

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



**MUDr. Radka Doležalová**

**ÚLOHA TUKOVÉ TKÁNĚ PŘI ROZVOJI ENDOTELIÁLNÍ DYSFUNKCE,  
ATEROSKLERÓZY A DALŠÍCH KOMPLIKACÍ METABOLICKÉHO  
SYNDROMU: VLIV DIETNÍCH A FARMAKOLOGICKÝCH INTERVENČÍ**

**THE ROLE OF ADIPOSE TISSUE IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION,  
ATHEROSCLEROSIS AND OTHER COMPLICATIONS OF METABOLIC  
SYNDROME: INFLUENCE OF DIET AND PHARMACOTHERAPY**

**Dizertační práce**

**Vedoucí závěrečné práce: prof.MUDr.Martin Haluzík, DrSc.**

Praha 2010

# Obsah

<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....</b>	<b>4</b>
<b>1. ÚVOD .....</b>	<b>7</b>
<b>2. CÍLE PRÁCE .....</b>	<b>8</b>
<b>3. METABOLICKÝ SYNDROM .....</b>	<b>9</b>
<b>4. TUKOVÁ TKÁŇ .....</b>	<b>10</b>
4.1. Distribuce tukové tkáně .....	11
4.2. Tuková tkáň jako sekreční orgán .....	11
4.2.1. Adipocyty vs. stromální/vaskulární frakce tukové tkáně .....	12
4.2.2. Hormony tukové tkáně .....	14
4.3. Tuková tkáň a inzulinová rezistence .....	16
4.3.1. Volné mastné kyseliny a metabolismus glukózy v játrech .....	17
4.3.2. Volné mastné kyseliny a metabolismus glukózy ve svalu .....	18
4.3.3. Volné mastné kyseliny a sekrece inzulinu .....	19
4.4. Tuková tkáň a zánět .....	19
4.5. Vliv chronické malnutrice na funkci tukové tkáně .....	22
4.5.1. Mentální anorexie .....	22
4.5.2. Vliv chronické malnutrice na koncentrace vybraných adipokinů .....	23
<b>5. ENDOTELIÁLNÍ DYSFUNKCE/ATEROSKLERÓZA .....</b>	<b>25</b>
5.1. Fyziologické funkce endotelu .....	26
5.2. Diagnostika endoteliální dysfunkce .....	30
5.2.1. Adhezivní molekuly .....	30
5.2.2. Adhezivní molekuly jako potenciální biomarkery kardiovaskulárního rizika - výsledky klinických studií .....	31
5.3. Patogeneze zánětu cévní stěny .....	32
5.4. Možnosti terapeutického ovlivnění endoteliální dysfunkce .....	36
5.4.1. Nefarmakologická intervence .....	36
5.4.2. Farmakologická intervence .....	37
5.5. Úloha nukleárních receptorů v procesu aterosklerózy .....	38
5.5.1. PPAR- $\alpha$ a ateroskleróza .....	39
5.5.2. PPAR- $\gamma$ a ateroskleróza .....	40
5.5.2.1. Hlavní účinky PPAR- $\gamma$ .....	41

5.5.2.2.	PPAR- $\gamma$ a vybrané sekreční produkty tukové tkáně .....	43
5.5.2.3.	PPAR- $\gamma$ , chronický zánět a endoteliální dysfunkce .....	44
5.5.2.4.	Vliv aktivace PPAR- $\gamma$ na funkci endotelu - výsledky klinických studií .....	45
5.5.2.5.	Vliv aktivace PPAR- $\gamma$ na riziko restenózy po koronární angioplastice - výsledky klinických studií .....	46
5.5.2.6.	Potenciální proaterogenní vlivy PPAR- $\gamma$ .....	47
<b>6.</b>	<b>METODIKA STUDIÍ</b> .....	<b>48</b>
6.1.	Hodnocení antropometrických, biochemických a hormonálních parametrů .....	48
6.2.	Biopsie tukové tkáně .....	48
6.3.	Hodnocení exprese mRNA adipokinů v tukové tkáni .....	49
6.4.	Statistická analýza dat .....	50
<b>7.</b>	<b>VLASTNÍ VÝSLEDKY</b> .....	<b>51</b>
7.1.	Vliv terapie PPAR- $\gamma$ agonisty na markery endoteliální dysfunkce u pacientů s DM 2. typu .....	51
7.2.	Změny endokrinní funkce tukové tkáně u pacientek s mentální anorexií: srovnání koncentrací cirkulujících adipokinů a jejich exprese v subkutánní tukové tkáni .....	53
<b>8.</b>	<b>DISKUZE</b> .....	<b>55</b>
<b>9.</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>61</b>
<b>10.</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>63</b>
<b>11.</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>65</b>
<b>12.</b>	<b>SEZNAM PUBLIKACÍ</b> .....	<b>91</b>
<b>13.</b>	<b>PŘÍLOHY</b> .....	<b>96</b>
13.1.	Kopie vlastních publikací v odborných časopisech	
	Effect of PPAR- $\gamma$ agonist treatment on markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus.....	97
	Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: comparison of circulating levels versus subcutaneous mRNA expression.....	105
13.2.	Prohlášení autorky.....	110
13.3.	Identifikační záznam s abstrakty a klíčovými slovy.....	111

## Seznam použitých zkratk

ABP	aktin vázající proteiny (actin binding proteins)
ACEI	inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu
AGE	pozdní produkty glykace (advanced glycation endproducts)
AHA	American Heart Association
ASP	acylaci stimulující protein
AT II	angiotenzin II
ATP	adenosintrifosfát
BMI	body mass index
CCR2	CC chemokinový receptor 2
CD68	Cluster of Differentiation 68
CSF-3	kolonie stimulující faktor 3
CRP	C-reaktivní protein
CT	výpočetní tomografie
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ED	endoteliální dysfunkce
EDHF	endotelem tvořený hyperpolarizující faktor
EDRF	endoteliální relaxační faktor
eNOS	endoteliální NO syntáza
ET-1	endotelin-1
FABP	mastné kyseliny vázící protein (fatty acid binding protein)
FGF	fibroblastový růstový faktor (fibroblast growth factor)
GIT	gastrointestinální trakt
GLUT-4	glukózový transportér-4
HbA1c	glykovaný hemoglobin
HDL	lipoproteiny o vysoké hustotě (high density of lipoproteins)
HIF-1 $\alpha$	hypoxií indukovaný faktor-1 $\alpha$
ICAM-1	intercelulární adhezivní molekula-1
IDF	International Diabetes Federation
IFG	hraniční glykémie nalačno (impaired fasting glucose)
IGF-1	inzulinu podobný růstový faktor-1
ICHS	ischemická choroba srdeční
IL-6	interleukin 6
IL-8	interleukin 8
IL-1 $\beta$	interleukin 1 $\beta$
IRS-1	substrát inzulinového receptoru-1
IMT	intimo-mediální tloušťka
KVO	kardiovaskulární onemocnění
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě (low density of lipoproteins)
MA	mentální anorexie
MCP-1	monocytární chemotaktický protein-1 (monocyte chemoattractant protein-1)
M-CSF	makrofágy stimulující faktor (macrophage colony-stimulating factor)
MIF	faktor inhibující makrocytární migraci (migration inhibitory factor)
MK	mastná kyselina
MMP-9	matrixová metaloproteináza-9
MPO	myeloperoxidáza
MRI	magnetická rezonance
mRNA	„messenger“ ribonukleová kyselina

MS	metabolický syndrom
NADH	nikotinamid adenin dinukleotid
NCEP	National Cholesterol Education Program
NFκB	nukleární faktor kappa B
NO	oxid dusnatý (nitric oxide)
PAF	faktor aktivující krevní destičky (platelet activating factor)
PAI-1	inhibitor aktivátoru plazminogenu-1 (plasminogen activator inhibitor-1)
PECAM-1	platelet-endothelial cell adhesion molecule-1
PDGF	destičkami tvořený růstový faktor (platelet-derived growth factor)
PGE <sub>2</sub>	prostaglandin E <sub>2</sub>
PGH <sub>2</sub>	prostaglandin H <sub>2</sub>
PGI <sub>2</sub>	prostacyklin
PGT	porucha glukózové tolerance
PKC	proteinkináza C
PPAR	receptory aktivované peroxizomovými proliferátory (peroxisome proliferator activated receptors)
PPP	porucha příjmu potravy
PPRE	peroxizome proliferator responzivní elementy
RAGE	receptor pro pozdní produkty glykace
RELM	rezistinu podobné molekuly (resistin-like molecules)
ROS	reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)
SAA	sérový amyloid A
SEM	standardní chyba průměru
TFPI	tissue factor pathway inhibitor
TG	triglyceridy
TGF-β	transformující růstový faktor beta
TK	krevní tlak
TM	trombomodulin
TNF-α	tumor nekrotizující faktor alfa
t-PA	tkáňový aktivátor plazminogenu
TXA <sub>2</sub>	tromboxan A <sub>2</sub>
TZDs	thiazolidindiony
UCP-1	rozpřahující protein-1 (uncoupling protein 1)
VEGF	vaskulární endotelový růstový faktor (vascular endothelial growth factor)
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě (very low density of lipoproteins)
VMK	volné mastné kyseliny
vWF	von Willebrandův faktor
WAT	bílá tuková tkáň (white adipose tissue)
WSS	smykové napětí (wall shear stress)

## **Poděkování**

Tato práce vznikla v rámci doktorského studijního programu v biomedicíně na III. interní klinice 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Poděkování patří především mému školiteli prof. MUDr. M. Haluzíkovi, DrSc. za odborné vedení studia a všestrannou podporu a pomoc při vypracování doktorské dizertační práce. Dále bych chtěla poděkovat prof. MUDr. Š. Svačinovi, DrSc., MBA, který mi jako přednosta III. interní kliniky 1. LF UK a VFN vytvořil vynikající podmínky k postgraduálnímu studiu a k mé práci a také všem kolegům z III. interní kliniky, kteří mi předávali své cenné zkušenosti v oblasti klinické i výzkumné.

## 1. ÚVOD

Obezita, charakterizovaná akumulací intraabdominálního viscerálního tuku, je jedním z nejdůležitějších rizikových faktorů pro vznik kardiovaskulárních onemocnění. Její prevalence má celosvětově a zejména pak ve vyspělých zemích vzrůstající tendenci a stává se tak zásadním zdravotním i psychosociálním problémem. Častý společný výskyt obezity, arteriální hypertenze, inzulinové rezistence, dyslipidémie, poruchy fibrinolýzy a dalších odchylek je označován jako metabolický syndrom (synonyma např. Reavenův syndrom, syndrom X, syndrom inzulinové rezistence) (Reaven, 2002). Předpokládá se společný etiopatogenetický mechanismus jednotlivých složek metabolického syndromu. Za hlavní pojítka mezi viscerální obezitou a ostatními složkami tohoto syndromu je považována inzulinová rezistence (Reaven, 1988), nicméně v současnosti směřuje značná pozornost k problematice chronického systémového zánětu jako důležité součásti patofyziologických změn doprovázejících toto onemocnění (Festa et al., 2000). Hladiny četných markerů zánětu výrazně korelují se stupněm obezity i inzulinové rezistence (Pickup & Crook, 1998) a mají též vysokou prediktivní hodnotu pro stanovování rizika vzniku kardiovaskulárního onemocnění (Rader, 2000).

