M, Stingl K, Hallschmid M, Haring HU, Fritsche A, Preissl H, Hennige AM. The insulin-mediated modulation of visually evoked magnetic fields is reduced in obese subjects. *PLoS One* 2011; 6(5):e19482.
- Hajek M, Palyzova D, Korinek M, Kurkova D. Concentrations of free mg²⁺, pH and ³¹P MR metabolite ratios in calf muscles of healthy controls and patients with primary juvenile hypertension. *Physiol Res* 2002; 51(2):159-67.
- Haley AP, Gonzales MM, Tarumi T, Miles SC, Goudarzi K, Tanaka H. Elevated cerebral glutamate and myo-inositol levels in cognitively normal middle-aged adults with metabolic syndrome. *Metab Brain Dis* 2010; 25(4):397-405.
- Hallschmid M, Benedict C, Schultes B, Born J, Kern W. Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signaling. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32(2):275-82.
- Hannukainen JC, Guzzardi MA, Virtanen KA, Sanguinetti E, Nuutila P, Iozzo P. Imaging of Organ Metabolism in Obesity and Diabetes: Treatment Perspectives. *Curr Pharm Des* 2014; 20(39):6126-49.
- Hasselbalch SG, Knudsen GM, Videbaek C, Pinborg LH, Schmidt JF, Holm S, Paulson OB. No effect of insulin on glucose blood-brain barrier transport and cerebral metabolism in humans. *Diabetes* 1999; 48(10):1915-21.
- Havrankova J, Roth J, Brownstein M. Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature* 1978; 272(5656):827-9.
- Heikkila O, Lundbom N, Timonen M, Groop PH, Heikkinen S, Makimattila S. Risk for metabolic syndrome predisposes to alterations in the thalamic metabolism. *Metab Brain Dis* 2008; 23(3):315-24.
- Heikkila O, Lundbom N, Timonen M, Groop PH, Heikkinen S, Makimattila S. Hyperglycaemia is associated with changes in the regional concentrations of glucose and myo-inositol within the brain. *Diabetologia* 2009; 52(3):534-40.

- Heikkilä O, Lundbom N, Timonen M, Groop PH, Heikkinen S, Makimattila S. Evidence for abnormal glucose uptake or metabolism in thalamus during acute hyperglycaemia in type 1 diabetes--a ¹H MRS study. *Metab Brain Dis* 2010a; 25(2):227-34.
- Heikkilä O, Makimattila S, Timonen M, Groop PH, Heikkinen S, Lundbom N. Cerebellar glucose during fasting and acute hyperglycemia in nondiabetic men and in men with type 1 diabetes. *Cerebellum* 2010b; 9(3):336-44.
- Heni M, Wagner R, Kullmann S, Veit R, Mat Husin H, Linder K, Benkendorff C, Peter A, Stefan N, Haring HU, Preissl H, Fritsche A. Central insulin administration improves whole-body insulin sensitivity via hypothalamus and parasympathetic outputs in men. *Diabetes* 2014; 63(12):4083-8.
- Hertz MM, Paulson OB, Barry DI, Christiansen JS, Svendsen PA. Insulin increases glucose transfer across the blood-brain barrier in man. *J Clin Invest* 1981; 67(3):597-604.
- Hesselink MK, Schrauwen-Hinderling V, Schrauwen P. Skeletal muscle mitochondria as a target to prevent or treat type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2016; 12(11):633-645.
- Hirvonen J, Virtanen KA, Nummenmaa L, Hannukainen JC, Honka MJ, Bucci M, Nesterov SV, Parkkola R, Rinne J, Iozzo P, Nuutila P. Effects of insulin on brain glucose metabolism in impaired glucose tolerance. *Diabetes* 2011; 60(2):443-7.
- Hood DA, Ugucioni G, Vainshtein A, D'Souza D. Mechanisms of exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle: implications for health and disease. *Compr Physiol* 2011; 1(3):1119-34.
- Howald H, Boesch C, Kreis R, Matter S, Billeter R, Essen-Gustavsson B, Hoppeler H. Content of intramyocellular lipids derived by electron microscopy, biochemical assays, and (1)H-MR spectroscopy. *J Appl Physiol* (1985) 2002; 92(6):2264-72.
- Huang GZ, Tang YH, Wang BY, Zhang B, Hu TJ, Zhang L, Zhang XY, Zhong Y. Effects of telmisartan on insulin resistance and visceral fat distribution in Chinese hypertensive patients with obesity. *Saudi Med J* 2011; 32(10):1017-21.
- Huang Z, Wan X, Liu J, Deng W, Chen A, Liu L, Liu J, Wei G, Li H, Fang D, Li Y. Short-term continuous subcutaneous insulin infusion combined with insulin sensitizers rosiglitazone, metformin, or antioxidant alpha-lipoic acid in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Technol Ther* 2013; 15(10):859-69.
- Hug F, Bendahan D, Le Fur Y, Cozzone PJ, Grelot L. Metabolic recovery in professional road cyclists: a ³¹P-MRS study. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37(5):846-52.
- Hwang JH, Perseghin G, Rothman DL, Cline GW, Magnusson I, Petersen KF, Shulman GI. Impaired net hepatic glycogen synthesis in insulin-dependent diabetic subjects during mixed meal ingestion. A ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy study. *J Clin Invest* 1995; 95(2):783-7.
- Hwang JH, Bluml S, Leaf A, Ross BD. In vivo characterization of fatty acids in human adipose tissue using natural abundance ¹H decoupled ¹³C MRS at 1.5 T: clinical applications to dietary therapy. *NMR Biomed* 2003; 16(3):160-7.
- Hwang JH, Choi CS. Use of in vivo magnetic resonance spectroscopy for studying metabolic diseases. *Exp Mol Med* 2015; 47:e139.
- Chetty VT, Damjanovic S, Gerstein H, Singh N, Yusuf S, Anand SS, Sharma AM. Metabolic effects of telmisartan in subjects with abdominal obesity: a prospective randomized controlled trial. *Blood Press* 2014; 23(1):54-60.
- Choi IY, Seaquist ER, Gruetter R. Effect of hypoglycemia on brain glycogen metabolism in vivo. *J Neurosci Res* 2003; 72(1):25-32.

- Chujo D, Yagi K, Asano A, Muramoto H, Sakai S, Ohnishi A, Shintaku-Kubota M, Mabuchi H, Yamagishi M, Kobayashi J. Telmisartan treatment decreases visceral fat accumulation and improves serum levels of adiponectin and vascular inflammation markers in Japanese hypertensive patients. *Hypertens Res* 2007; 30(12):1205-10.
- Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, Maerker E, Matthaei S, Schick F, Claussen CD, Haring HU. Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 1999; 48(5):1113-9.
- Jauch-Chara K, Friedrich A, Rezmer M, Melchert UH, H GS-E, Hallschmid M, Oltmanns KM. Intranasal insulin suppresses food intake via enhancement of brain energy levels in humans. *Diabetes* 2012; 61(9):2261-8.
- Jelicks LA, Gupta RK. NMR measurement of cytosolic free calcium, free magnesium, and intracellular sodium in the aorta of the normal and spontaneously hypertensive rat. *J Biol Chem* 1990; 265(3):1394-400.
- Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. The adipose tissue renin-angiotensin system and metabolic disorders: a review of molecular mechanisms. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2012; 47(4):379-90.
- Kanamatsu T, Tsukada Y. Measurement of amino acid metabolism derived from [1-13C]glucose in the rat brain using 13C magnetic resonance spectroscopy. *Neurochem Res* 1994; 19(5):603-12.
- Karczewska-Kupczewska M, Tarasow E, Nikolajuk A, Stefanowicz M, Matulewicz N, Oziomek E, Gorska M, Straczkowski M, Kowalska I. The effect of insulin infusion on the metabolites in cerebral tissues assessed with proton magnetic resonance spectroscopy in young healthy subjects with high and low insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2013; 36(9):2787-93.
- Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51(10):2944-50.
- Kemp GJ, Brindle KM. What do magnetic resonance-based measurements of Pi->ATP flux tell us about skeletal muscle metabolism? *Diabetes* 2012; 61(8):1927-34.
- Kisters K, Krefting ER, Kosch M, Rahn KH, Hausberg M. Intracellular Mg⁺⁺ concentrations in smooth and striated muscle cells in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2000; 13(4 Pt 1):427-30.
- Kitessa SM, Abeywardena MY. Lipid-Induced Insulin Resistance in Skeletal Muscle: The Chase for the Culprit Goes from Total Intramuscular Fat to Lipid Intermediates, and Finally to Species of Lipid Intermediates. *Nutrients* 2016; 8(8).
- Kleinridders A, Ferris HA, Cai W, Kahn CR. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes* 2014; 63(7):2232-43.
- Korosoglou G, Humpert PM, Ahrens J, Oikonomou D, Osman NF, Gitsioudis G, Buss SJ, Steen H, Schnackenburg B, Bierhaus A, Nawroth PP, Katus HA. Left ventricular diastolic function in type 2 diabetes mellitus is associated with myocardial triglyceride content but not with impaired myocardial perfusion reserve. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35(4):804-11.
- Koska J, Stefan N, Permana PA, Weyer C, Sonoda M, Bogardus C, Smith SR, Joannisse DR, Funahashi T, Krakoff J, Bunt JC. Increased fat accumulation in liver may link insulin resistance with subcutaneous abdominal adipocyte enlargement, visceral adiposity, and hypo adiponectinemia in obese individuals. *Am J Clin Nutr* 2008; 87(2):295-302.
- Kreis R, Ross BD. Cerebral metabolic disturbances in patients with subacute and chronic diabetes mellitus: detection with proton MR spectroscopy. *Radiology* 1992; 184(1):123-30.
- Krassak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, Roden M, Shulman GI. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a 1H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 1999; 42(1):113-6.