Tuková tkáň byla donedávna považována pouze za pasivní zásobárnu energie ve formě triglyceridů. Výzkumy v posledním desetiletí však ukazují, že se jedná o vysoce metabolicky aktivní a multifunkční endokrinní orgán, hrající důležitou úlohu při rozvoji různých patofyziologických procesů (Havel, 2002; Paquot & Tappy, 2005). Bílá tuková tkáň (WAT) secernuje řadu hormonů a cytokinů, jejichž nadprodukce spojená se zvýšeným množstvím tukové tkáně ovlivňuje energetickou rovnováhu, imunitní systém, inzulinovou senzitivitu, angiogenezi, krevní tlak, lipidový metabolismus a hemostázu (Ronti et al., 2006). Jedním ze zvažovaných mechanismů uplatňujících se společně při rozvoji metabolického syndromu a procesu aterosklerózy je právě porušená metabolická a endokrinní funkce tukové tkáně. K akceleraci aterogeneze dochází v důsledku poškození endotelu velkých a středních arterií chronickým subklinickým zánětem v kombinaci s hyperkoagulabilitou, porušenou fibrinolýzou, oxidačním stresem, hyperglykemií a pronikáním lipoproteinových částic subendoteliálně s následnou tvorbou aterosklerotického plátu. K negativnímu ovlivnění cévního systému přispívá různými mechanismy i inzulinová rezistence a kompenzační hyperinzulinémie (Svačina, 2007). Lze usuzovat, že snaha o zlepšení metabolické a endokrinní funkce tukové tkáně může být jedním z terapeutických přístupů v prevenci rozvoje aterosklerózy u pacientů s metabolickým syndromem.

## 2. CÍLE PRÁCE

- posoudit úlohu tukové tkáně jako endokrinního orgánu ve vztahu k některým složkám metabolického syndromu a k procesu aterosklerózy a zkoumat princip zánětlivých dějů v tukové tkáni u obezity
- popsat změny, ke kterým dochází v tukové tkáni při její nadměrné akumulaci či naopak při významné redukci jejího množství u stavů snížené nutrice (na modelu mentální anorexie) a posoudit modulační vliv buněk monocytomakrofágového systému na funkci tukové tkáně za těchto stavů
- popsat způsob, jakým se jednotlivé adipokiny účastní ovlivnění funkce endotelu a posoudit, do jaké míry se podílejí na „komunikaci“ mezi adipocyty a dalšími buněčnými populacemi či mezi různými metabolickými systémy ve vztahu k procesu aterosklerózy
- popsat vliv terapie PPAR- $\gamma$  agonisty na vybrané metabolické parametry a funkci endotelu a posoudit úlohu změn endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu



### 3. METABOLICKÝ SYNDROM

Metabolický syndrom (MS) je velmi rozšířené onemocnění, dle šíře definice je v našich podmínkách uváděn jeho výskyt u 30-50% populace. V běžné praxi zpravidla stanovujeme diagnózu metabolického syndromu podle třetí zprávy NCEP III z roku 2001:

- abdominální obezita: muži > 102 cm, ženy > 88 cm
- TG  $\geq$  1,7 mmol/l
- HDL cholesterol: muži < 1 mmol/l, ženy < 1,3 mmol/l
- TK  $\geq$  130/85 mmHg
- glykémie nalačno  $\geq$  6,1 mmol/l

Kritéria diagnózy splňují jedinci s přítomností tří a více rizikových faktorů.

Nejnovější kritéria pro MS stanovená IDF (International Diabetes Federation) jsou následující:

- abdominální obezita (viz níže) + 2 či více z následujících odchylek:
  - TG > 1,7 mmol/l a/nebo HDL < 0,9 (muži), < 1,1 mmol/l (ženy) mmol/l či léčba
  - hypertenze > 130/85 mmHg či léčba
  - porušená glykémie nalačno (IFG > 5,6 mmol/l)
- abdominální obezita – obvod pasu (cm) muži/ženy:
  - Evropané: 94/80
  - obyvatelé jižní Asie: 90/80
  - Číňané: 90/80
  - Japonci: 90/85

AHA (American Heart Association) dnes mezi základní složky MS řadí i subklinický zánět typický pro pacienty s obezitou, aterosklerózou či inzulinovou rezistencí, charakterizovaný zvýšenou hladinou prozánětlivých cytokinů (TNF- $\alpha$ , IL-6) a reaktantů akutní fáze (Grundy et al., 2004a), a dále protrombogenní stav a zvýšený oxidační stres (Kereiakes & Willerson, 2003).

Vznik a průběh onemocnění modifikují genetické i zevní faktory. Ve vzácných případech se rozvíjí MS v důsledku monogenně podmíněné poruchy jako jsou dystrofie tukové tkáně (např. lipodystrofie způsobená mutací laminu A/C, AGPAT a seipinu)

(Grundy et al., 2004b). Rovněž polymorfismy mnoha genů jsou dávány do souvislosti s metabolickým syndromem, ale jejich skutečný podíl na výskytu syndromu nebyl dosud stanoven (Meirhaeghe et al., 2005).

V současné době je všeobecně přijímána teorie společné příčiny a společných patogenetických mechanismů jednotlivých složek metabolického syndromu (Abate, 2000). Jejich vzájemné regulační vztahy však nebyly dosud zcela objasněny. Jsou proto intenzivně zkoumány ve snaze o cílenou léčbu a stejně tak prevenci více složek metabolického syndromu současně.

#### **4. TUKOVÁ TKÁŇ**

Tuková tkáň je multifunkční orgán, tvořený řadou různých buněčných populací, jako jsou adipocyty, pre-adipocyty, histiocyty, endoteliální buňky, fibroblasty a makrofágy (Curat et al., 2004). Morfologie a metabolická výbava preadipocytů a adipocytů se liší podle toho, v jakém typu tukové tkáně se nacházejí. Adipocyty s jedinou tukovou kapénkou (unilokulární buňky) a menším množstvím mitochondrií jsou dominantním buněčným typem v bílé tukové tkáni. Hnědá tuková tkáň existuje pouze u savců. Tato tkáň se u člověka (podobně jako u myší) objevuje již před narozením v typických lokalizacích, zejména v podkoží (mezi lopatkami), mezi krčními svaly, v hrudní dutině (okolo thymu a aorty) a perirenálně. Hnědý tuk je tkání specializovanou na adaptivní termogenezu. To je umožněno přítomností velkého počtu mitochondrií a expresí „uncoupling protein 1“ (UCP1, rozpráhuující protein-1). Energie získaná v oxidativním řetězci je ukládána ve formě molekul adenosintrifosfátu (ATP). V mitochondriích hnědých adipocytů je díky uncoupling proteinu-1 odpojena oxidace a syntéza ATP, čímž je podporováno uvolnění energie ve formě tepla.

Diferenciace adipocytů a jejich metabolická aktivita jsou určovány řadou transkripčních faktorů (intracelulárních bílkovin, které se váží do promotorových oblastí genů a aktivují nebo inhibují jejich expresi) (Gregoire et al., 1998). Mezi nejvýznamnější transkripční faktory v tukových buňkách patří PPAR- $\gamma$ , na které se váží thiazolidindiony (glitazony), používané jako antidiabetika (viz níže) (Brun & Spiegelman, 1997; Hamm et al., 1999).

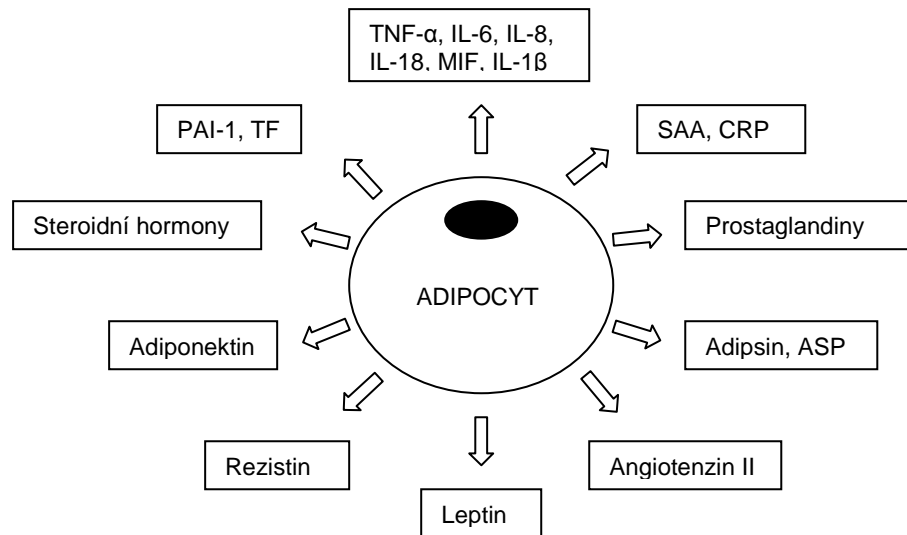
#### **4.1. Distribuce tukové tkáně**

Důležitým kritériem pro hodnocení rizika vzniku KVO je rozložení tělesného tuku (Bouchard et al., 1993). Tzv. androidní typ obezity, charakterizovaný akumulací zejména viscerálního tuku v horní části těla, je nepochybně spojen s různými aterogenními abnormalitami (Abate et al., 1995; Despres, 1993; Despres et al., 1992; Smith & Zachwieja, 1999). Lépe koreluje s rizikem rozvoje diabetu, hyperlipidémie, hypertenze a aterosklerotického postižení koronárního, cerebrálního i periferního cévního řečiště nežli tzv. gynoidní typ obezity se zmožením tukové tkáně predominantně v oblasti hýždí a stehů (Donahue et al., 1987; Ducimetiere et al., 1986; Lapidus et al., 1984; Larsson et al., 1984). Je však třeba rozlišit, zda je množství viscerální tukové tkáně kauzálním faktorem či spíše markerem dysmetabolického profilu. V běžné praxi je k hodnocení množství viscerálního tuku využíváno jednoduché měření obvodu pasu. Přesné odlišení podílu viscerálního a podkožního tuku je možné s použitím moderních zobrazovacích metod, jako je počítačová tomografie (CT) nebo magnetická rezonance (MRI), která navíc umožňuje měření tzv. extramyocelulárních lipidů (uložených vně svalových buněk) a intramyocelulárních lipidů (uložených přímo v myocytech) (Haluzík, 2005). Kromě anatomického uspořádání se oba typy tukové tkáně liší spektrem uvolňovaných cytokinů. Například leptin je přednostně secernován subkutánní tukovou tkání (Van Harmelen et al., 1998), zatímco exprese adiponektinu (Motoshima et al., 2002), PAI-1, IL-8 a IL-1 $\beta$  (Bruun et al., 2004; Juge-Aubry et al., 2003) je výraznější v tkáni viscerální (Bastelica et al., 2002). Rozdíly v sekreční kapacitě obou typů tukové tkáně hrají jistě významnou úlohu při rozvoji metabolických, kardiovaskulárních i dalších komplikací (Lafontan & Berlan, 2003). Expese zánětlivých mediátorů byla také prokázána v epikardiální bílé tukové tkáni, a to i bez přítomnosti obezity či diabetu (Mazurek et al., 2003). Tyto lokální zánětlivé změny se mohou významně uplatňovat v etiopatogenezi onemocnění koronárního systému. Plazmatické koncentrace biomarkerů zánětu tak nemusí vždy odrážet intenzitu zánětlivého procesu na úrovni tkání.

#### **4.2. Tuková tkáň jako sekreční orgán**

V tukové tkáni je syntetizováno a uvolňováno široké spektrum hormonů a cytokinů s autokrinním, parakrinním a endokrinním účinkem, které ovlivňují prakticky všechny orgánové systémy v lidském organizmu (Havel, 2002). Mohou se tak podílet na rozvoji kardiovaskulárních onemocnění i jiných patologických procesů (Halaas et al., 1995; Hotamisligil, 1999; Shimomura et al., 1996; Zhang et al., 1994). Některé z těchto faktorů, souhrnně označovaných jako adipokiny, jsou secernovány výhradně či téměř výhradně

adipocyty (např. leptin), jiné jsou produkované primárně imunokompetentními buňkami (např. TNF- $\alpha$ ), další jsou potom převážně tvořeny v jiných tkáních (např. angiotenzin) (Trayhurn, 2005) (obr. 1).



Obr. 1 : Vybrané sekreční produkty tukové tkáně. Upraveno podle Hauner, 2005.

PAI-1: inhibitor aktivátoru plazminogenu, TF: tkáňový faktor, SAA: sérový amyloid A, CRP: C-reaktivní protein, MIF: faktor inhibující migraci, ASP: acylaci stimulující protein

#### 4.2.1. Adipocyty vs. stromální/vaskulární frakce tukové tkáně

Jak již bylo zmíněno výše, tuková tkáň je nehomogenním orgánem, tvořeným rozličnými typy buněčných populací. Tento fakt nás nutí k zamyšlení nad otázkou, nakolik se na sekreci jednotlivých adipokinů podílejí samotné adipocyty a nakolik stromální/vaskulární frakce a imunokompetentní buňky tukové tkáně. Některé prameny uvádějí, že zralé adipocyty zřejmě postrádají sekreční granula a některé další strukturální buněčné komponenty, které se běžně uplatňují v procesu řízeného uvolňování proteinů secernovaných endokrinními buňkami (Wisse, 2004). Při zkoumání biologických vlastností tukové tkáně jsou v *in vitro* studiích často využívány linie preadipocytů. Funkční charakteristiky těchto multipotentních buněk a buněk imunitního systému se v mnohém podobají (Cousin et al., 1999). Bylo prokázáno, že nezralé adipocyty mají schopnost transdiferenciace v makrofágy *in vitro* stejně jako *in vivo* (Charriere et al., 2003). Výsledky experimentálních studií využívajících genetickou analýzu profilů genové exprese v tukové tkáni u různých modelů obezích i neobezních myší přispívají k lepšímu pochopení úlohy adipocytů jako buněk secernujících rozličné hormony a cytokiny (Weisberg et al., 2003; Xu et al., 2003). Ve zmíněných studiích výrazně koreluje obsah tělesného tuku s mírou exprese

těch genů v tukové tkáni, které jsou charakteristicky exprimovány makrofágy. Z výsledků těchto studií dále vyplývá, že velikost adipocytů i celková tělesná hmotnost jsou silnými prediktory množství makrofágů v tukové tkáni, silnější korelace byla prokázána pro tkáň viscerální ve srovnání s tkání subkutánní. Také výsledky klinických studií svědčí pro fakt, že velikost adipocytů je úzce spjata s markery inzulinové rezistence, dyslipidemií a rizikovými faktory pro rozvoj diabetu 2. typu (Schneider et al., 1981; Weyer et al., 2000; Weyer et al., 2001b). Dle recentně publikovaných dat narůstá proporcionálně k BMI a adipocytární hypertrofii infiltrace tukové tkáně makrofágy (Cancello et al., 2005; Curat et al., 2004; Weisberg et al., 2003). Tyto makrofágy pocházejí z kostní dřeně (Weisberg et al., 2003) a příčiny jejich průniku do tukové tkáně jsou zřejmě multifaktoriální. Signálem může být vedle adipocytární hypertrofie a hyperplazie také působení některých cytokinů, jako je MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1) či CSF-3 (colony stimulating factor 3). V *in vitro* studiích s kulturami endoteliálních buněk bylo prokázáno, že také leptin má silný vliv na transmigraci makrofágů z kostní dřeně (Curat et al., 2004). Naopak adiponektin na modelu kultur aortálních endoteliálních buněk tento proces inhibuje (Ouchi et al., 2003a; Ouchi et al., 2003b). Na migraci makrofágů se také může podílet lokální hypoxie tukové tkáně. Na základě některých pozorování lze soudit, že tuková tkáň u obézních jedinců představuje hypoxické okrsky s lokálně zvýšenou expresí chemoatraktivních faktorů. Jedním z těchto působků je tzv. hypoxií indukovaný faktor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), jehož exprese v bílé tukové tkáni klesá vlivem redukce hmotnosti (Cancello et al., 2005). Souvislost mezi velikostí adipocytů a akumulací makrofágů v tukové tkáni naznačuje, že ovlivnění funkce adipocytů jejich velikostí může být zprostředkováno parakrinním působením některých produktů makrofágů tukové tkáně (Weisberg et al., 2003).

*Tab. 1* : Buněčný původ vybraných faktorů secernovaných tukovou tkání.  
Upraveno podle Hauner, 2005.

<b>Faktor</b>	<b>Adipocyty</b>	<b>Stromální bb.</b>	<b>Makrofágy</b>
IL-6	+	+	++
TNF- $\alpha$	+	+	++
PAI-1	+	+	?
MCP-1	(+)	+	++
MIF	+	+	++

(+) data nejsou zcela jednoznačná, + střední míra exprese, ++ vysoká míra exprese  
PAI-1 = inhibitor aktivátoru plazminogenu-1, MCP-1 = monocytární chemotaktický protein-1, MIF = faktor inhibující migraci

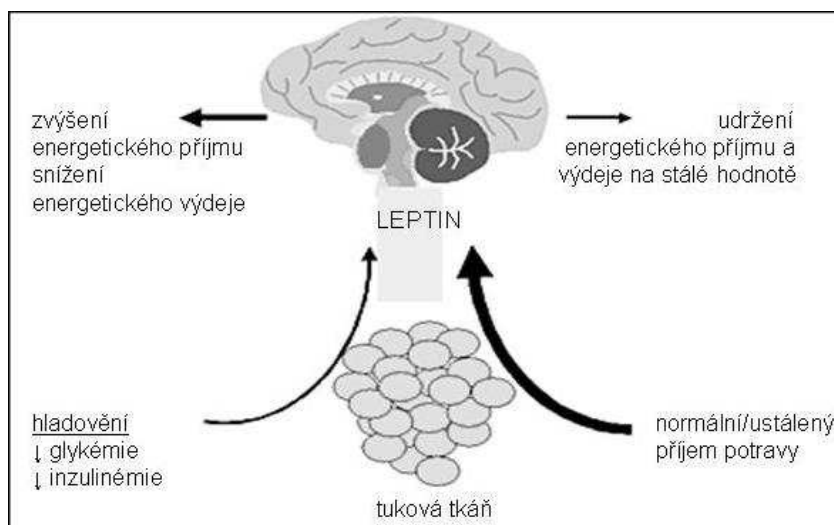
Lze tedy shrnout, že nárůst hmotnosti je doprovázen zvýšenou infiltrací tukové tkáně makrofágy a aktivací tvorby prozánětlivých signálů v tukové tkáni. Tyto změny jsou zvláště patrné ve viscerálním tuku a zřejmě předcházejí manifestaci dalších komponent metabolického syndromu včetně poruchy glukózové homeostázy. Objasnění patofyziologických mechanismů vedoucích k těmto změnám může napomoci ve snaze o zmenšení aktivity zánětlivého procesu v tukové tkáni a zmírnění metabolických rizik spojených s obezitou.

#### 4.2.2. Hormony tukové tkáně

Jako jeden z prvních hormonů produkovaných převážně adipocyty bílé tukové tkáně byl v roce 1994 skupinou J. Friedmanna z americké Rockefellerovy univerzity identifikován leptin (Zhang et al., 1994). Jedná se o hormon proteinové povahy, strukturou se podobající prozánětlivým cytokinům (Coppack, 2001). Sérové koncentrace leptinu pozitivně korelují s obsahem tuku v organismu a body mass indexem (Considine et al., 1996; Haluzík et al., 1999a). Leptin centrálními mechanismy přes hypothalamická centra tlumí příjem potravy a zvyšuje metabolický obrat (stimulací sympatiku) (Wajchenberg, 2000). Absence leptinu či defekt leptinového receptoru ve tkáních vyvolává obezitu u zvířat i u člověka (Bluher et al., 2009).

##### Obr. 2 : Úloha leptinu v regulaci energetické homeostázy

Koncentrace leptinu v séru závisí na množství tukové tkáně v organismu a tento parametr tak může sloužit jako ukazatel množství energetických zásob. Aniž by nastala změna tělesné hmotnosti, dochází již během prvních 24 hodin hladovění k prudkému poklesu sérové hladiny leptinu, 4-5 hodin po obnově energetického příjmu koncentrace leptinu opět stoupá. Tyto změny koncentrace leptinu jsou signálem pro centrální nervový systém vypovídajícím o aktuálním energetickém stavu organismu. Na jejich regulaci se zřejmě významně podílí také glykémie a inzulinémie. Upraveno podle Considine & Caro, 1997.



Leptin také přímo působí na buňky periferních tkání prostřednictvím specifických transmembránových receptorů na jejich povrchu. Stejně jako adiponektin vykazuje inzulin-senzitizující efekt (Guerre-Millo, 2004). Leptin stimuluje oxidaci mastných kyselin a redukuje ektopické ukládání tuku v játrech, svalu, pankreatu a dalších tkáních (Minokoshi et al., 2002). Bylo prokázáno, že leptin stimuluje sekreci zánětlivých cytokinů v makrofázích a zvyšuje jejich fagocytární aktivitu (Fernandez-Riejos et al.; Gainsford et al., 1996). Mohl by tak zřejmě hrát významnou roli v procesu zánětu asociovaném s diabetem 2. typu a aterosklerózou.

Adiponektin je hormon peptidové povahy, cirkulující v plazmě ve formě komplexů o různé molekulové hmotnosti. Jeho koncentrace je snížena u pacientů s diabetem mellitem a obezitou (zejména s akumulací viscerálního tuku). Nízká plazmatická koncentrace adiponektinu je nezávislým rizikovým faktorem pro rozvoj diabetu 2. typu (Lindsay et al., 2002). Tato skutečnost naznačuje, že deficit adiponektinu může hrát roli v etiopatogenezi inzulinové rezistence. Redukce hmotnosti vede stejně jako terapie agonisty PPAR- $\gamma$  receptorů thiazolidindiony ke zvýšení exprese adiponektinu v tukové tkáni i jeho plazmatických koncentrací (Bruun et al., 2003; Combs et al., 2003; Combs et al., 2002; Gnacinska et al.; Maeda et al., 2001; Yu et al., 2002). Naopak TNF- $\alpha$  a IL-6 působí jako silné inhibitory exprese a sekrece adiponektinu (Bruun et al., 2003; Fasshauer et al., 2003) a mohou se touto cestou podílet na rozvoji inzulinové rezistence. Adiponektin vykazuje antisklerotické a protizánětlivé účinky (Ouchi et al., 2000). Snižuje expresi endoteliálních adhezivních molekul jako je VCAM-1, ICAM-1 a E-selektin. Jeho působením dochází též k supresi transformace makrofágů v pěnové buňky a inhibici proliferace endoteliálních buněk. V experimentálních studiích s myšmi modely vede podávání adiponektinu ke stimulaci oxidace mastných kyselin v jaterní a svalové tkáni a následné redukci cirkulujících a intracelulárních triglyceridů a dalších lipidových metabolitů (Ouchi et al., 1999). Tento proces se zřejmě podílí na inzulin-senzitizujícím účinku adiponektinu (Tomas et al., 2002; Yamauchi et al., 2002). Pischon a spol. ve své studii prokázal, že vysoká plazmatická koncentrace adiponektinu je asociovaná se snížením rizika vzniku infarktu myokardu u mužů (Pischon et al., 2004).