- Krssak M, Brehm A, Bernroider E, Anderwald C, Nowotny P, Dalla Man C, Cobelli C, Cline GW, Shulman GI, Waldhausl W, Roden M. Alterations in postprandial hepatic glycogen metabolism in type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53(12):3048-56.
- Krusinova E, Pelikanova T. Fatty acid binding proteins in adipose tissue: a promising link between metabolic syndrome and atherosclerosis? *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 82 Suppl 2:S127-34.
- Kullmann S, Heni M, Hallschmid M, Fritsche A, Preissl H, Haring HU. Brain Insulin Resistance at the Crossroads of Metabolic and Cognitive Disorders in Humans. *Physiol Rev* 2016; 96(4):1169-209.
- Kurkova D, Hajek M, Havlova M, Grosmanova A. Use of in vivo MR Spectroscopy in Investigations of Skeletal Muscles of Man. *Ces Radiol* 1997; (5):305-310.
- Lamb HJ, Beyerbach HP, van der Laarse A, Stoel BC, Doornbos J, van der Wall EE, de Roos A. Diastolic dysfunction in hypertensive heart disease is associated with altered myocardial metabolism. *Circulation* 1999; 99(17):2261-7.
- Larsen PJ, Tennagels N. On ceramides, other sphingolipids and impaired glucose homeostasis. *Mol Metab* 2014; 3(3):252-60.
- Larson-Meyer DE, Newcomer BR, Hunter GR, Hetherington HP, Weinsier RL. ³¹P MRS measurement of mitochondrial function in skeletal muscle: reliability, force-level sensitivity and relation to whole body maximal oxygen uptake. *NMR Biomed* 2000; 13(1):14-27.
- Larson-Meyer DE, Borkhsenius ON, Gullett JC, Russell RR, Devries MC, Smith SR, Ravussin E. Effect of dietary fat on serum and intramyocellular lipids and running performance. *Med Sci Sports Exerc* 2008; 40(5):892-902.
- Lattuada G, Costantino F, Caumo A, Scifo P, Ragona F, De Cobelli F, Del Maschio A, Luzi L, Perseghin G. Reduced whole-body lipid oxidation is associated with insulin resistance, but not with intramyocellular lipid content in offspring of type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 2005; 48(4):741-7.
- Li Y, Xu S, Zhang X, Yi Z, Cichello S. Skeletal intramyocellular lipid metabolism and insulin resistance. *Biophys Rep* 2015; 1:90-98.
- Lindeboom L, Nabuurs CI, Hoeks J, Brouwers B, Phielix E, Kooi ME, Hesselink MK, Wildberger JE, Stevens RD, Koves T, Muoio DM, Schrauwen P, Schrauwen-Hinderling VB. Long-echo time MR spectroscopy for skeletal muscle acetylcarnitine detection. *J Clin Invest* 2014; 124(11):4915-25.
- Liu Y, Sweeney G. Adiponectin action in skeletal muscle. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2014; 28(1):33-41.
- Lyyo IK, Yoon SJ, Musen G, Simonson DC, Weinger K, Bolo N, Ryan CM, Kim JE, Renshaw PF, Jacobson AM. Altered prefrontal glutamate-glutamine-gamma-aminobutyric acid levels and relation to low cognitive performance and depressive symptoms in type 1 diabetes mellitus. *Arch Gen Psychiatry* 2009; 66(8):878-87.
- Machann J, Stefan N, Schick F. (1)H MR spectroscopy of skeletal muscle, liver and bone marrow. *Eur J Radiol* 2008; 67(2):275-84.
- Machann J, Etzel M, Thamer C, Haring HU, Claussen CD, Fritsche A, Schick F. Morning to evening changes of intramyocellular lipid content in dependence on nutrition and physical activity during one single day: a volume selective 1H-MRS study. *MAGMA* 2011; 24(1):29-33.
- Makimattila S, Malmberg-Ceder K, Hakkinen AM, Vuori K, Salonen O, Summanen P, Yki-Jarvinen H, Kaste M, Heikkinen S, Lundbom N, Roine RO. Brain metabolic alterations in patients with type 1 diabetes-hyperglycemia-induced injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004; 24(12):1393-9.
- Manco M, Mingrone G, Greco AV, Capristo E, Gniuli D, De Gaetano A, Gasbarrini G. Insulin resistance directly correlates with increased saturated fatty acids in skeletal muscle triglycerides. *Metabolism* 2000; 49(2):220-4.

- Mangia S, Kumar AF, Moheet AA, Roberts RJ, Eberly LE, Seaquist ER, Tkac I. Neurochemical profile of patients with type 1 diabetes measured by (1)H-MRS at 4 T. *J Cereb Blood Flow Metab* 2013; 33(5):754-9.
- Masi LN, Rodrigues AC, Curi R. Fatty acids regulation of inflammatory and metabolic genes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013; 16(4):418-24.
- Matsuda M, Liu Y, Mahankali S, Pu Y, Mahankali A, Wang J, DeFronzo RA, Fox PT, Gao JH. Altered hypothalamic function in response to glucose ingestion in obese humans. *Diabetes* 1999; 48(9):1801-6.
- Mayerson AB, Hundal RS, Dufour S, Lebon V, Befroy D, Cline GW, Enocksson S, Inzucchi SE, Shulman GI, Petersen KF. The effects of rosiglitazone on insulin sensitivity, lipolysis, and hepatic and skeletal muscle triglyceride content in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51(3):797-802.
- McCully K, Mancini D, Levine S. Nuclear magnetic resonance spectroscopy: its role in providing valuable insight into diverse clinical problems. *Chest* 1999; 116(5):1434-41.
- McEwen BS, Reagan LP. Glucose transporter expression in the central nervous system: relationship to synaptic function. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3):13-24.
- McGavock JM, Lingvay I, Zib I, Tillery T, Salas N, Unger R, Levine BD, Raskin P, Victor RG, Szczepaniak LS. Cardiac steatosis in diabetes mellitus: a 1H-magnetic resonance spectroscopy study. *Circulation* 2007; 116(10):1170-5.
- McGuire DK, Winterfield JR, Rytlewski JA, Ferrannini E. Blocking the renin-angiotensin-aldosterone system to prevent diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res* 2008; 5(1):59-66.
- Meex RC, Schrauwen-Hinderling VB, Moonen-Kornips E, Schaart G, Mensink M, Phielix E, van de Weijer T, Sels JP, Schrauwen P, Hesselink MK. Restoration of muscle mitochondrial function and metabolic flexibility in type 2 diabetes by exercise training is paralleled by increased myocellular fat storage and improved insulin sensitivity. *Diabetes* 2010; 59(3):572-9.
- Metzler B, Schocke MF, Steinboeck P, Wolf C, Judmaier W, Lechleitner M, Lukas P, Pachinger O. Decreased high-energy phosphate ratios in the myocardium of men with diabetes mellitus type I. *J Cardiovasc Magn Reson* 2002; 4(4):493-502.
- Mo Z, Zhang M, Guan Y, Jian W. [Changes in calcium and magnesium levels of lymphocytes in patients with diabetes and hypertension]. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 1999; 24(5):471-3.
- Modi S, Bhattacharya M, Sekhri T, Rana P, Tripathi RP, Khushu S. Assessment of the metabolic profile in Type 2 diabetes mellitus and hypothyroidism through proton MR spectroscopy. *Magn Reson Imaging* 2008; 26(3):420-5.
- Moheet A, Emir UE, Terpstra M, Kumar A, Eberly LE, Seaquist ER, Oz G. Initial experience with seven tesla magnetic resonance spectroscopy of hypothalamic GABA during hyperinsulinemic euglycemia and hypoglycemia in healthy humans. *Magn Reson Med* 2014; 71(1):12-8.
- Moller L, Stodkilde-Jorgensen H, Jensen FT, Jorgensen JO. Fasting in healthy subjects is associated with intrahepatic accumulation of lipids as assessed by 1H-magnetic resonance spectroscopy. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114(8):547-52.
- Monsalve FA, Pyarasani RD, Delgado-Lopez F, Moore-Carrasco R. Peroxisome proliferator-activated receptor targets for the treatment of metabolic diseases. *Mediators Inflamm* 2013; 2013:549627.
- Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, Subramanian A, Sihag S, Lehar J, Puigserver P, Carlsson E, Ridderstrale M, Laurila E, Houstis N, Daly MJ, Patterson N, Mesirov JP, Golub TR, Tamayo P, Spiegelman B, Lander ES, Hirschhorn JN, Altshuler D, Groop LC. PGC-1alpha-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet* 2003; 34(3):267-73.

- Morais JBS, Severo JS, de Alencar GRR, de Oliveira ARS, Cruz KJC, Marreiro DDN, Freitas B, de Carvalho CMR, Martins M, Frota KMG. Effect of magnesium supplementation on insulin resistance in humans: A systematic review. *Nutrition* 2017; 38:54-60.
- Murakami K, Wada J, Ogawa D, Horiguchi CS, Miyoshi T, Sasaki M, Uchida HA, Nakamura Y, Makino H. The effects of telmisartan treatment on the abdominal fat depot in patients with metabolic syndrome and essential hypertension: Abdominal fat Depot Intervention Program of Okayama (ADIPO). *Diab Vasc Dis Res* 2013; 10(1):93-6.
- Ng LL, Davies JE, Ameen M. Intracellular free-magnesium levels in vascular smooth muscle and striated muscle cells of the spontaneously hypertensive rat. *Metabolism* 1992; 41(7):772-7.
- Northam EA, Rankins D, Lin A, Wellard RM, Pell GS, Finch SJ, Werther GA, Cameron FJ. Central nervous system function in youth with type 1 diabetes 12 years after disease onset. *Diabetes Care* 2009; 32(3):445-50.
- Oltmanns KM, Melchert UH, Scholand-Engler HG, Howitz MC, Schultes B, Schweiger U, Hohagen F, Born J, Peters A, Pellerin L. Differential energetic response of brain vs. skeletal muscle upon glycemic variations in healthy humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294(1):R12-6.
- Oz G, Tesfaye N, Kumar A, Deelchand DK, Eberly LE, Seaquist ER. Brain glycogen content and metabolism in subjects with type 1 diabetes and hypoglycemia unawareness. *J Cereb Blood Flow Metab* 2012; 32(2):256-63.
- Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C, Jenkins AB, Storlien LH. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes* 1997; 46(6):983-8.
- Paneni F, Costantino S, Cosentino F. Insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk. *Curr Atheroscler Rep* 2014; 16(7):419.
- Paolisso G, Barbagallo M. Hypertension, diabetes mellitus, and insulin resistance: the role of intracellular magnesium. *Am J Hypertens* 1997; 10(3):346-55.
- Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, Cusi K, Berria R, Kashyap S, Miyazaki Y, Kohane I, Costello M, Saccone R, Landaker EJ, Goldfine AB, Mun E, DeFronzo R, Finlayson J, Kahn CR, Mandarino LJ. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(14):8466-71.
- Pelikanova T. [Insulin resistance - its causes and therapy possibilities]. *Vnitr Lek* 2014; 60(9):746-55.
- Perseghin G, Scifo P, De Cobelli F, Pagliato E, Battezzati A, Arcelloni C, Vanzulli A, Testolin G, Pozza G, Del Maschio A, Luzi L. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a ¹H-¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes* 1999; 48(8):1600-6.
- Perseghin G, Lattuada G, Danna M, Sereni LP, Maffi P, De Cobelli F, Battezzati A, Secchi A, Del Maschio A, Luzi L. Insulin resistance, intramyocellular lipid content, and plasma adiponectin in patients with type 1 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285(6):E1174-81.
- Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, Esposito A, Belloni E, Canu T, Ragona F, Scifo P, Del Maschio A, Luzi L. Serum retinol-binding protein-4, leptin, and adiponectin concentrations are related to ectopic fat accumulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(12):4883-8.
- Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, DiPietro L, Cline GW, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003; 300(5622):1140-2.
- Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2004; 350(7):664-71.
- Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Lehrke M, Hendler RE, Shulman GI. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2005a; 54(3):603-8.

- Petersen KF, Dufour S, Shulman GI. Decreased insulin-stimulated ATP synthesis and phosphate transport in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *PLoS Med* 2005b; 2(9):e233.
- Phielix E, Brehm A, Bernroider E, Krssak M, Anderwald CH, Krebs M, Schmid AI, Nowotny P, Roden M. Effects of pioglitazone versus glimepiride exposure on hepatocellular fat content in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2013; 15(10):915-22.
- Praet SF, De Feyter HM, Jonkers RA, Nicolay K, van Pul C, Kuipers H, van Loon LJ, Prompers JJ. ³¹P MR spectroscopy and in vitro markers of oxidative capacity in type 2 diabetes patients. *MAGMA* 2006; 19(6):321-31.
- Qu H, Haberg A, Haraldseth O, Unsgard G, Sonnewald U. (13)C MR spectroscopy study of lactate as substrate for rat brain. *Dev Neurosci* 2000; 22(5-6):429-36.
- Raininko R, Mattsson P. Metabolite concentrations in supraventricular white matter from teenage to early old age: A short echo time 1H magnetic resonance spectroscopy (MRS) study. *Acta Radiol* 2010; 51(3):309-15.
- Randle PJ. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab Rev* 1998; 14(4):263-83.
- Rasouli N, Raue U, Miles LM, Lu T, Di Gregorio GB, Elbein SC, Kern PA. Pioglitazone improves insulin sensitivity through reduction in muscle lipid and redistribution of lipid into adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(5):E930-4.
- Ravikumar B, Carey PE, Snaar JE, Deelchand DK, Cook DB, Neely RD, English PT, Firbank MJ, Morris PG, Taylor R. Real-time assessment of postprandial fat storage in liver and skeletal muscle in health and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(4):E789-97.
- Ravikumar B, Gerrard J, Dalla Man C, Firbank MJ, Lane A, English PT, Cobelli C, Taylor R. Pioglitazone decreases fasting and postprandial endogenous glucose production in proportion to decrease in hepatic triglyceride content. *Diabetes* 2008; 57(9):2288-95.
- Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. 1988. *Nutrition* 1997; 13(1):65; discussion 64, 66.
- Reger MA, Watson GS, Green PS, Wilkinson CW, Baker LD, Cholerton B, Fishel MA, Plymate SR, Breitner JC, DeGroot W, Mehta P, Craft S. Intranasal insulin improves cognition and modulates beta-amyloid in early AD. *Neurology* 2008; 70(6):440-8.
- Ren J, Dimitrov I, Sherry AD, Malloy CR. Composition of adipose tissue and marrow fat in humans by 1H NMR at 7 Tesla. *J Lipid Res* 2008; 49(9):2055-62.
- Resnick LM, Gupta RK, Gruenspan H, Laragh JH. Intracellular free magnesium in hypertension: relation to peripheral insulin resistance. *J Hypertens Suppl* 1988; 6(4):S199-201.
- Resnick LM, Gupta RK, Gruenspan H, Alderman MH, Laragh JH. Hypertension and peripheral insulin resistance. Possible mediating role of intracellular free magnesium. *Am J Hypertens* 1990; 3(5 Pt 1):373-9.
- Resnick LM, Gupta RK, Bhargava KK, Gruenspan H, Alderman MH, Laragh JH. Cellular ions in hypertension, diabetes, and obesity. A nuclear magnetic resonance spectroscopic study. *Hypertension* 1991; 17(6 Pt 2):951-7.
- Resnick LM, Altura BT, Gupta RK, Laragh JH, Alderman MH, Altura BM. Intracellular and extracellular magnesium depletion in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1993a; 36(8):767-70.
- Resnick LM, Barbagallo M, Gupta RK, Laragh JH. Ionic basis of hypertension in diabetes mellitus. Role of hyperglycemia. *Am J Hypertens* 1993b; 6(5 Pt 1):413-7.
- Roden M. Non-invasive studies of glycogen metabolism in human skeletal muscle using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; 4(4):261-6.

- Roden M, Petersen KF, Shulman GI. Nuclear magnetic resonance studies of hepatic glucose metabolism in humans. *Recent Prog Horm Res* 2001; 56:219-37.
- Roh E, Song do K, Kim MS. Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. *Exp Mol Med* 2016; 48:e216.
- Ronquist G, Soussi B, Frithz G, Schersten T, Waldenstrom A. Disturbed energy balance in skeletal muscle of patients with untreated primary hypertension. *J Intern Med* 1995; 238(2):167-74.
- Ruderman NB, Carling D, Prentki M, Cacicedo JM. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2013; 123(7):2764-72.
- Sahin I, Alkan A, Keskin L, Cikim A, Karakas HM, Firat AK, Sigirci A. Evaluation of in vivo cerebral metabolism on proton magnetic resonance spectroscopy in patients with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2008; 22(4):254-60.
- Samuel VT, Shulman GI. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest* 2016; 126(1):12-22.
- Sarac K, Akinci A, Alkan A, Aslan M, Baysal T, Ozcan C. Brain metabolite changes on proton magnetic resonance spectroscopy in children with poorly controlled type 1 diabetes mellitus. *Neuroradiology* 2005; 47(7):562-5.
- Savage DB, Tan GD, Acerini CL, Jebb SA, Agostini M, Gurnell M, Williams RL, Umpleby AM, Thomas EL, Bell JD, Dixon AK, Dunne F, Boiani R, Cinti S, Vidal-Puig A, Karpe F, Chatterjee VK, O'Rahilly S. Human metabolic syndrome resulting from dominant-negative mutations in the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Diabetes* 2003; 52(4):910-7.
- Seaquist ER, Damberg GS, Tkac I, Gruetter R. The effect of insulin on in vivo cerebral glucose concentrations and rates of glucose transport/metabolism in humans. *Diabetes* 2001; 50(10):2203-9.
- Seaquist ER, Tkac I, Damberg G, Thomas W, Gruetter R. Brain glucose concentrations in poorly controlled diabetes mellitus as measured by high-field magnetic resonance spectroscopy. *Metabolism* 2005; 54(8):1008-13.
- Sebekova K, Stefikova K, Krivosikova Z, Spustova V. ³¹P NMR investigation of free intracellular magnesium, pH and energy balance in striated muscle of patients with kidney disease: relation to insulin resistance. *Bratisl Lek Listy* 1999; 100(8):411-6.
- Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Hakkinen AM, Goto T, Westerbacka J, Sovijarvi A, Halavaara J, Yki-Jarvinen H. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(7):3023-8.
- Sharma AM. The obese patient with diabetes mellitus: from research targets to treatment options. *Am J Med* 2006; 119(5 Suppl 1):S17-23.
- Shimabukuro M, Tanaka H, Shimabukuro T. Effects of telmisartan on fat distribution in individuals with the metabolic syndrome. *J Hypertens* 2007; 25(4):841-8.
- Shulman GI, Rothman DL, Jue T, Stein P, DeFronzo RA, Shulman RG. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med* 1990; 322(4):223-8.
- Scheen AJ. Prevention of type 2 diabetes mellitus through inhibition of the Renin-Angiotensin system. *Drugs* 2004; 64(22):2537-65.
- Scheuermann-Freestone M, Madsen PL, Manners D, Blamire AM, Buckingham RE, Styles P, Radda GK, Neubauer S, Clarke K. Abnormal cardiac and skeletal muscle energy metabolism in patients with type 2 diabetes. *Circulation* 2003; 107(24):3040-6.

Schick F, Eismann B, Jung WI, Bongers H, Bunse M, Lutz O. Comparison of localized proton NMR signals of skeletal muscle and fat tissue in vivo: two lipid compartments in muscle tissue. *Magn Reson Med* 1993; 29(2):158-67.

Schmid AI, Szendroedi J, Chmelik M, Krssak M, Moser E, Roden M. Liver ATP synthesis is lower and relates to insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34(2):448-53.