Rezistin je hormonem exprimovaným v bílé tukové tkáni a v monocytech periferní krve. Byl identifikován v roce 2001 skupinou M. Lazara. Patří do rodiny tkáňově specifických proteinů označovaných jako RELM (resistin-like molecules) (Kusminski et al., 2005; Stepan et al., 2001b; Ukkola, 2002). V experimentálních studiích je u myších modelů obezita spojena se zvýšenou koncentrací cirkulujícího rezistinu (Stepan et al.,

2001b). Rezistin zvyšuje sérovou koncentraci glukózy a inzulínu, protilátky proti rezistinu zlepšují inzulínovou senzitivitu (Anderlová et al., 2006; Chen & Nyomba, 2003). Na základě výsledků experimentálních studií byl vysloven předpoklad, že právě rezistin by mohl být pojítkem mezi zánětem, obezitou a inzulínovou rezistencí. Výsledky klinických studií jsou však nejednoznačné. Některé genetické studie demonstrují, že různé varianty genu pro rezistin jsou spojeny s inzulínovou rezistencí a obezitou (Engert et al., 2002; Osawa et al., 2002; Wang et al., 2002). Jiné studie ukazují, že velmi nízká exprese mRNA v izolovaných lidských adipocytech nekoreluje s inzulínovou rezistencí či obezitou (Hotamisligil, 2003; Patel et al., 2003). Nebyly též nalezeny žádné rozdíly v adipocytární expresi rezistinu u jedinců s inzulínovou rezistencí, diabetem 2. typu a zdravými kontrolami (Janke et al., 2002). Několik recentních studií svědčí pro fakt, že rezistin působí jako prozánětlivý cytokin (Křemen et al., 2006). Přesný význam rezistinu u lidí však zůstává zatím nejasný.

#### **4.3. Tuková tkáň a inzulínová rezistence**

Vztahu abdominální obezity a inzulínové rezistence je dlouhodobě věnována značná pozornost. Termínem inzulínová rezistence je označována rezistence tkání k metabolickým účinkům inzulínu, zejména k jeho supresivnímu efektu na endogenní produkci glukózy, stimulačnímu efektu na odsun glukózy do buněk a na syntézu glykogenu a inhibičnímu vlivu na lipolýzu v tukové tkáni. Všeobecně je přijímán názor, že inzulínová rezistence hraje zásadní roli v rozvoji diabetu 2. typu a má úzký vztah k arteriální hypertenzi, dyslipidémii, ateroskleróze a řadě nádorů (Barrett-Connor, 1985; Calle et al., 1999; DeFronzo, 1997; Folsom et al., 2000; Chow et al., 2000). Četné prospektivní studie prokázaly, že inzulínová rezistence předchází o deset až dvacet let rozvoji diabetu 2. typu a je nejlepším prediktorem pozdějšího vzniku tohoto onemocnění (Lillioja et al., 1988; Warram et al., 1990). Není-li současně přítomna porucha funkce  $\beta$ -buněk pankreatu, mohou být projevy inzulínové rezistence po určitou dobu potlačeny kompenzační hyperinzulinémií (Warram et al., 1990). Proto u mnohých jedinců s vyznačenou inzulínovou rezistencí nedojde nikdy ke klinické manifestaci diabetu 2. typu. Nicméně riziko aterosklerózy u nondiabetických, inzulín rezistentních jedinců a pacientů s diabetem 2. typu je zřejmě srovnatelné (Despres et al., 1996).

Nejnovější poznatky svědčí pro fakt, že se na rozvoji inzulínové rezistence u pacientů s diabetem 2. typu či u jedinců s převážně viscerální obezitou významně podílí porucha metabolismu volných mastných kyselin (VMK). Volné mastné kyseliny jsou



skladovány ve formě triglyceridů v adipocytech a slouží jako zdroj energie v podmínkách nalačno. Inzulin inhibuje uvolňování volných mastných kyselin z adipocytů snížením aktivity enzymu hormon senzitivní lipázy. V současné době je všeobecně přijímán názor, že dlouhodobě zvýšené koncentrace volných mastných kyselin vedou k rozvoji inzulinové rezistence ve svalu a v játrech (Boden & Shulman, 2002) a také k poruše sekrece inzulinu v  $\beta$ -buňkách pankreatu (McGarry, 2002).

Typickým nálezem u obézních pacientů s inzulinovou rezistencí a/nebo diabetes mellitus 2. typu je zvýšené množství ektopicky uložených lipidů (Kelley et al., 2002; Seppala-Lindroos et al., 2002). Existuje množství důkazů pro přímý vliv ektopicky uložených lipidů na inzulinovou signální kaskádu. Dochází k inhibici tyrozinové fosforylace substrátu inzulinového receptoru-1 (IRS-1), změnám aktivity kináz a glukózových transportérů a mnoha dalším defektům (Clarke et al., 1994; Griffin et al., 1999; Okada et al., 1994). V současné době jsou intenzivně zkoumány další možné mechanismy, jakými vede ukládání triglyceridů a jiných lipidových metabolitů ve svalové a jaterní tkáni k rozvoji inzulinové rezistence.

#### **4.3.1. Volné mastné kyseliny a metabolismus glukózy v játrech**

Hypertrofické adipocyty viscerální tukové tkáně jsou charakterizovány sníženou citlivostí na antilipolytický efekt inzulinu, což vede k navození hyperlipolytického stavu (Mauriege et al., 1995; Mittelman et al., 2002). VMK uvolněné z depotní tukové tkáně jsou následně ve zvýšené míře vychytávány hepatocyty. Tento proces může nepříznivě ovlivnit jaterní metabolismus a souhrou několika mechanismů rezultovat v nadměrnou produkci glukózy v játrech (DeFronzo et al., 1982; Jeng et al., 1994). V jaké míře se na tomto zvýšení podílí jaterní glukoneogeneze a v jaké glykogenolýza je stále předmětem výzkumu, nicméně většina experimentálních i humánních studií svědčí pro dominantní podíl zvýšení glukoneogeneze (Boden et al., 2001b; Chen et al., 1999; Magnusson et al., 1992). Bylo prokázáno, že snížení plazmatické koncentrace volných mastných kyselin po podání kyseliny nikotinové vede u pacientů s diabetem 2. typu k útlumu hepatální produkce glukózy (Boden et al., 2001a). Vztah mezi vzestupem plazmatických koncentrací volných mastných kyselin, jejich oxidací a nadprodukcí glukózy v játrech u pacientů s obezitou/diabetem 2. typu lze vysvětlit následujícími mechanismy: 1) Zvýšené vychytávání volných mastných kyselin v hepatocytech vede k indukci oxidace lipidů a následně k akumulaci acetylkoenzymu A. Tím je aktivována pyruvátkarboxyláza a fosfoenolpyruvátkarboxykináza (Bahl et al., 1997; Williamson et al., 1966), klíčové enzymy

glukoneogeneze, stejně jako glukóza-6-fosfatáza, hrající důležitou roli v regulaci uvolňování glukózy z hepatocytů (Massillon et al., 1997). 2) Oxidace volných mastných kyselin vede k tvorbě energie (ATP) a redukovaných forem nikotinamidadeninukleotidu (NADH), které se uplatňují v procesu glukoneogeneze. 3) Chronicky zvýšené plazmatické koncentrace volných mastných kyselin vyvolávají v játrech inzulinovou rezistenci v důsledku negativního ovlivnění inzulinové signální kaskády (Lam et al., 2003; Roden et al., 2000).

#### **4.3.2. Volné mastné kyseliny a metabolismus glukózy ve svalu**

V průběhu několika posledních dekad se řada studií zabývala mechanismy, jimiž zvýšené koncentrace volných mastných kyselin ovlivňují inzulinovou rezistenci v kosterním svalstvu. V roce 1963 formuloval Randle na základě výsledků *in vitro* studií hypotézu o substrátové kompetici mezi mastnými kyselinami a glukózou, dle které vede zvýšená mitochondriální oxidace volných mastných kyselin ke snížení oxidace glukózy a rozvoji inzulinové rezistence (Randle et al., 1963). Následující humánní studie však platnost této hypotézy v plné míře nepotvrdily a ukázaly, že skutečný mechanismus je podstatně komplexnější. Jednou z metod nově využívaných ke stanovování intramyocelulárního obsahu triglyceridů je tzv. NMR spektroskopie (Krssak et al., 1999; Perseghin et al., 1999). Intramuskulární obsah triglyceridů lze stanovit i pomocí svalové biopsie (Pan et al., 1997). Výsledky získané těmito metodami přispěly k poznání, že za hlavní příčinu inzulinové rezistence ve svalu lze považovat poruchu inzulinové kaskády (Dresner et al., 1999; Shulman, 2000).

Je také nezbytné si uvědomit, že značná část tělesného tuku je uložena v oblasti dolních končetin, především stehem. Goodpaster se svými spolupracovníky demonstroval, že množství intermuskulární tukové tkáně lokalizované pod fascia lata negativně koreluje s inzulinovou senzitivitou, zatímco pro subkutánní tukovou tkáň v oblasti stehna nebyl obdobný vztah nalezen (Goodpaster et al., 2003; Goodpaster et al., 2000). Toto zjištění je v souladu s představou „nárazníkové“ úlohy subkutánní tukové tkáně při pozitivní energetické bilanci. Weiss et al. ve své práci poukázal na skutečnost, že u adolescentů je porucha glukózové tolerance spojena s nerovnováhou mezi podkožní a mezsvalovou tukovou tkání (Weiss et al., 2003). Schopnost periferní subkutánní tukové tkáně přizpůsobit svou skladovací kapacitu potřebám organismu a tím omezit ektopické ukládání lipidů ve svalové a jaterní tkáni může hrát zásadní roli v zachování inzulinové senzitivity a zabránění rozvoje diabetu 2. typu.

#### 4.3.3. Volné mastné kyseliny a sekrece inzulinu

Mastné kyseliny jsou významnými regulátory sekrece inzulinu. V experimentálních studiích mají chronicky zvýšené hladiny volných mastných kyselin „lipotoxický“ efekt na  $\beta$ -buňky pankreatu (McGarry & Dobbins, 1999; Unger & Zhou, 2001). U myši a potkanů vede dlouhodobá infúze mastných kyselin k bifázickému ovlivnění sekrece inzulinu. Po počátečním vzestupu sekrece inzulinu dochází k jejímu postupnému snížení. Dle některých hypotéz zvyšuje akumulace triglyceridů v pankreatických ostrůvcích lokální tvorbu oxidu dusnatého, což indukuje apoptózu  $\beta$ -buněk (Unger & Zhou, 2001).