Schrauwen-Hinderling VB, Schrauwen P, Hesselink MK, van Engelshoven JM, Nicolay K, Saris WH, Kessels AG, Kooi ME. The increase in intramyocellular lipid content is a very early response to training. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(4):1610-6.

Schrauwen-Hinderling VB, Roden M, Kooi ME, Hesselink MK, Schrauwen P. Muscular mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes mellitus. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10(6):698-703.

Schrauwen-Hinderling VB, Mensink M, Hesselink MK, Sels JP, Kooi ME, Schrauwen P. The insulin-sensitizing effect of rosiglitazone in type 2 diabetes mellitus patients does not require improved in vivo muscle mitochondrial function. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(7):2917-21.

Schrauwen P, Schrauwen-Hinderling V, Hoeks J, Hesselink MK. Mitochondrial dysfunction and lipotoxicity. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1801(3):266-71.

Simental-Mendia LE, Sahebkar A, Rodriguez-Moran M, Guerrero-Romero F. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials on the effects of magnesium supplementation on insulin sensitivity and glucose control. *Pharmacol Res* 2016; 111:272-82.

Sinha R, Dufour S, Petersen KF, LeBon V, Enoksson S, Ma YZ, Savoye M, Rothman DL, Shulman GI, Caprio S. Assessment of skeletal muscle triglyceride content by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy in lean and obese adolescents: relationships to insulin sensitivity, total body fat, and central adiposity. *Diabetes* 2002; 51(4):1022-7.

Slamkova M, Zorad S, Krskova K. Alternative renin-angiotensin system pathways in adipose tissue and their role in the pathogenesis of obesity. *Endocr Regul* 2016; 50(4):229-240.

Snel M, Jonker JT, Schoones J, Lamb H, de Roos A, Pijl H, Smit JW, Meinders AE, Jazet IM. Ectopic fat and insulin resistance: pathophysiology and effect of diet and lifestyle interventions. *Int J Endocrinol* 2012; 2012:983814.

Solomon TP, Sistrun SN, Krishnan RK, Del Aguila LF, Marchetti CM, O'Carroll SM, O'Leary VB, Kirwan JP. Exercise and diet enhance fat oxidation and reduce insulin resistance in older obese adults. *J Appl Physiol* (1985) 2008; 104(5):1313-9.

Stannard SR, Thompson MW, Fairbairn K, Huard B, Sachinwalla T, Thompson CH. Fasting for 72 h increases intramyocellular lipid content in nondiabetic, physically fit men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283(6):E1185-91.

Stockhorst U, de Fries D, Steingrueber HJ, Scherbaum WA. Insulin and the CNS: effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. *Physiol Behav* 2004; 83(1):47-54.

Sugimoto K, Kazdova L, Qi NR, Hyakukoku M, Kren V, Simakova M, Zidek V, Kurtz TW, Pravenec M. Telmisartan increases fatty acid oxidation in skeletal muscle through a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma dependent pathway. *J Hypertens* 2008; 26(6):1209-15.

Szczepaniak LS, Babcock EE, Schick F, Dobbins RL, Garg A, Burns DK, McGarry JD, Stein DT. Measurement of intracellular triglyceride stores by H spectroscopy: validation in vivo. *Am J Physiol* 1999; 276(5 Pt 1):E977-89.

Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, Hobbs HH, Dobbins RL. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(2):E462-8.

- Szendroedi J, Schmid AI, Chmelik M, Toth C, Brehm A, Krssak M, Nowotny P, Wolzt M, Waldhausl W, Roden M. Muscle mitochondrial ATP synthesis and glucose transport/phosphorylation in type 2 diabetes. *PLoS Med* 2007; 4(5):e154.
- Szendroedi J, Anderwald C, Krssak M, Bayerle-Eder M, Esterbauer H, Pfeiler G, Brehm A, Nowotny P, Hofer A, Waldhausl W, Roden M. Effects of high-dose simvastatin therapy on glucose metabolism and ectopic lipid deposition in nonobese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2009a; 32(2):209-14.
- Szendroedi J, Chmelik M, Schmid AI, Nowotny P, Brehm A, Krssak M, Moser E, Roden M. Abnormal hepatic energy homeostasis in type 2 diabetes. *Hepatology* 2009b; 50(4):1079-86.
- Takeuchi K, Yamamoto K, Ohishi M, Takeshita H, Hongyo K, Kawai T, Takeda M, Kamide K, Kurtz TW, Rakugi H. Telmisartan modulates mitochondrial function in vascular smooth muscle cells. *Hypertens Res* 2013; 36(5):433-9.
- Tamura Y, Watada H, Sato F, Kumashiro N, Sakurai Y, Hirose T, Tanaka Y, Kawamori R. Effects of metformin on peripheral insulin sensitivity and intracellular lipid contents in muscle and liver of overweight Japanese subjects. *Diabetes Obes Metab* 2008; 10(9):733-8.
- Taylor DJ, Coppack SW, Cadoux-Hudson TA, Kemp GJ, Radda GK, Frayn KN, Ng LL. Effect of insulin on intracellular pH and phosphate metabolism in human skeletal muscle in vivo. *Clin Sci (Lond)* 1991; 81(1):123-8.
- Teranishi T, Ohara T, Maeda K, Zenibayashi M, Kouyama K, Hirota Y, Kawamitsu H, Fujii M, Sugimura K, Kasuga M. Effects of pioglitazone and metformin on intracellular lipid content in liver and skeletal muscle of individuals with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2007; 56(10):1418-24.
- Terpstra M, Moheet A, Kumar A, Eberly LE, Seaquist E, Oz G. Changes in human brain glutamate concentration during hypoglycemia: insights into cerebral adaptations in hypoglycemia-associated autonomic failure in type 1 diabetes. *J Cereb Blood Flow Metab* 2014; 34(5):876-82.
- Tesfaye N, Seaquist ER, Oz G. Noninvasive measurement of brain glycogen by nuclear magnetic resonance spectroscopy and its application to the study of brain metabolism. *J Neurosci Res* 2011; 89(12):1905-12.
- Thamer C, Machann J, Tschritter O, Haap M, Wietek B, Dahl D, Bachmann O, Fritsche A, Jacob S, Stumvoll M, Schick F, Haring HU. Relationship between serum adiponectin concentration and intramyocellular lipid stores in humans. *Horm Metab Res* 2002; 34(11-12):646-9.
- Thamer C, Machann J, Bachmann O, Haap M, Dahl D, Wietek B, Tschritter O, Niess A, Brechtel K, Fritsche A, Claussen C, Jacob S, Schick F, Haring HU, Stumvoll M. Intramyocellular lipids: anthropometric determinants and relationships with maximal aerobic capacity and insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(4):1785-91.
- Thomas EL, Hamilton G, Patel N, O'Dwyer R, Dore CJ, Goldin RD, Bell JD, Taylor-Robinson SD. Hepatic triglyceride content and its relation to body adiposity: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study. *Gut* 2005; 54(1):122-7.
- Thomas EL, Fitzpatrick JA, Malik SJ, Taylor-Robinson SD, Bell JD. Whole body fat: content and distribution. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc* 2013; 73:56-80.
- Thompson CH, Kemp GJ, Sanderson AL, Radda GK. Skeletal muscle mitochondrial function studied by kinetic analysis of postexercise phosphocreatine resynthesis. *J Appl Physiol (1985)* 1995; 78(6):2131-9.
- Tiikkainen M, Tamminen M, Hakkinen AM, Bergholm R, Vehkavaara S, Halavaara J, Teramo K, Rissanen A, Yki-Jarvinen H. Liver-fat accumulation and insulin resistance in obese women with previous gestational diabetes. *Obes Res* 2002; 10(9):859-67.
- Tschritter O, Preissl H, Hennige AM, Stumvoll M, Porubska K, Frost R, Marx H, Klosel B, Lutzenberger W, Birbaumer N, Haring HU, Fritsche A. The cerebrocortical response to hyperinsulinemia is reduced in overweight humans: a magnetoencephalographic study. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(32):12103-8.

Tschritter O, Preissl H, Hennige AM, Sartorius T, Grichisch Y, Stefan N, Guthoff M, Dusing S, Machann J, Schleicher E, Cegan A, Birbaumer N, Fritsche A, Haring HU. The insulin effect on cerebrocortical theta activity is associated with serum concentrations of saturated nonesterified Fatty acids. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(11):4600-7.

Tuulari JJ, Karlsson HK, Hirvonen J, Hannukainen JC, Bucci M, Helmio M, Ovaska J, Soinio M, Salminen P, Savisto N, Nummenmaa L, Nuutila P. Weight loss after bariatric surgery reverses insulin-induced increases in brain glucose metabolism of the morbidly obese. *Diabetes* 2013; 62(8):2747-51.

Tyson RL, Sutherland GR. Labeling of N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate in rat neocortex, hippocampus and cerebellum from [1-13C]glucose. *Neurosci Lett* 1998; 251(3):181-4.

van de Ven KC, Tack CJ, Heerschap A, van der Graaf M, de Galan BE. Patients with type 1 diabetes exhibit altered cerebral metabolism during hypoglycemia. *J Clin Invest* 2013; 123(2):623-9.

van der Graaf M, Tack CJ, de Haan JH, Klomp DW, Heerschap A. Magnetic resonance spectroscopy shows an inverse correlation between intramyocellular lipid content in human calf muscle and local glycogen synthesis rate. *NMR Biomed* 2010; 23(2):133-41.

van der Heijden GJ, Wang ZJ, Chu ZD, Sauer PJ, Haymond MW, Rodriguez LM, Sunehag AL. A 12-week aerobic exercise program reduces hepatic fat accumulation and insulin resistance in obese, Hispanic adolescents. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18(2):384-90.

van Tienen FH, Praet SF, de Feyter HM, van den Broek NM, Lindsey PJ, Schoonderwoerd KG, de Coo IF, Nicolay K, Prompers JJ, Smeets HJ, van Loon LJ. Physical activity is the key determinant of skeletal muscle mitochondrial function in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(9):3261-9.