Naopak u lidí nedochází při protražovaném (48 hodinovém) infúzním podání lipidů k poklesu inzulinové sekrece, ale k jejímu vzestupu (Boden et al., 1995). Farmakologicky navozené snížení volných mastných kyselin (po nasazení kyseliny nikotinové či jejího derivátu acipimoxu) u obézních diabetických i nediatetických jedinců vede k významnému snížení sekrece inzulinu (o 30-50%) (Boden et al., 1998; Santomauro et al., 1999). Jakou úlohu tedy hrají chronicky zvýšené hladiny volných mastných kyselin při prohlubování sekreční poruchy u diabetu 2. typu není zcela jasné.

#### 4.4. Tuková tkáň a zánět

Různými prameny je uváděno, že obezita je doprovázena chronickým zánětlivým stavem tukové tkáně nízkého stupně (low-grade inflammation) (Dandona et al., 2004; Xu et al., 2003). Stále přibývá důkazů, že se nejedná o prostý korelační vztah, ale o vztah kauzativní (Pickup & Crook, 1998). U obézních jedinců jsou nacházeny zvýšené koncentrace prozánětlivých cytokinů a reaktantů akutní fáze (Grimble, 2002). Místem nadprodukce těchto markerů mohou být játra, lymfatický systém, tuková tkáň či jiné orgány. Dosud bylo popsáno více než 100 cytokinů s rozličnými biologickými účinky produkováných a secernovaných tukovou tkání (Hauner, 2005). Tyto mediátory ovlivňují individuálně či v kombinaci nejen proces zánětu, ale též např. glukózový a lipidový metabolismus, endoteliální funkci či nádorovou proliferaci a mohou být pojítkem mezi obezitou, diabetem a aterosklerózou (Wellen & Hotamisligil, 2003). Dysregulace v aktivaci zánětlivé odpovědi může hrát významnou roli v navození a udržování chronického zánětu v tukové tkáni. Ačkoli se projevy akutního a chronického zánětu v mnoha směrech značně liší, odchylky v metabolismu vyvolané akutní infekcí vykazují v mnohých ohledech podobnost se změnami charakteristickými pro metabolický syndrom. Typickým příkladem těchto změn je inzulinová rezistence a hyperglykémie, hypertriglyceridémie, porucha lipolýzy a vzestup hladiny volných mastných kyselin a dále elevace proteinů akutní fáze a

ostatních zánětlivých markerů (CRP, IL-6, TNF- $\alpha$  atd.). V procesu akutního i chronického zánětu se do značné míry uplatňují tytéž cytokiny, biologická odpověď na ně se však za obou stavů může výrazně lišit. K této variabilitě zřejmě přispívají různé mechanismy, například rozdíly v plazmatických koncentracích cytokinů, přítomnost jejich solubilních receptorů a receptorových antagonistů či poměr pro- a protizánětlivých cytokinů na tkáňové úrovni.

K nejvýznamnějším a nejlépe prostudovaným prozánětlivým cytokinům ve vztahu k obezitě patří TNF- $\alpha$ , interleukin-6 (IL-6), inhibitor aktivátoru plazminogenu 1 (PAI-1) a monocytární chemotaktický protein-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1).

### **TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha)**

Tumor nekrotizující faktor alfa je zánětlivý cytokin secernovaný adipocyty, neutrofily, makrofágy a fibroblasty (Haluzík, 2002). Experimentální i klinické studie prokazují nadprodukcii TNF- $\alpha$  v tukové tkáni u obézních jedinců (Hotamisligil et al., 1993). Zvýšená koncentrace TNF- $\alpha$  je spojena se stimulací lipolýzy, snížením exprese lipoproteinové lipázy a adiponektinu a zhoršením citlivosti tkání k inzulinu změnou fosforylace inzulinového receptoru a inzulinového receptorového substrátu-1 (IRS-1). Ve studiích Borsta a Hotamisligila vedla neutralizace TNF- $\alpha$  u inzulin rezistentních potkanů k signifikantnímu zvýšení periferního využití glukózy po podání inzulinu (Borst & Bagby, 2002; Hotamisligil et al., 1993). TNF- $\alpha$  také indukuje tvorbu dalších cytokinů jako IL-6, který následně reguluje expresi C-reaktivního proteinu (CRP). Jaký je však skutečný podíl tohoto faktoru v propojení obezity a jejích komplikací zůstává nejasné.

### **Interleukin-6**

Interleukin-6 (IL-6) je marker akutní fáze zánětu, produkováný aktivovanými makrofágy, adipocyty, fibroblasty, endoteliálními buňkami, buňkami hladkého svalstva cévní stěny a mnoha dalšími typy buněk. Bylo zjištěno, že až 30% cirkulujícího IL-6 pochází z tukové tkáně (Mohamed-Ali et al., 1997). Fried ve své práci prokázala významně vyšší sekreci IL-6 v omentální tukové tkáni ve srovnání s tkání subkutánní (Fried et al., 1998). Sekrece IL-6 v izolovaných adipocytech je podstatně nižší nežli v tukové tkáni jako celku, což naznačuje, že hlavním zdrojem tohoto cytokinu v tukové tkáni je jiný typ buněk než adipocyty. K vzestupu sérové koncentrace IL-6 dochází například při tkáňové ischemii, u rozsáhlých traumat a chirurgických výkonů, u maligních a autoimunitních onemocnění či při expozici toxinů a sepsi. IL-6 pozitivně koreluje se stupněm obezity a inzulinové

rezistence (Fernandez-Real & Ricart, 2003; Mohamed-Ali et al., 1997). Na regulaci produkce IL-6 v tukové tkáni se podílejí humorální signály (inzulin, glukokortikoidy), cytokiny s parakrinním působením (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) a sympatický nervový systém (Wisse, 2004).

*In vitro* IL-6 indukuje (v závislosti na dávce) inhibici glukózou stimulovaného uvolňování inzulinu z krysích pankreatických ostrůvků (Sandler et al., 1990; Southern et al., 1990). Svým prozánětlivým a prokoagulačním působením se podílí na akceleraci aterosklerózy a trombotických komplikací. Bylo prokázáno, že IL-6 stimuluje makrofágy k sekreci MCP-1 (Biswas et al., 1998), podporuje expresi adhezivních molekul, sekreci cytokinů endoteliálními buňkami a proliferaci a migraci buněk vaskulárního hladkého svalstva (Romano et al., 1997). Ovlivňuje též lipidový metabolismus. IL-6 je rozhodujícím činitelem v jaterní produkci CRP. Účastní se i na prokoagulačních pochodech. Zvyšuje syntézu fibrinogenu a koncentraci cirkulujícího von Willebrandova faktoru, redukuje syntézu proteinu S a antitrombinu a zvyšuje agregabilitu destiček (Woods et al., 2000). Výsledky několika rozsáhlých epidemiologických prospektivních studií prokázaly, že IL-6 je prediktorem rizika kardiovaskulární příhody (Fain, 2006; Harris et al., 1999; Pradhan et al., 2002a; Ridker et al., 2000a; Ridker et al., 2000b).

### **PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1)**

Inhibitor aktivátoru plazminogenu 1 je primárním inhibitorem endogenní trombolýzy a podporuje tak formaci trombu na povrchu aterosklerotického plátu po jeho ruptuře. PAI-1 je exprimován preadipocyty a adipocyty, více v tukové tkáni viscerální ve srovnání s tkání subkutánní (Alessi et al., 1997; Eriksson et al., 1998). Produkce PAI-1 je stimulována cytokiny TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  (Birgel et al., 2000) a dále inzulinem, glukokortikoidy, angiotenzinem II a mastnými kyselinami. Po redukci hmotnosti, stejně jako vlivem některých farmak, jako jsou thiazolidindiony, metformin či antagonisté AT<sub>1</sub>-receptoru, dochází ke snížení exprese PAI-1 v tukové tkáni (Skurk & Hauner, 2004). V klinických studiích koreluje hladina cirkulujícího PAI-1 se stupněm aterosklerotického postižení a některými vědci je považována za nezávislý rizikový faktor ischemické choroby srdeční (Ma et al., 2004; Ronti et al., 2006). Řada studií prokázala též souvislost koncentrace cirkulujícího PAI-1 s BMI a zejména s abdominální distribucí tukové tkáně (Eriksson et al., 1998). Recentní data svědčí pro vztah PAI-1 k inzulinové rezistenci a diabetes mellitus 2. typu (Morange et al., 1999; Reusch, 2002). Při podávání diety s vysokým obsahem tuků je u PAI-1 deficientních myší zvýšená inzulinová senzitivita a zlepšená glukózová tolerance ve

srovnání s kontrolními zvířaty (Ma et al., 2004). Nicméně přesná úloha PAI-1 v lidských adipocytech není zcela zřejmá.

### **MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1)**

Monocytární chemotaktický protein-1 je významným chemotaktickým faktorem pro monocyty (Koyanagi et al., 2000; Sartipy & Loskutoff, 2003). Exprese MCP-1 endoteliálními buňkami, ale i monocyty/makrofágy a buňkami hladkého svalstva je indukována různými cytokiny, včetně IL-6 a TNF- $\alpha$ . a je zvýšena v aterosklerotických lézích. V poslední době se ukazuje, že MCP-1 může mít široké spektrum účinků v biologii tukové tkáně. V *in vitro* studiích se MCP-1 přímo podílí na rozvoji inzulínové rezistence a má vliv na diferenciaci adipocytů. MCP-1 zřejmě ovlivňuje glukózový a lipidový metabolismus i u lidí (Hotamisligil et al., 1993; Loskutoff & Samad, 1998; Sartipy & Loskutoff, 2003). Signifikantně vyšší koncentrace MCP-1 jsou nacházeny u pacientů s diabetem 2. typu ve srovnání se zdravými kontrolami (Nomura et al., 2000). MCP-1 vykazuje též angiogenní efekt na endoteliální buňky a podílí se na expanzi a remodelaci tukové tkáně (Sartipy & Loskutoff, 2003; Trayhurn, 2005). Lze předpokládat, že MCP-1 hraje důležitou roli v alteraci funkce tukové tkáně při rozvoji obezity.

## **4.5. Vliv chronické malnutrice na funkci tukové tkáně**

Stále přibývají studie zkoumající změny endokrinní funkce tukové tkáně u obezity. Nicméně tuková tkáň hraje významnou roli i u stavů s výrazně sníženým množstvím tělesného tuku, jako je například mentální anorexie.

### **4.5.1. Mentální anorexie**

Mentální anorexie (MA) patří do skupiny chorob označovaných jako poruchy příjmu potravy (PPP). V současnosti se zdůrazňuje koexistence různých faktorů podílejících se na vzniku mentální anorexie, hovoří se o bio-psycho-sociální podmíněnosti PPP. Rizikovou skupinou jsou především dospívající dívky, vzácněji mohou onemocnět i děti a dospělé ženy. Muži tvoří 4-10% všech pacientů s mentální anorexií. Mentální anorexie je charakterizovaná restrikcí kalorického příjmu ve snaze o redukci hmotnosti, snížením obsahu tělesného tuku, nadměrným strachem ze ztloustnutí a poruchou vnímání vlastního tělesného schématu. K základním diagnostickým kritériím patří body mass index nižší než 17,5 kg/m<sup>2</sup> či hmotnostní úbytek nejméně 15 % oproti původní váze (nebo u dětí oproti váze očekávané pro daný věk a výšku) a amenorea u žen. U tzv. restriktivní formy mentální

anorexie stojí v popředí výrazná redukce množství přijímané potravy, pro purgativní (binge eating) formu onemocnění je typické záchvatovité přejídání následované vyvoláním zvracení, zneužívání laxativ a diuretik apod. Toto onemocnění je doprovázeno mnohými psychickými změnami a postižením řady tělesných orgánů a systémů. K nejčastěji se vyskytujícím metabolickým odchylkám u mentální anorexie patří zhoršení regulace tělesné teploty, zpomalení bazálního metabolismu, porucha metabolismu glukózy a kalcia atd. Až 15% bazálního energetického výdeje (v zahraniční literatuře resting metabolic rate, RMR) připadá na zajištění činnosti imunitního systému (Coppack, 2001). Snížené množství energetických zásob ve formě tukového depa může tedy velmi nepříznivě ovlivnit funkci imunitního systému. Četné endokrinní abnormality zahrnují i poruchu hypotalamo-hypofyzárně-gonadální osy, projevující se u žen jako již zmíněná amenorea a porucha fertility, u mužů jako ztráta sexuálního zájmu a potence. Na rozvoji některých z těchto komplikací se zřejmě mohou podílet i změny v sekreční aktivitě tukové tkáně.