Veronese N, Watutantrige-Fernando S, Luchini C, Solmi M, Sartore G, Sergi G, Manzato E, Barbagallo M, Maggi S, Stubbs B. Effect of magnesium supplementation on glucose metabolism in people with or at risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis of double-blind randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr* 2016; 70(12):1354-1359.

Virkkamaki A, Korshennikova E, Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Goto T, Halavaara J, Hakkinen AM, Yki-Jarvinen H. Intramyocellular lipid is associated with resistance to in vivo insulin actions on glucose uptake, antilipolysis, and early insulin signaling pathways in human skeletal muscle. *Diabetes* 2001; 50(10):2337-43.

Vlasakova Z, Pelikanova T, Karasova L, Skibova J. Insulin secretion, sensitivity, and metabolic profile of young healthy offspring of hypertensive parents. *Metabolism* 2004; 53(4):469-75.

Weiss R, Dufour S, Taksali SE, Tamborlane WV, Petersen KF, Bonadonna RC, Boselli L, Barbetta G, Allen K, Rife F, Savoye M, Dziura J, Sherwin R, Shulman GI, Caprio S. Prediabetes in obese youth: a syndrome of impaired glucose tolerance, severe insulin resistance, and altered myocellular and abdominal fat partitioning. *Lancet* 2003; 362(9388):951-7.

Wieggers EC, Rooijackers HM, Tack CJ, Heerschap A, de Galan BE, van der Graaf M. Brain Lactate Concentration Falls in Response to Hypoglycemia in Patients With Type 1 Diabetes and Impaired Awareness of Hypoglycemia. *Diabetes* 2016; 65(6):1601-5.

Wietek BM, Machann J, Mader I, Thamer C, Haring HU, Claussen CD, Stumvoll M, Schick F. Muscle type dependent increase in intramyocellular lipids during prolonged fasting of human subjects: a proton MRS study. *Horm Metab Res* 2004; 36(9):639-44.

Wohl P, Krusinova E, Hill M, Kratochvilova S, Zidkova K, Kopecky J, Neskudla T, Pravenec M, Klementova M, Vrbikova J, Wohl P, Mlejnek P, Pelikanova T. Effect of telmisartan on selected adipokines, insulin sensitivity, and substrate utilization during insulin-stimulated conditions in patients with metabolic syndrome and impaired fasting glucose. *Eur J Endocrinol* 2010; 163(4):573-83.

Wootton-Gorges SL, Buonocore MH, Kuppermann N, Marciniak JP, Barnes PD, Neely EK, DiCarlo J, McCarthy T, Glaser NS. Cerebral proton magnetic resonance spectroscopy in children with diabetic ketoacidosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28(5):895-9.

Wu FY, Tu HJ, Qin B, Chen T, Xu HF, Qi J, Wang DH. Value of dynamic ³¹P magnetic resonance spectroscopy technique in in vivo assessment of the skeletal muscle mitochondrial function in type 2 diabetes. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125(2):281-6.

Yoshimura E, Kumahara H, Tobina T, Ayabe M, Matono S, Anzai K, Higaki Y, Kiyonaga A, Tanaka H. A 12-week aerobic exercise program without energy restriction improves intrahepatic fat, liver function and atherosclerosis-related factors. *Obes Res Clin Pract* 2011; 5(3):e169-266.

Zhang PY. Cardiovascular disease in diabetes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014; 18(15):2205-14.

Zhang X, Li Y, Del Gobbo LC, Rosanoff A, Wang J, Zhang W, Song Y. Effects of Magnesium Supplementation on Blood Pressure: A Meta-Analysis of Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trials. *Hypertension* 2016; 68(2):324-33.

Zhao WQ, Chen H, Quon MJ, Alkon DL. Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3):71-81.

Zwingmann C, Richter-Landsberg C, Brand A, Leibfritz D. NMR spectroscopic study on the metabolic fate of [3-(¹³C)]alanine in astrocytes, neurons, and cocultures: implications for glia-neuron interactions in neurotransmitter metabolism. *Glia* 2000; 32(3):286-303.

Elektronický informační zdroj:
LCModel web page: <http://s-provencher.com/lcmodel.shtml> [online]

10. PŘEHLED VLASTNÍCH PUBLIKACÍ

Články publikované v zahraničních časopisech související s tématem dizertace

Kratochvílová S, Vyhnánovská P, Vlasáková Z, Hájek M, Skibová J, Pelikánová T. Metabolic characteristics of soleus muscle in relation to insulin action in the offspring of hypertensive parents. *Metabolism: clinical and experimental*. 2006, 55(10), 1388-1396. **IF 2,497**.

Kratochvílová S, Škoch A, Dezortová M, Švehlíková E, Hill M, Brunová J, Hájek M, Pelikánová T. Effect of acute hyperinsulinemia on brain metabolism evaluated by 1H MR spectroscopy - a Pilot study. *Physiological research*. 2014, 63(4), 513-519. **IF 1,293**.

Kratochvílová S, Škoch A, Wohl P, Švehlíková E, Dezortová M, Hill M, Hájek M, Pelikánová T. Intramyocellular lipid content in subjects with impaired fasting glucose after telmisartan treatment, a randomised cross-over trial. *Magnetic resonance imaging*. 2016, 34(3), 353-358. **IF 2,225**.

Wohl P, Krušinová E, Hill M, **Kratochvílová S**, Zídková K, Kopecký J, Neškudla T, Pravenec M, Klementová M, Vrbíková J, Wohl P, Mlejnek P, Pelikánová T. Effect of telmisartan on selected adipokines, insulin sensitivity, and substrate utilization during insulin-stimulated conditions in patients with metabolic syndrome and impaired fasting glucose. *European journal of endocrinology*. 2010, 163(4), 573-583. **IF 3,482**.

Články publikované v zahraničních časopisech (spoluautor)

Jindřichová E, **Kratochvílová S**, Kovář J. Glucose administration downregulates lipoprotein lipase activity in vivo: a study using repeated intravenous fat tolerance test. *Physiological research*. 2007, 56(2), 175-181. **IF 1,505**.

Škoch A, Jirů F, Dezortová M, Krušinová E, **Kratochvílová S**, Pelikánová T, Grodd W, Hájek M. Intramyocellular lipid quantification from 1H long echo time spectra at 1.5 and 3T by means of the LCModel technique. *Journal of magnetic resonance imaging*. 2006, 23(5), 728-735. **IF 2,637**.

Wohl P, Krušinová E, Klementová M, Wohl P, **Kratochvílová S**, Pelikánová T. Urinary urea nitrogen excretion during the hyperinsulinemic euglycemic clamp in Type 1 diabetes patients and healthy subjects. *Physiological research*. 2008, 57(2), 247-252. **IF 1,653**.

Články publikované v tuzemských časopisech (hlavní autor)

Kratochvílová S. Akarbóza v prevenci diabetu 2. typu: studie STOP - NIDDM. Kazuistiky v diabetologii. 2005, 3 (supl. 1), 22-26.

Kratochvílová S. Komentář k článku: "Excitabilita korových motoneuronů není u pacientů s diabetem 1. typu ovlivněna krátkodobou hyperglykemií" ze s. 199-203. Journal of diabetes and its complications (CZ). 2006, 4 (4), 203-204.

Kratochvílová S. 42. diabetologické dny. Luhačovice 2006. Journal of Diabetes and its Complications (CZ). 2006, 4 (2), 121-122.

Kratochvílová S. Zpráva z kongresu IDF (International Diabetes Federation), Kapské Město 3.-7.12. 2006. Journal of Diabetes and its Complications (CZ). 2007, 5 (1), 61.

Články publikované v tuzemských časopisech (spoluautor)

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Klementová M, Wohl P, Pelikánová T. Inzulinová rezistence u diabetiků - metabolická inflexibilita. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2005, 8(4), 174-179.

Brunová J, Kratochvílová S, Štěpánková J. Denosumab v léčbě osteoporózy u pacientů po orgánové transplantaci. Osteologický bulletin. 2016, 4, 111-118.

Postery s publikovaným abstraktem v zahraničních časopisech (hlavní autor)

Kratochvílová S, Vlasáková Z, Vyhnánovská P, Hájek M, Pelikánová T. Metabolic characteristics of soleus muscle in relation to insulin action in insulin-resistant and insulin-sensitive subjects. 18th International Diabetes Federation Congress. Paris, FR, 24.08.2003 - 29.08.2003. Zorg. International Diabetes Federation. Diabetes and metabolism. 2003, 29(spec.2), 4S113, č.abstr.1733.

Kratochvílová S, Vlasáková Z, Vyhnánovská P, Hájek M, Pelikánová T. Metabolic characteristics of soleus muscle in relation to insulin action in offspring of hypertensive parents. 20th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. Sao Paulo, BR, 15.02.2004 - 19.02.2004. Zorg. International Society of Hypertension. Journal of hypertension (suppl.). 2004, 22(suppl.1), S 50, č.abstr. P 169.

Kratochvílová S, Škoch A, Dezortová M, Krušinová E, Hájek M, Pelikánová T. Effect of acute hyperinsulinemia on brain metabolism evaluated by MR spectroscopy. Poster. 19th World Diabetes Congress. Cape Town, ZA, 03.12.2006 - 07.12.2006. Zorg. International Diabetes Federation. Diabetic medicine. 2006, 23(Suppl.4), 270, č. abstr. P727.

Kratochvílová S, Škoch A, Wohl P, Krušinová E, Dezortová M, Hájek M, Pelikánová T. Intramyocellular lipid content in subjects with impaired glucose tolerance after telmisartan treatment. 2nd International Congress on Prediabetes and the Metabolic Syndrome. Barcelona, ES, 25.04.2007 - 28.04.2007. Zorg. International Society of Diabetes and Vascular Disease. Diabetes and vascular disease research. 2007, 4(Suppl. 1), S153-S154.

Postery s publikovaným abstraktem v zahraničních časopisech (spoluautor)

Pelikánová T, Wohl P, Kratochvílová S, Kazdová L. Circadian variation in urinary excretion of sodium and its relation to nitric oxide metabolite and cGMP excretions in type 1 diabetes mellitus. 18th International Diabetes Federation Congress. Abstracts. Paris, 24.08.2003 - 29.08.2003. Zorg. International Diabetes Federation. Diabetologia (suppl.). 2003, 46(suppl.2), A 411, č.abstr.1201.

Pelikánová T, Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Kazdová L. Effect of telmisartan on insulin sensitivity, substrate utilization and plasma adipocytokine levels in patients with impaired regulation of glucose metabolism. Poster. 19th World Diabetes Congress. Cape Town, ZA, 03.12.2006 - 07.12.2006. Zorg. International Diabetes Federation. Diabetic medicine. 2006, 23(suppl.4), 537, č. abstr. P1512.

Švehlíková E, Klementová M, Kratochvílová S, Kopecký J, Wohl P, Kazdová L, Mlejnek P, Pravenec M, Hill M, Pelikánová T. Adipocyte fatty acid binding protein in diabetes mellitus - effects of hyperinsulinaemia an acute angiotensin II type 1 receptor blockade. 46th EASD. Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. Stockholm, SE, 20.09.2010 - 24.09.2010. Zorg. European Association for the Study of Diabetes. Diabetologia. 2010, 53(Suppl. 1), S254-S255, č. abstr. 634.

Vyhnanovská P, Škoch A, Fendrych P, Kratochvílová S, Pelikánová T, Hájek M. 1H and 31P MR spectroscopy of human muscles in healthy volunteers with positive and negative family history of hypertension. 20th Annual Scientific Meeting of the European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology. Rotterdam, NL, 18.09.2003 - 21.09.2003. Zorg. European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology. Magnetic resonance materials in physics, biology and medicine (suppl.). 2003, 16(suppl. 1), S275, č.abstr. 525.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Klementová M, Pelikánová T. Effect of telmisartan on insulin sensitivity and substrate utilization in patients with metabolic syndrome. Poster. American Diabetes Association. 66th Scientific Sessions. Washington, US, 09.06.2006 - 13.06.2006. Zorg. American Diabetes Association. Diabetes. 2006, 55(suppl. 1), A568, č. abstr. 2453-PO.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Kopecký J, Komers R, Pelikánová T. The effect of telmisartan on selected plasma adipocytokines and their expressions in subcutaneous adipose tissue in patients with high risk of diabetes. 67th Scientific Sessions. Chicago, US, 22.06.2007 - 26.06.2007. Zorg. American Diabetes Association. Diabetes. 2007, 56(Suppl. 1), A580, č.abstr. 2284-PO.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Kazdová L, Hill M, Mlejnek P, Pravenec M, Pelikánová T. The effect of telmisartan on selected insulin-stimulated plasma and subcutaneous adipocytokines in patients with metabolic syndrome. 29th ESPEN Congress. Prague, CZ, 08.09.2007 - 11.09.2007. Zorg. European Society of Clinical Nutrition and Metabolism. Clinical Nutrition Supplements. 2007, 2(2), 12.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Kazdová L, Hill M, Mlejnek P, Pravenec M, Pelikánová T. The effect of telmisartan on selected insulin-stimulated plasma and subcutaneous adipocytokines in patients with metabolic syndrome. 43rd EASD Annual Meeting. Amsterdam, NL, 18.09.2007 - 21.09.2007. Zorg. European Association for the Study of Diabetes. Diabetologia. 2007, 50(suppl. 1), S259-S260, č. abstr. 0629.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Klementová M, Komers R, Wohl P, Pelikánová T. Effect of telmisartan on insulin sensitivity, substrate utilization, plasma free fatty acids and plasma adipocytokine levels in patients with metabolic syndrome. Poster. 2nd International Congress on Prediabetes and the Metabolic Syndrome. Barcelona, ES, 25.04.2007 - 28.04.2007. Zorg. International Society on Diabetes and Vascular Disease. Diabetes and vascular disease research. 2007, 4(Suppl. 1), S165.

Wohl P, Švehlíková E, Kratochvílová S, Klementová M, Kopecký J, Pelikánová T. Effect of hyperinsulinemia on selected plasma and subcutaneous adipokines during angiotensin II type 1 receptor inhibition in patients with impaired fasting glucose. 32nd ESPEN Congress. Nice, FR, 05.09.2010 - 08.09.2010. Zorg. European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. Clinical Nutrition Supplements. 2010, 5(Suppl. 2), 12.

Wohl P, Švehlíková E, Kratochvílová S, Klementová M, Kopecký J, Pelikánová T. Effect of hyperinsulinaemia on selected plasma and subcutaneous adipokines during angiotensin II type receptor inhibition in patients with impaired fasting glucose. 46th EASD. Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. Stockholm, SE, 20.09.2010 - 24.09.2010. Zorg. European Association for the Study of Diabetes. Diabetologia. 2010, 53(Suppl. 1), S321, č. abstr. 809.

Přednášky a postery s publikovaným abstraktem v tuzemských časopisech (hlavní autor)

Kratochvílová S, Šimková R, Tesař V, Jirsa M, Pelikánová T. Ovlivnění hladiny vybraných plazmatických a močových antagonistů cytokinů u diabetes mellitus 1.typu akutní hyperglykemií a podáním furosemidu. 39.diabetologické dny. Luhačovice, 24.04.2003 - 26.04.2003. Zorg. Diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2003, 6(suppl.1), 36-37, č.abstr.40.

Kratochvílová S, Vlasáková Z, Vyhnanovská P, Hájek M, Pelikánová T. Metabolické charakteristiky musculus soleus ve vztahu k inzulinové rezistenci. 40.diabetologické dny. Luhačovice, 22.04.2004 - 24.04.2004. Zorg.

Diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2004, 7(suppl. 1), 29-30, č.abstr. 27.

Kratochvílová S, Škoch A, Dezortová M, Krušinová E, Hájek M, Pelikánová T. Vliv akutní hyperinzulinemie na metabolismus CNS hodnocený 1h MR spektroskopii. Poster. 42. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 20.04.2006 - 22.04.2006. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2006, 9(suppl. 2), 32, č. abstr. 40.

Kratochvílová S, Škoch A, Dezortová M, Krušinová E, Hájek M, Pelikánová T. Vliv akutní hyperinzulinemie na metabolismus CNS hodnocený 1H MR spektroskopii. 45. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 23.04.2009 - 25.04.2009. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2009, 12(suppl. 1), 29-30, č. abstr. 27.

Kratochvílová S, Wohl P, Brunová J. Kazuistika: T3 toxikóza způsobená folikulárním karcinomem. XXXIV. endokrinologické dny. Brno, CZ, 20.10.2011 - 22.10.2011. Zorg. Česká endokrinologická společnost ČLS JEP. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2011, 14(suppl. 2), 50.

Kratochvílová S, Havrdová T, Saudek F, Brunová J. Retrospektivní analýza poruch kostního metabolismu u pacientů zařazených do čekací listiny ke kombinované transplantaci ledviny a slinivky. Poster. 48. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 19.04.2012 - 21.04.2012. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2012, 15(suppl. 1), 50, č. abstr. P30.

Kratochvílová S, Škoch A, Wohl P, Švehlíková E, Dezortová M, Hájek M, Hill M, Pelikánová T. Vliv telmisartanu na intramyocelulární obsah lipidů u osob s porušenou glukózovou tolerancí. Poster. 49. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 18.04.2013 - 20.04.2013. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2013, 16(suppl. 1), 57, č. abstr. P42.

Kratochvílová S, Wohl P, Hošková L, Kettner J, Vrbská J, Kudla M, Brunová J. Komplikované vyšetřování incidentalomu u pacienta v kritickém stavu. Poster. XXXVI. endokrinologické dny. Plzeň, CZ, 10.10.2013 - 12.10.2013. Zorg. Česká endokrinologická společnost ČLS JEP. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2013, 16(příl.1), 27.

Kratochvílová S, Malíková P, Neškudla T, Pelikánová T. Jak vyléčit glykovaný hemoglobin? Kazuistika. Poster. 51. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 16.04.2015 - 18.04.2015. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2015, 18(suppl. 1), 70-71, č. abstr. P53.

Kratochvílová S, Zahradnická M, Brunová J. Retrospektivní analýza kostního metabolismu u pacientů zařazených v letech 2011 - 2014 do čekací listiny ke kombinované transplantaci ledviny a slinivky. 52. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 14.04.2016 - 16.04.2016. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa. 2016, 19(suppl. 1), 26.

Kratochvílová S, Brunová J. Vývoj kostní hustoty u pacientů zařazených na čekací listinu ke kombinované transplantaci ledviny a slinivky (retrospektivní analýza). 53. diabetologické dny. Luhačovice, 05.04.2017-08.04.2017. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie – Metabolismus – Endokrinologie – Výživa. 2017, 20(suppl 1), 45

Přednášky a postery s publikovaným abstraktem v tuzemských časopisech (spoluautor)

Bém R, Jirkovská A, Brunová J, Dubský M, Schubertová M, Wosková V, Fejfarová V, Kratochvílová S, Klečáková M. Význam kvantitativní ultrasonometrie patní kosti u pacientů s diabetem. 49. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 18.04.2013 - 20.04.2013. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2013, 16(suppl. 1), 30, č. abstr. 29.

Brunová J, Kratochvílová S. Osteoporóza a osteopatie u transplantovaných pacientů. XXXIV. endokrinologické dny. Brno, CZ, 20.10.2011 - 22.10.2011. Zorg. Česká endokrinologická společnost ČLS JEP. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2011, 14(suppl. 2), 41.

Brunová J, Kratochvílová S. Selektivní resistance k substituční léčbě thyroxinem a její příčiny. XXXVI. endokrinologické dny. Plzeň, CZ, 10.10.2013 - 12.10.2013. Zorg. Česká endokrinologická společnost ČLS JEP. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2013, 16(příl.1), 14-15.