#### **4.5.2. Vliv chronické malnutrice na koncentrace vybraných adipokinů**

##### **Leptin**

Všeobecně je akceptováno, že leptin hraje klíčovou úlohu v regulaci příjmu potravy a energetické homeostázy a jeho sérové koncentrace pozitivně korelují s obsahem tuku v organismu. Existuje řada klinických studií dokumentujících sníženou hladinu leptinu u pacientek s mentální anorexií (Eckert et al., 1998; Grinspoon et al., 1996; Haluzík et al., 1999b; Housová et al., 2005) a zvýšení hladin tohoto adipokinů po realimentaci a vzestupu hmotnosti (Hebebrand et al., 1997; Holtkamp et al., 2003; Morgan et al., 1999). Ferron et al. ve své studii porovnával hladiny leptinu u pacientek s diagnózou mentální anorexie, mentální bulimie a nespecifické poruchy příjmu potravy a u zdravých kontrol. Ve všech sledovaných skupinách korelovala koncentrace leptinu s BMI, a to nezávisle na typu poruchy (Ferron et al., 1997). Z výše uvedeného vyplývá, že leptin by mohl sloužit jako biochemický marker tukových zásob v organismu.

##### **Adiponektin**

Dosavadní výzkum nepřinesl jednoznačnou odpověď na otázku, jakými mechanismy je regulována koncentrace adiponektinu v organismu. V literatuře je nejčastěji zvažován přímý vliv množství tukové tkáně. Vzestup adiponektinu po redukci hmotnosti u obézních pacientů odůvodňuje Yang et al. ve své studii primárně snížením obsahu celkového

tělesného tuku (Yang et al., 2001). V souladu s tímto pozorováním jsou výsledky experimentálních studií, dle kterých by mohl být tukovou tkání produkován faktor s destabilizujícími účinky na adiponektinovou mRNA (Halleux et al., 2001). Někteří autoři poukazují na těsný vztah mezi inzulinovou senzitivitou a hladinou adiponektinu u primátů i u lidí (Hotta et al., 2001; Weyer et al., 2001a). V jiných studiích vedlo podávání thiazolidindionů u pacientů s diabetem 2. typu i u dalších inzulinrezistentních stavů ke zmírnění inzulinové rezistence a k vzestupu adiponektinu (Maeda et al., 2001; Yang et al., 2002). Nelze vyloučit ani podíl dalších neuroendokrinních vlivů či změn aktivity sympatického nervového systému na regulaci produkce adiponektinu.

Studie zkoumající hladiny adiponektinu u pacientů s mentální anorexií přinášejí nejednotné výsledky. Většina klinických studií prokázala zvýšení koncentrace adiponektinu u těchto pacientek ve srovnání se zdravými kontrolami (Delporte et al., 2003; Dostálová et al., 2007; Housová et al., 2005; Pannacciulli et al., 2003). Naopak Iwahashi et al. nepozoroval rozdíl v plazmatických koncentracích adiponektinu mezi oběma skupinami (Iwahashi et al., 2003), zatímco ve studii Tagamiho et al. (Tagami et al., 2004) byly hladiny adiponektinu dokonce signifikantně nižší u pacientek s mentální anorexií nežli u kontrolních subjektů a zvýšení hmotnosti u pacientek s mentální anorexií vedlo k jejich vzestupu. Bosity-Westphal et al. (Bosity-Westphal et al., 2005) zaznamenala u pacientek s mentální anorexií zvýšené hladiny adiponektinu, které však nebyly nijak ovlivněny vzestupem hmotnosti u těchto nemocných. Jakou úlohu hraje adiponektin v patogenezi či rozvoji komplikací u mentální anorexie není tedy dosud zcela zřejmé.

## **Rezistin**

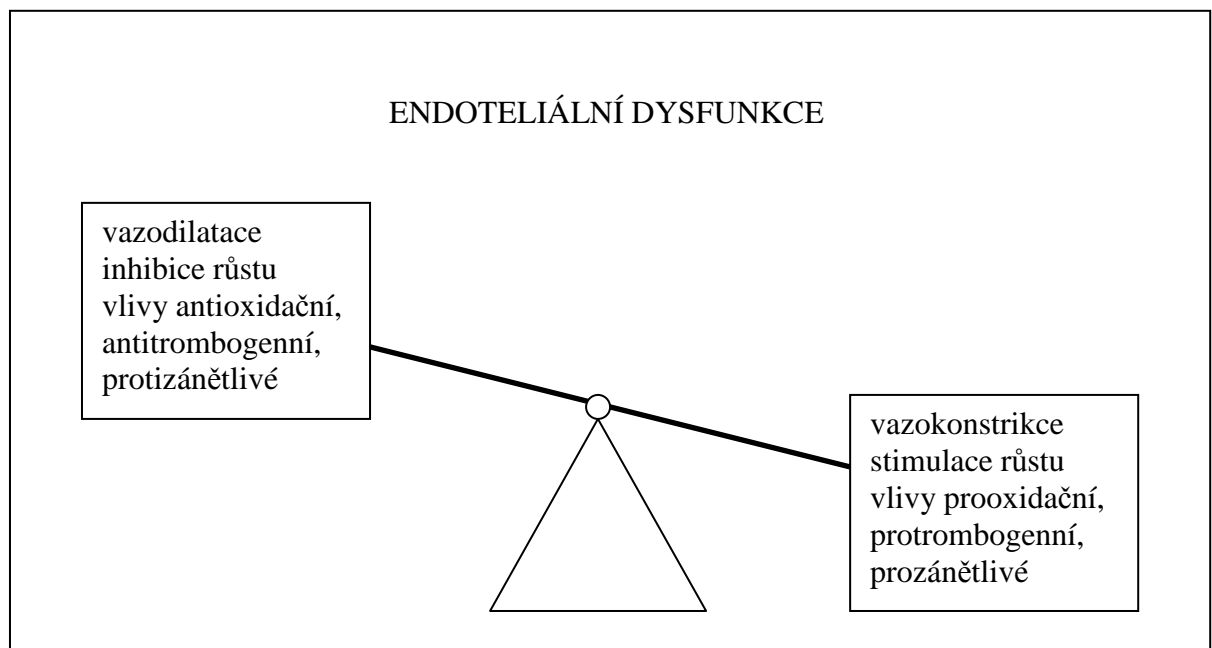
Rezistin byl původně považován za hlavní spojovací článek mezi tukovou tkání a inzulinorezistencí (Steppan et al., 2001a). V současné době je však jeho role spatřována spíše v regulaci zánětlivých a imunitních dějů (Kunnari et al., 2006). Klinické studie zaměřené na sledování hladin rezistinu u pacientek s mentální anorexií přinášejí podobně jako u adiponektinu nejednotné výsledky. Dle některých autorů jsou hladiny rezistinu u tohoto typu malnutrice snižené (Brichard et al., 2003; Dostálová et al., 2007), v jiných studiích nebyly nalezeny významné rozdíly při srovnání se zdravými kontrolami (Housová et al., 2005).



## 5. ENDOTELIÁLNÍ DYSFUNKCE/ATEROSKLERÓZA

V současné době je ateroskleróza popisována jako dynamické a progresivní onemocnění pramenící z kombinace endoteliální dysfunkce (ED) a zánětu (Szmitko et al. 2003). Endoteliální dysfunkce je považována za časně stádium zánětlivého procesu, který vede k remodelaci cévní stěny a tvorbě aterosklerotického plátu (Davignon & Ganz, 2004; Poredos, 2002). Pojem endoteliální dysfunkce je definován jako komplexní a integrovaná porucha řady funkcí endotelové tkáně, které jsou nezbytné k udržení všech intravaskulárních procesů chránících cévní stěnu před vznikem a rozvojem aterosklerotických změn. Je tedy výsledkem dysbalance mezi humorálními a buněčnými působky ovlivňujícími funkci a strukturu endoteliální stěny. Mimo selektivní zvýšení permeability se projevuje sklonem k vazospazmu, resp. nedostatečnou vazomotorickou odpovědí na endotel-dependentní podnět (někdy dokonce paradoxní vazokonstrikcí), tendencí k trombóze a nedostatečnou inhibicí subendoteliální proliferace.

Obr. 3 : Mechanismus vzniku endoteliální dysfunkce



## 5.1. Fyziologické funkce endotelu

Endotelová tkáň dosahuje u dospělého člověka dle různých autorů hmotnosti 1-3 kg a plochy až 700 m<sup>2</sup>. Buňky endotelu jsou mezenchymálního původu a tvoří jednovrstevnou výstelku všech složek kardiovaskulárního systému. Obvykle mají polygonální tvar, jsou protáhlé ve směru krevního proudu a v místě jádra se vyklenují do lumen. Normální funkce cévního endotelu má zásadní význam pro udržování homeostázy v celém organismu. Hormonální působky, prozánětlivé cytokiny i další metabolické produkty endotelových buněk se široce uplatňují v rozličných regulačních mechanismech sloužících k udržení rovnováhy v jednotlivých systémech, současně se účastní vzájemné komunikace mezi těmito systémy. Řadu endoteliálních funkcí lze alespoň zčásti terapeuticky ovlivnit. K základním funkcím endotelu patří:

- regulace cévního tonu a tím i průtoku krve a krevního tlaku
- regulace hemostázy
- vliv na strukturu cévní stěny a regulace angiogeneze
- regulace permeability cévní stěny
- regulace imunitní a zánětlivé reakce působením na interakci mezi stěnou cévy a cirkulujícími buněčnými elementy

### Regulace cévního tonu

V buňkách endotelu dochází k expresi mRNA pro tzv. konstitutivní typ NO-syntázy (eNOS), enzymu katalyzujícího syntézu endoteliálního relaxačního faktoru, chemicky oxidu dusnatého (EDRF/NO) (Hornig et al., 1996). Oxid dusnatý, vznikající konverzí aminokyseliny L-argininu na NO a L-citrulin, je rozhodujícím regulátorem tonu cévní stěny a vazomotorických funkcí (Sessa, 1994). Inhibuje adhezi leukocytů k endotelu, zabraňuje proliferaci cévního hladkého svalstva a omezuje agregaci trombocytů (Gimbrone et al., 1995). Působí tak protizánětlivě, antiagregačně a vykazuje pozitivní vliv na zachování integrity cévní stěny. Dalšími faktory s vazodilatačními účinky jsou z endotelu derivovaný hyperpolarizující faktor (EDHF), prostacyklin (PGI<sub>2</sub>), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) a bradykinin. Naopak vazokonstriční účinky vykazuje endotelin 1 (ET1), angiotenzin II (AT II), tromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) a trombin.