Brunová J, Kratochvílová S. Osteoporóza a osteopenie u diabetických pacientů po transplantaci ledviny a pankreatu. 18. kongres českých a slovenských osteologů. Brno, CZ, 10.09.2015 - 12.09.2015. Zorg. Společnost pro metabolická onemocnění skeletu. Osteologický bulletin. 2015, 20(2), 70.

Klementová M, Wohl P, Švehlíková E, Kratochvílová S, Kopecký J, Halbhuber Z, Blatný R, Pelikánová T. Vliv telmisartanu a hyperinzulinémie na expresi genů u pacientů s poruchou glukózové tolerance. Poster. 49. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 18.04.2013 - 20.04.2013. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2013, 16(suppl. 1), 40, č. abstr. P5.

Kovář J, Jindřichová E, Kratochvílová S. Vliv hyperinzulinémie po podání glukózy na aktivitu lipoproteinové lipázy u zdravých dobrovolníků. 9.kongres o ateroskleróze. Špindlerův Mlýn, CZ, 01.12.2005 - 03.12.2005. Zorg. Česká společnost pro aterosklerózu. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2005, 8(suppl. 3), 26.

Krušinová E., Wohl P, Kratochvílová, S, Kopecký J Jr., Mlejnek P, Pravenec M, Kazdová L, Pelikánová T. Adipocytární fatty acid binding protein (A-FABP) během hyperinzulinémie s a bez akutní blokády AT-1 receptoru u nemocných s diabetem 2. typu. 45. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 23.04.2009 - 25.04.2009. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2009, 12(suppl. 1), 27, č. abstr. 21.

Krušinová E, Wohl P, Kratochvílová S, Kopecký J Jr., Mlejnek P, Pravenec M, Kazdová L, Pelikánová T. Akutní blokáda AT-1 receptoru indukuje zvýšení adiponektinu u zdravých osob. Poster. 45. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 23.04.2009 - 25.04.2009. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2009, 12(suppl. 1), 56-57, č. abstr. P42.

Maštalířová O, Chmelová M, Kratochvílová S. Setkáváte se i vy s inzulinomem?. 42. diabetologické dny. Pracovní den Sekce sester ČDS. Luhačovice, 21.04.2006 - 21.04.2006. Zorg. Česká diabetologická společnost. Sestra v diabetologii. 2006, 2(supl. 1), 8.

Švehlíková E, Kratochvílová S, Wohl P, Zídková K, Kazdová L, Mlejnek P, Pravenec M, Pelikánová T. Endokrinní aktivita tukové tkáně u osob s různými kategoriemi glukózové intolerance. 47. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 14.04.2011 - 16.04.2011. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2011, 14(suppl. 1), 23- 24, č. abstr. 19.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Klementová M, Pelikánová T. Efekt telmisartanu na inzulinovou senzitivitu a substrátovou utilizaci u nemocných s metabolickým syndromem (cross-over randomizovaná studie). 42. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 20.04.2006 - 22.04.2006. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2006, 9(suppl. 2), 51, č. abstr. 78.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Klementová M, Wohl P, Komers R, Pelikánová T. Hodnocení vlivu telmisartanu na inzulinovou senzitivitu, substrátovou utilizaci, plazmatické hladiny adipocytokinů a neesterifikovaných mastných kyselin u osob s metabolickým syndromem. 10. kongres o ateroskleróze. Špindlerův Mlýn, CZ, 07.12.2006 - 09.12.2006. Zorg. Česká společnost pro aterosklerózu, Česká angiologická společnost ČLS JEP. Vnitřní lékařství. 2006, 52(12), 1235.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Mlejnek P, Pravenec M, Hill M, Pelikánová T. Vliv telmisartanu na vybrané hladiny plazmatických adipocytokinů a jejich expresi v podkožní tukové tkáni u nemocných s metabolickým syndromem. XI. kongres o ateroskleróze. Špindlerův Mlýn, CZ, 06.12.2007 - 08.12.2007. Zorg. Česká společnost pro aterosklerózu ve spolupráci s IAS. Vnitřní lékařství. 2007, 53(12), 1358.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Mlejnek P, Pravenec M, Komers R, Pelikánová T. Hodnocení vlivu telmisartanu na vybrané hladiny plazmatických adipocytokinů a jejich expresi v podkožní tukové tkáni u nemocných s porušenou regulací glukózy. XLIII. Diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 19.04.2007 - 21.04.2007. Zorg. ČLS JEP, Česká a Slovenská diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2007, 10(suppl. 1), 20, č.abstr. 12.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Kazdová L, Pelikánová T. Plazmatické koncentrace vybraných adipokinů u nemocných s diabetem mellitem, porušenou glukózovou homeostázou a zdravých jedinců v průběhu hyperinzulinového euglykemického clampu. 44. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 17.04.2008 - 19.04.2008. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2008, 11(suppl. 1), 22-23, č. abstr. 15.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Kazdová L, Pelikánová T. Plazmatické koncentrace vybraných adipokinů u nemocných s diabetem mellitem, porušenou glukózovou homeostázou a zdravých jedinců v průběhu hyperinzulinového euglykemického clampu. Poster. XII. kongres o ateroskleróze. Špindlerův Mlýn, CZ, 11.12.2008 - 13.12.2008. Zorg. ČLS JEP, Česká a Slovenská diabetologická společnost. Vnitřní lékařství. 2008, 54(12), 1237.

Wohl P, Kratochvílová S, Zídková K, Pelikánová T. Kazuistika hypertyreózy imitující rejekci transplantované slinivky břišní. Poster. 46. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 22.04.2010 - 24.04.2010. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2010, 13(suppl. 1), 57, č. abstr. P38.

Wohl P, Švehlíková E, Kratochvílová S, Klementová M, Kopecký J, Pelikánová T. Vliv hyperinzulinemie v průběhu blokády angiotensinu typu II receptoru 1 na vybrané plazmatické a podkožní adipocytokiny u nemocných s metabolickým syndromem a porušenou glykemií na lačno. XIV. kongres o ateroskleróze. Špindlerův Mlýn, CZ, 09.12.2010 - 11.12.2010. Cor et Vasa (Kardio). 2011, 53(3), 208.

Wohl P, Kopecký J, Klementová M, Kratochvílová S, Baštová H, Brunová J, Pelikánová T. Problematická léčba hypotyreózy u pacientky se syndromem ultrakrátkého střeva - kazuistika. Poster. 51. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 16.04.2015 - 18.04.2015. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2015, 18(suppl. 1), 71, č. abstr. P54.

Wohl P, Kopecký J, Kratochvílová S, Klementová M, Velebová K, Baštová H, Brunová J, Pelikánová T. Atypická manifestace Cushingova syndromu u pacientky se syndromem krátkého střeva na domácí parenterální výživě. Poster. 52. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 14.04.2016 - 16.04.2016. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa. 2016, 19(suppl. 1), 60, č. abstr. P36.

Zídková K, Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Kazdová L, Klementová M, Pelikánová T. Vliv telmisartanu na plazmatické koncentrace vybraných adipokinů u nemocných s metabolickým syndromem. 45. diabetologické dny. Luhačovice, CZ, 23.04.2009 - 25.04.2009. Zorg. Česká diabetologická společnost. Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa. 2009, 12(suppl. 1), 31, č. abstr. 30.

Abstrakt publikovaný v zahraničních monografických sbornících (hlavní autor)

Kratochvílová S, Wohl P, Hošková L, Kettner J, Vrbská J, Kudla M, Brunová J. Complicated investigation of adrenal incidentaloma in a critically ill patient – a case study. 17th European Congress of Endocrinology, Dublin, IE. 16.05.2015-20.05.2015. Zorg. The European Society of Endocrinology. In: Endocrine Abstracts May 2015, Volume 37, s. 499.

Kratochvílová S, Zahradnická M, Brunová J. Retrospective analysis of bone metabolism in patients waiting for simultaneous pancreas kidney transplantation. 18th European Congress of Endocrinology, Munich, GE. 28.05.2016-31.05.2016. Zorg. The European Society of Endocrinology. In: Endocrine Abstracts May 2016, Volume 41, s. 78.

Abstrakt publikovaný v zahraničních monografických sbornících (spoluautor)

Bém R, Jirkovská A, Brunová J, Dubský M, Fejfarová V, Schubertová M, Wosková V, Kratochvílová S. Are diabetic patients with chronic kidney disease at higher risk for Charcot foot assessed by calcaneal ultrasonometry than patients with neuropathy?. 11th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group. Barcelona, ES. 20.09.2013 - 22.09.2013. Zorg. Diabetic Foot Study Group. In: DFSG Abstract Book. B.m.n., 2013, s. 21.

Bém R, Jirkovská A, Brunová J, Dubský M, Fejfarová V, Schubertová M, Wosková V, Kratochvílová S. Role of calcaneal ultrasonometry for assessment of risk of Charcot foot in high risk population. World Diabetes

Congress. Melbourne, AU. 02.12.2013 - 06.12.2013. In: IDF Abstract Book. B.m.n., 2013, s. nestr., no. abstr. PD-0665.

Brunová J, Kratochvílová S. Denosumab therapy of osteoporosis in patients after solid organ transplantation and impaired renal function. European Calcified Tissue Society Congress 2014, Prague, CZ. 17.05.2014-20.05.2014. Zorg. The European Calcified Tissue Society. In: Bone Abstracts May 2014, Vol 3, s. 140.

Brunová J, Kratochvílová S, Bruna J. Osteoporosis therapy with denosumab in patients after solid organ transplantation. 18th European Congress of Endocrinology, Munich, GE. 28.05.2016-31.05.2016. Zorg. The European Society of Endocrinology. In: Endocrine Abstracts May 2016, Volume 41, s. 176.

Brunová J, Kratochvílová S, Bruna J. Osteoporosis and osteopenie in patients after kidney and pancreas transplantation. 17th European Congress of Endocrinology, Dublin, IE. 16.05.2015-20.05.2015. Zorg. The European Society of Endocrinology. In: Endocrine Abstracts May 2015, Volume 37, s. 95.