## **Regulace hemostázy**

Aktivace koagulační kaskády vede k tvorbě trombinu, který konvertuje fibrinogen na fibrin. Konečným produktem hemostázy je stabilní fibrinová zátka. Udržování rovnováhy mezi hemokoagulačními a fibrinolytickými pochody je životně důležitou funkcí. Na regulaci hemostázy se endotel podílí různými mechanismy. V endotelu je syntetizován glykosaminoglykan heparansulfát, který spolu s antitrombinem III inaktivuje trombin. V membráně endotelu se vyskytuje také trombomodulin (TM), který přímo inhibuje prokoagulační aktivitu trombinu a urychluje aktivaci dalšího inhibitoru - proteinu C trombinem. V přítomnosti kofaktoru proteinu S umožňuje aktivovaný protein C degradaci faktorů Va a VIIIa. Dalším produktem endotelu je inhibitor zevního systému aktivace hemostázy (tissue factor pathway inhibitor, TFPI), který se uplatňuje při inaktivaci faktorů VII, IX a X (Sixma et al., 1997). Aktivace endotelu, ke které dochází v důsledku poškození cévní stěny či působením některých mediátorů (např. fragmentů aktivovaného komplementu, lipopolysacharidových produktů mikroorganismů či zánětlivých cytokinů IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6) vede k syntéze a sekreci proadhezivních a proagregačních faktorů. Těmi jsou zejména von Willebrandův faktor (vWF) a faktor aktivující trombocyty (platelet activating factor, PAF). Vwf je skladován v tzv. Weibel-Paladeho tělíscích. Hraje dominantní úlohu v iniciální adhezi trombocytů k obnažené subendoteliální matrix (Malík et al., 2000). Thompson et al. ve své studii prokázal, že u pacientů s anginou pectoris je hladina vWF nezávislým prediktorem následného akutního koronárního syndromu (Thompson et al., 1995). PAF aktivuje nejen trombocyty, ale i neutrofile a monocyty, navíc vyvolává vazokonstrikci a zvyšuje cévní propustnost. Jeho produkci inhibuje prostacyclin (Bussolino et al., 1988). Agregačně a vazokonstrikčně působí i tromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). Buňky endotelu secernují také některé složky fibrinolytického systému. Klíčovou roli v regulaci fibrinolýzy hraje tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA) a plasminogen aktivátor inhibitor-1 (PAI-1). Tkáňový aktivátor plazminogenu je serinová proteáza a je skladován ve specifických vezikulech endotelových buněk, ze kterých může být během několika sekund uvolněn (Collen, 1999). Jako aktivátor sekrece t-PA se uplatňuje například adrenalin, histamin, vazopresin či trombin, zatímco opačně působí IL-1, TNF- $\alpha$  nebo plazmin (Emeis et al., 1997). PAI-1 inaktivuje kromě tkáňového aktivátoru plazminogenu také faktor XIa (Berrettini et al., 1989). Jeho tvorbu v endotelových buňkách stimuluje trombin, IL-1, TNF- $\alpha$  a lipoprotein (a) (Stvrtinova et al., 1998). Zvýšené hladiny PAI-1 u jedinců s normální glukózovou tolerancí jsou markerem vysokého rizika pro vznik diabetes mellitus 2. typu a aterosklerózy (Festa et al., 2002).

## **Vliv na strukturu cévní stěny a regulace angiogeneze**

Endoteliální buňky ovlivňují strukturu cévní stěny několika způsoby. Na jedné straně produkují faktory bránící adhezi trombocytů a monocytů na povrch endotelu (např. NO, PGI<sub>2</sub> atd.) a tím omezují tvorbu aterosklerotických plátů (Stvrťinova et al., 1998). Na druhé straně secernují řadu látek s růst stimulačními a růst inhibujícími účinky. K nejdůležitějším růstovým faktorům patří PDGF (růstový faktor tvořený destičkami, platelet-derived growth factor), působící jako mitogen pro fibroblasty, hladkosvalové, epiteliální a endoteliální buňky. Stimulační účinek na růst hladkých svalových buněk má i FGF (fibroblastový růstový faktor), endotelin-1, angiotenzin II či IGF-1 (insulin-like growth factor-1). Na stimulaci angiogeneze se kromě výše uvedených faktorů významně podílí také VEGF (vascular endothelial growth factor). Mezi faktory s růst inhibujícími účinky patří např. heparansulfát, EDRF/NO a TGF- $\beta$  (transformující růstový faktor  $\beta$ ).

## **Regulace permeability**

Cévní endotel vytváří bariéru mezi intravaskulárním prostředím a dalšími vrstvami cévní stěny s perivaskulárním prostorem, současně slouží jako permeabilní filtr. Kontroluje prostup nízkomolekulárních látek, makromolekul a leukocytů do intersticia i do endoteliálních buněk. K prostupu je využívána soustava mezibuněčných spojů (tight junctions, gap junctions, adherens junctions) nebo transcelulární transport. U tohoto typu transportu se významně uplatňují vezikulární struktury vzniklé z cytoplazmatické membrány, označované jako kaveoly. Funkcí kaveol je nejen zajištění transcelulárního transportu mezi krví a tkáněmi, ale slouží také jako rezervoár enzymů a internalizovaných receptorů, které jsou v pohotovosti pro případ potřeby (Schnitzer et al., 1995). Prostup leukocytů je realizován za pomoci adhezivních molekul (viz níže). Poškození endotelu zánětlivým procesem, ischemií či jinými faktory vede ke zvýšení jeho propustnosti. V odpovědi na zánětlivé mediátory se zřejmě přednostně zvyšuje paracelulární transport. Jedním z možných mechanismů uplatňujících se při modulaci permeability endotelu je fosforylace proteinů, které jsou součástí intercelulárních juncí, s následnou kontrakcí aktinu/myosinu, centripetální retrakcí endoteliálních buněk a formací intercelulárních otvorů (gaps) (Toborek & Kaiser, 1999). K nejvýznamnějším působkům zvyšujícím během minut permeabilitu endotelu patří trombin a histamin. Působení trombinu vede k vzestupu intracelulární koncentrace kalcia a aktivaci proteinkinázy C (PKC), která může fosforylovat juncční proteiny a tzv. aktin vázající proteiny (actin binding proteins, ABP) (Vuong et al.,

1998). Permeabilitu cévního endotelu dále zvyšuje například bradykinin (Lum & Malik, 1994), VEGF (Murohara et al., 1998), endotelin-1 (Helset et al., 1994), angiotenzin II (Williams et al., 1995) či zánětlivé cytokiny TNF- $\alpha$  (Toborek et al., 1996) a IL-1 $\beta$  (Marcus et al., 1996). Permeabilita endotelu je také ovlivňována receptory glykosylovaných konečných produktů (RAGE, receptors for advanced glycation end products).

### **Regulace imunitní a zánětlivé reakce působením na interakci mezi stěnou cévy a cirkulujícími buněčnými elementy**

Endotel se významně podílí na interakci mezi cévní stěnou a cirkulujícími buněčnými elementy, především leukocyty a trombocyty. Tento proces je důležitou součástí zánětlivé odpovědi a bude podrobně rozebrán v následujícím textu.

*Tab. 2 : Substance produkované endotelem. Upraveno podle Verma & Anderson, 2002.*

Vazokonstrikční	ET-1, angiotenzin II, tromboxan A <sub>2</sub> , prostaglandin H <sub>2</sub> , trombin, kyslíkové radikály
Vazodilatační	EDRF/NO, prostacyklin, bradykinin, EDHF, adrenomedullin, C-natriuretický peptid
Proliferační	ET-1, angiotenzin II, PDGF, FGF, IGF-1, interleukiny, kyslíkové radikály
Antiproliferační	EDRF/NO, heparansulfát, TGF- $\beta$ , prostacyklin
Protrombotické	ET-1, PAI-1, tromboxan A <sub>2</sub> , fibrinogen, TF, vWF, kyslíkové radikály
Antitrombotické	EDRF/NO, prostacyklin, t-PA, protein C, TFPI, trombomodulin
Zánětlivé mediátory	ICAM-1, VCAM-1, P-selektin, E-selektin, chemokiny NF- $\kappa$ B

### **Přehled stimulů vedoucích k poškození endotelu**

- hemodynamické efekty (střížné síly atd.)
- arteriální hypertenze
- lipidy (oxidované LDL molekuly)
- hypoxie, ischemie, reperfúze
- infekce (*Chlamydia pneumoniae?*, *Helicobacter pylori?*, *Herpes simplex virus?*, *cytomegalovirus?*)
- poruchy imunity
- histamin
- trombin
- elastáza
- prostanoidy
- kouření
- deficit estrogenů
- hyperglykémie
- porušená funkce tukové tkáně

### 5.3. Diagnostika endoteliální dysfunkce

Patofyziologickou podstatou endoteliální dysfunkce je abnormální vazomotorická funkce, prozánětlivý a protrombogenní stav. Diagnostika těchto změn umožňuje časnou intervenci, čímž lze zabránit rozvoji pokročilého cévního postižení. K průkazu endoteliální dysfunkce se využívají dvě skupiny metod: biochemické a morfologické. Morfologická diagnostika je založena na detekci abnormální vazomotorické odpovědi na farmakologické (např. podání acetylcholinu) a nefarmakologické (např. zvýšení průtoku navozené několikaminutovou ischemií) podněty. Cévní reaktivitu lze hodnotit na základě invazivních metod (angiograficky), v současné době je však jednoznačně nejužívanější technikou ultrazvukové hodnocení endoteliální dysfunkce pomocí tzv. „flow mediated vasodilatation“ (FMD). K hodnocení preklinických fází aterosklerózy je široce využíváno i sonografické stanovení tloušťky intimy-medie (IMT – intima media thickness) karotických tepen. Laboratorní diagnostika spočívá ve stanovení různých markerů endoteliální dysfunkce, tedy látek uvolňovaných ve zvýšené míře do krevního oběhu při poškození endotelu. Příkladem sledovaných parametrů mohou být cytoadhezivní molekuly, CRP, endotelin-1, asymetrický dimetylgarginin, t-PA, fibrinogen, von Willebrandův faktor, fibrinogen, sérový amyloid A či metaloproteinázy. Vzestup plazmatických hladin těchto molekul však samozřejmě nemusí zcela přesně odrážet změny v jejich parakrinním působení. Úloze adhezivních molekul v procesu aterosklerózy je věnována následující kapitola.

#### 5.2.1. Adhezivní molekuly

Adhezivní molekuly jsou proteiny mající zásadní význam v celé řadě fyziologických i patologických procesů (embryogeneze, imunitní reakce, reparace poškozených tkání atd.) (Mulvihill et al., 2002b). Jsou exprimovány na povrchu buněk různých populací (endotel, leukocyty, trombocyty, kmenové buňky atd.) a umožňují jejich vzájemnou „komunikaci“. Na řízení cévního zánětlivého děje se podílejí zejména adhezivní molekuly VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) a E-selektin, dále interleukiny, TNF- $\alpha$  a monocytární chemotaktický protein-1 (MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1) (Huo & Ley, 2001). Trvale zvýšená aktivace endotelu je doprovázena narůstající expresí VCAM-1, ICAM-1 a E-selektinu na povrchu endoteliálních buněk a tím dochází i ke zvýšení koncentrace jejich solubilních forem detekovatelných v plazmě. Prospektivní studie ukazují, že zvýšení hladin těchto parametrů je asociováno se stupněm poškození integrity cévní stěny a jejich sledování může být použito při hodnocení výše kardiovaskulárního rizika (Blankenberg et al., 2001; Blann &

Lip, 2000; Demerath et al., 2001; Mulvihill et al., 2002a; Ridker et al., 1998). Je zřejmé, že zásadní roli v iniciaci tvorby, progresi růstu a v případné ruptuře aterosklerotického plátu hrají mediátory zánětu. Molekulární mechanismus tohoto procesu je intenzivně zkoumán. Jak již bylo zmíněno, jedním z možných faktorů ovlivňujících funkci endotelu je porušená funkce tukové tkáně, rezultující ve zvýšenou produkci prozánětlivých cytokinů respektive angiogenních růstových faktorů v tukové tkáni (Avogaro & de Kreutzenberg, 2005; Haluzík et al., 2004; Shankar & Steinberg, 2005; Van Gaal et al., 2006).