Škoch A, Kratochvílová S, Wohl P, Krušinová E, Dezortová M, Lánská V, Pelikánová T, Hájek M. IMCL quantification by 1H MR spectroscopy in subjects with impaired glucose tolerance after telmisartan treatment. 23rd Annual Scientific Meeting of ESMRMB. Warsaw, PL. 21.03.2006 - 23.09.2006. Zorg. European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology. In: ESMRMB 2006. 23rd Annual Scientific Meeting [CD ROM]. B.m.: 2006, s. 216.

Krušinová E, Wohl P, Kratochvílová S, Kopecký J, Kahleová H, Mlejnek P, Pravenec M, Kazdová L, Pelikánová T. Acute angiotensin II type 1 receptor blockade induces an increase in adiponectin in healthy subjects. 20th World Diabetes Congress. Montreal, CA. 18.10.2009 - 22.10.2009. In: 20th World Diabetes Congress. Abstract Book. B.m.: International Diabetes Federation, 2009, s. 317.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Hill M, Mlejnek P, Pravenec M, Pelikánová T. The effect of telmisartan on insulin-stimulated selected plasma adipocytokine levels in patients with metabolic syndrome.. 20th World Diabetes Congress - IDF. Montreal, CA. 18.10.2009 - 22.10.2009. Zorg. International Diabetes Federation. In: 20th World Diabetes Congress - IDF. Abstract Book. B.m.n., 2009, s. 316-317.

Abstrakt publikovaný v domácích monografických sbornících (hlavní autor)

Kratochvílová S, Škoch A, Wohl P, Krušinová E, Dezortová M, Hájek M, Lánská V, Pelikánová T. Vliv telmisartanu na intramyocelulární obsah lipidů u osob s porušenou glukózovou tolerancí. XVI. Diabetologické dny s mezinárodní účastí. Bratislava, SK. 01.06.2006 - 03.06.2006. Zorg. Slovenská diabetologická spoločnosť SLS. In: XVI. Diabetologické dny s mezinárodní účastí. Program a abstrakta, 2006, s. 54.

Kratochvílová S, Wohl P, Krušinová E, Zídková K, Klementová M, Kazdová L, Hill M, Mlejnek P, Pravenec M, Pelikánová T. Vliv podávání telmisartanu na plazmatické koncentrace a tkáňové exprese vybraných adipokinů u osob s metabolickým syndromem. XXXII. endokrinologické dny. Český Krumlov, CZ. 24.09.2009 - 26.09.2009. Zorg. Česká a Slovenská endokrinologická spol.. In: XXXII. endokrinologické dny (s mezinárodní účastí). Sborník abstrakt. Praha: Galén, 2009, s. 108-109.

Abstrakt publikovaný v domácích monografických sbornících (spoluautor)

Šišáková D, Lapešová D, Kovář J, Kratochvílová S. Intravenózní tukový toleranční test. 39. diabetologické dny. 9. pracovní den sekce sester při České diabetologické společnosti. Luhačovice. 25.04.2003 - 25.04.2003. Zorg. Česká diabetologická společnost. In: 39. diabetologické dny. 9. pracovní den sekce sester při České diabetologické společnosti. Abstrakta. Praha: Čes. lék. spol. J.E.Purkyně, 2003, s. 8.

Škoch A, Kratochvílová S, Wohl P, Krušinová E, Dezortová M, Lánská V, Pelikánová T, Hájek M. Měření hladiny intramyocelulárních lipidů metodou 1H MR spektroskopie u subjektů s poruchou glukózové tolerance léčených telmisartanem. 11. Vědecké zasedání MR sekce ČRS. Harrachov, CZ. 19.03.2007 - 21.03.2007. Zorg. Radiologická klinika FN Brno-Bohunice. In: 11. vědecké zasedání MR sekce ČRS. Brno: Avtokrat, 2007, s. 20.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Klementová M, Wohl P, Pelikánová T. Vliv insulinu na odpady urey v moči a oxidaci proteinů u diabetiků 1. typu. Klinická výživa a metabolická péče v gastroenterologii a

gerontologii. Hradec Králové, CZ. 02.03.2006 - 04.03.2006. Zorg. Společnost klinické výživy a intenzivní metabolické péče ČLS JEP. In: Sborník str. 128.

Wohl P, Kratochvílová S, Wohl R, Wohl P, Pelikánová, T. Inzulínová rezistence a blokátory angiotensin II typ 1 receptoru (potenciální metabolické účinky). 13. dny intenzivní medicíny. Kroměříž, CZ. 14.06.2006 - 16.06.2006. Zorg. Anesteziologicko-resuscitační klinika 1. LF UK a FTN. In: R. ZAZULA ed. Ročenka intenzivní medicíny 2006. Sborník přednášek. Praha: ARK 1.LF UK, 2006, s. 118-124.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Klementová M, Wohl P, Komers R, Pelikánová, T. Efekt telmisartanu na insulinovou sensitivitu, substrátovou utilizaci a plasmatické hladiny adipocytokinů u osob s metabolickým syndromem. XVI. Diabetologické dny s mezinárodní účastí. Bratislava, SK. 01.06.2006 - 03.06.2006. Zorg. Slovenská diabetologická spoločnosť SLS. In: XVI. Diabetologické dny s mezinárodní účastí. Program a abstrakta 2006, s. 93.

Wohl P, Krušinová E, Kratochvílová S, Klementová M, Wohl P, Komers R, Pelikánová T. Efekt telmisartanu na insulinovou sensitivitu, substrátovou utilizaci, plasmatické hladiny adipocytokinů a neesterifikovaných mastných kyselin u osob s metabolickým syndromem. Obezitologie 2006. Celostátní konference se zahraniční účastí. Brno, CZ. 09.11.2006 - 11.11.2006. Zorg. Česká obezitologická společnost. In: Obezitologie 2006. Program a sborník abstrakt 2006, s. 26.

Wohl P, Kratochvílová S, Pelikánová T. Kazuistika hyperthyreózy imitující rejekci transplantované slinivky břišní. XXXII. endokrinologické dny. Český Krumlov, CZ. 24.09.2009 - 26.09.2009. Zorg. Česká a Slovenská endokrinologická spol.. In: XXXII. endokrinologické dny. Sborník abstrakt. Praha: b.n., 2009, s. 136.

Wohl P, Kratochvílová S, Kopecký J, Bašťová H. Prevence osteopenie u pacientů na DPV. XXIX Mezinárodní kongres SKVIMP. Hradec Králové, CZ. 7.3.2013-9.3.2013. Zorg. Společnost pro klinickou výživu a intenzivní metabolickou péči ČLS JEP. In: Sborník prezentací XXIX. Mezinárodní kongres SKVIMP, s. 61

Přednáška bez abstraktu

Kratochvílová S. Současné trendy v inzulínoterapii. Kurz moderní diabetologie pro zdravotní sestry. Praha, CZ. 19.01.2006 - 19.01.2006. Zorg. Edukační centrum pro diabetiky.

Kratochvílová S, Wohl P, Brunová J. Maskovaný hypopituitarismus u pacientky po transplantaci ledviny. V. hradecký postgraduální kurz v endokrinologii. Hradec Králové, CZ. 17.05.2012 - 19.05.2012. Zorg. Česká endokrinologická společnost ČLS JEP.

11. SEZNAM PŘÍLOH DIZERTAČNÍ PRÁCE

Příloha č. 1: Kratochvílová S, Vyhnánovská P, Vlasáková Z, Hájek M, Skibová J, Pelikánová T. Metabolic characteristics of soleus muscle in relation to insulin action in the offspring of hypertensive parents. *Metabolism: clinical and experimental*. 2006, 55(10), 1388-1396. **IF 2,497.**

Příloha č. 2: Kratochvílová S, Škoch A, Wohl P, Švehlíková E, Dezortová, M., Hill M, Hájek M, Pelikánová T. Intramyocellular lipid content in subjects with impaired fasting glucose after telmisartan treatment, a randomised cross-over trial. *Magnetic resonance imaging*. 2016, 34(3), 353-358. **IF 2,225.**

Příloha č. 3: Kratochvílová S, Škoch A, Dezortová M, Švehlíková E, Hill M, Brunová J, Hájek M, Pelikánová T. Effect of acute hyperinsulinemia on brain metabolism evaluated by 1H MR spectroscopy - a Pilot study. *Physiological research*. 2014, 63(4), 513-519. **IF 1,293.**

Příloha č. 4: Wohl P, Krušinová E, Hill M, Kratochvílová S, Zidková K, Kopecký J, Neškudla T, Pravenec M, Klementová M, Vrbíková J, Wohl P, Mlejnek P, Pelikánová T. Effect of telmisartan on selected adipokines, insulin sensitivity, and substrate utilization during insulin-stimulated conditions in patients with metabolic syndrome and impaired fasting glucose. *European journal of endocrinology*. 2010, 163(4), 573-583. **IF 3,482.**

Příloha č. 5: Škoch A, Jirů F, Dezortová M, Krušinová E, Kratochvílová S, Pelikánová T, Grodd W, Hájek M. Intramyocellular lipid quantification from 1H long echo time spectra at 1.5 and 3T by means of the LCMModel technique. *Journal of magnetic resonance imaging*. 2006, 23(5), 728-735. **IF 2,637.**

Příloha č. 6: Jindřichová E, Kratochvílová S, Kovář J. Glucose administration downregulates lipoprotein lipase activity in vivo: a study using repeated intravenous fat tolerance test. *Physiological research*. 2007, 56(2), 175-181. **IF 1,505.**

Příloha č. 7: Wohl P, Krušinová E, Klementová M, Wohl P, Kratochvílová S, Pelikánová, T. Urinary urea nitrogen excretion during the hyperinsulinemic euglycemic clamp in Type 1 diabetes patients and healthy subjects. *Physiological research*. 2008, 57(2), 247-252. **IF 1,653.**