Tab. 3 : Přehled jednotlivých skupin adhezivních molekul

Skupina	Adhezivní molekuly
Integriny	$\beta_1$ - $\beta_8$
Selektiny	E-selektin, P-selektin, L-selektin
Imunoglobuliny	Intercellular adhesion molecule: ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3 Vascular cell adhesion molecule: VCAM-1 Plateled endothelial cell adhesion molecule: PECAM-1
Kadheriny	E-kadherin, P-kadherin, N-kadherin
Molekuly CD 44	

### 5.2.2. Adhezivní molekuly jako potenciální biomarkery kardiovaskulárního rizika – výsledky klinických studií

V několika rozsáhlých prospektivních studiích se zdravými jedinci (např. studie ARIC - Atherosclerosis Risk In Communities, Physicians' Health Study, Women's Health Study a PRIME – Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction) byla shodně demonstrována asociace mezi koncentrací sICAM-1 a rizikem vzniku ischemické choroby srdeční (ICHS). Pro sVCAM-1 a E-selektin nebyl podobný vztah prokázán (de Lemos et al., 2000; Hwang et al., 1997; Luc et al., 2003; Ridker et al., 1998). ICAM-1 je konstitutivně exprimován různými typy buněk včetně buněk hematopoetické linie a fibroblastů. Jeho

koncentrace korelují s koncentracemi reaktantů akutní fáze a mají podobně jako např. C-reaktivní protein prediktivní hodnotu v určování kardiovaskulárního rizika (Ridker et al., 1998). ICAM-1 lze zřejmě považovat za jeden z významných markerů prozánětlivého stavu.

Naopak k výrazné expresi sVCAM-1 dochází v experimentálních i klinických studiích až po navození proaterogenního stavu (Cybulsky & Gimbrone, 1991; O'Brien et al., 1993). Zvýšená exprese sVCAM-1 byla demonstrována u pacientů s anamnézou předchozího kardiovaskulárního onemocnění, nikoli u dosud zdravých jedinců (AtheroGene study, HOPE study - Heart Outcomes Prevention and Evaluation, BIP - Bezafibrate Infarction Prevention study) (Haim et al., 2002; Hwang et al., 1997). V několika dalších studiích byl sVCAM-1 identifikován jako silný prediktor rizika budoucího vzniku kardiovaskulární příhody u nemocných s ICHS (Blankenberg et al., 2001; Malik et al., 2001), diabetes mellitus (Jager et al., 2000; Stehouwer et al., 2002) a nestabilní anginou pectoris (Mulvihill et al., 2001). Také studie zaměřené na sledování aterosklerotického postižení periferního tepenného systému poukazují na odlišnou roli sICAM-1 a sVCAM-1 v závislosti na typu sledované populace. sICAM-1 je u zdravých jedinců prediktorem vzniku symptomatického onemocnění (Pradhan et al., 2002b), zatímco sVCAM-1 se lépe uplatňuje jako marker rozsahu a stupně aterosklerotických změn u pacientů s již prokázaným onemocněním (Peter et al., 1997)

### **5.3. Patogeneze zánětu cévní stěny**

Spouštěcím mechanismem v tvorbě aterosklerotického ložiska je průnik lipoproteinů z plazmy subendoteliálně a jejich nakupení v mezibuněčné matrix cévní intimy, kde dochází k jejich vazbě na proteoglykany (Chobanian, 1992). Tzv. oxidativní hypotéza předpokládá, že tyto lipoproteiny jsou modifikovány vlivem kyslíkových radikálů (Lyons, 1991). Riziko oxidačního poškození lipoproteinů v intimě ve srovnání s plazmou je výrazně vyšší v důsledku nižší aktivity antioxidačních procesů. Oxidovány mohou být částice LDL (low density lipoproteins – lipoproteiny o nízké hustotě) i VLDL (very low density lipoproteins – lipoproteiny o velmi nízké hustotě). Naproti tomu částice HDL (high density lipoproteins – lipoproteiny o vysoké hustotě) zajišťují reverzní transport cholesterolu do jater a působí antioxidačně a protizánětlivě. Dalším mechanismem strukturní modifikace lipoproteinů je neenzymatická glykace za vzniku AGE (advanced glycation end products) (Lyons, 1992). Zvýšená glykace proteinů je pozorována nejen u pacientů s rozvinutým diabetem, ale i osob s poruchou glukózové tolerance, a je závislá na stupni hyperglykémie a poločase proteinů v plazmě. Glykované LDL částice jsou cytotoxické pro endoteliální buňky a buňky



hladkého svalstva cévní stěny, zvyšují agregabilitu destiček a dle některých názorů jsou citlivější k oxidačním změnám. Glykace HDL vede k řadě abnormalit v jeho metabolismu, zejména k porušení reverzního transportu cholesterolu. Modifikační procesy inhibují vychytávání LDL částic cestou klasických receptorů, což kromě hromadění LDL v plazmě vede k jejich odbourávání alternativní cestou tzv. scavengerových (odklízcích) receptorů. Tyto receptory se nacházejí na povrchu endotelových buněk, makrofágů a buněk hladkého svalstva a nejsou regulovány vysokým obsahem intracelulárního cholesterolu. Akumulace cholesterolu vede ke vzniku pěnových buněk a formaci aterosklerotických lézí. Nahromaděním modifikovaných molekul lipoproteinů v intimě cévní stěny dochází k ovlivnění genové exprese v hladkých svalových buňkách a buňkách endotelu a k modulaci syntézy proaterogenních růstových faktorů, cytokinů a adhezivních molekul.

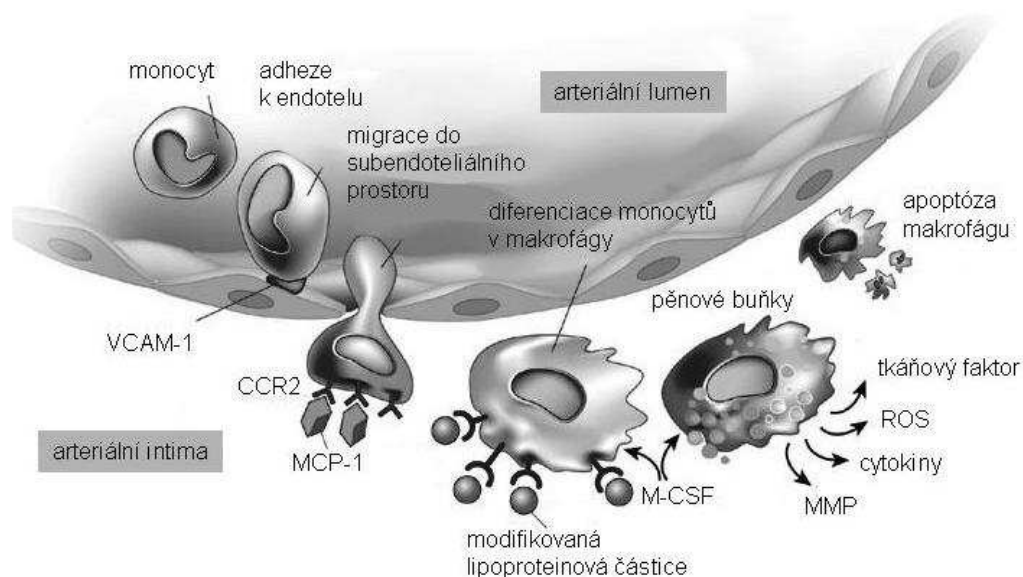
Leukocyty mají pouze malou tendenci adherovat k intaktnímu endotelu. E-selektin exprimovaný na povrchu endoteliálních buněk se podílí na tzv. rolování (rolling) leukocytů podél endotelu (Davies et al., 1993). K pevnější adhezi monocytů k cévní stěně a jejich následné migraci do subendoteliálního prostoru dochází prostřednictvím molekul ICAM a VCAM z rodiny imunoglobulinů, které jsou exprimovány na endoteliální membráně až po stimulaci zánětlivými mediátory (Frenette & Wagner, 1996). Kromě adhezivních molekul se při vstupu monocytů do subendoteliálního prostoru významně uplatňuje i chemokin MCP-1. Subendoteliální migrace krevních monocytů vede k jejich akumulaci v intimě. Působením M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) a dalších cytokinů dochází k diferenciaci monocytů v makrofágy (Adams & Lloyd, 1997; Andreeff & Welte, 1989). M-CSF také stimuluje expresi scavengerových receptorů a tím vychytávání modifikovaných lipoproteinových částic. Po aktivaci samy makrofágy secernují celou řadu biologicky aktivních látek (cytokiny, růstové faktory a volné radikály). Některé z těchto sekrečních produktů mohou přímo sloužit jako chemoatraktanty pro další monocyty z cirkulace, ale i pro buňky hladkého svalstva média. Makrofágy mohou být též stimulovány k uvolňování IL-1 a TNF- $\alpha$ , které na endoteliálních buňkách zvyšují expresi ICAM-1, VCAM-1 a E-selektinu a tím navozují vstup dalších mononukleárních buněk do plátu.

Makrofágy transformované v pěnové buňky stimulují ve stěně cévy endotelové buňky a vaskulární leiomyocyty k produkci PAI-1 (Tsikouris et al., 2002). Pěnové buňky dále produkují metaloproteinázy (MMP), patřící do rodiny zinek-dependentních endopeptidáz. Ty působí proteolyticky proti proteinům pojivové tkáně. Účastní se tak remodelace cévní stěny a jejich působením dochází k ruptuře aterosklerotického plátu. Další produktem makrofágů je tkáňový faktor (TF), který svým působením aktivuje

prokoagulační a trombogenní proces v aterosklerotickém plátu (Moreno et al., 1996). Expres tkáňového faktoru je regulována zánětlivými mediátory produkovanými makrofágy, což poukazuje na těsný vztah mezi zánětem a trombózou (Libby, 2003). Společně s makrofágy pronikají do intimy i T lymfocyty, které jsou taktéž aktivovány k sekreci řady cytokinů. Hlavními produkty T lymfocytů je interferon gamma a lymfotoxin (tumor necrosis factor beta, TNF- $\beta$ ). Interferon gamma tlumí syntézu kolagenu v buňkách hladké svaloviny a ovlivňuje tak stabilitu aterosklerotického plátu (Libby et al., 1996).

*Obr. 4 : Úloha monocytů v aterogenezi. Upraveno podle Libby, 2002.*

CCR2 = CC chemokin receptor 2 (receptor pro MCP-1), M-CSF = macrophage colony-stimulating factor, MMP = matrixové metaloproteinázy, ROS = reaktivní formy kyslíku.

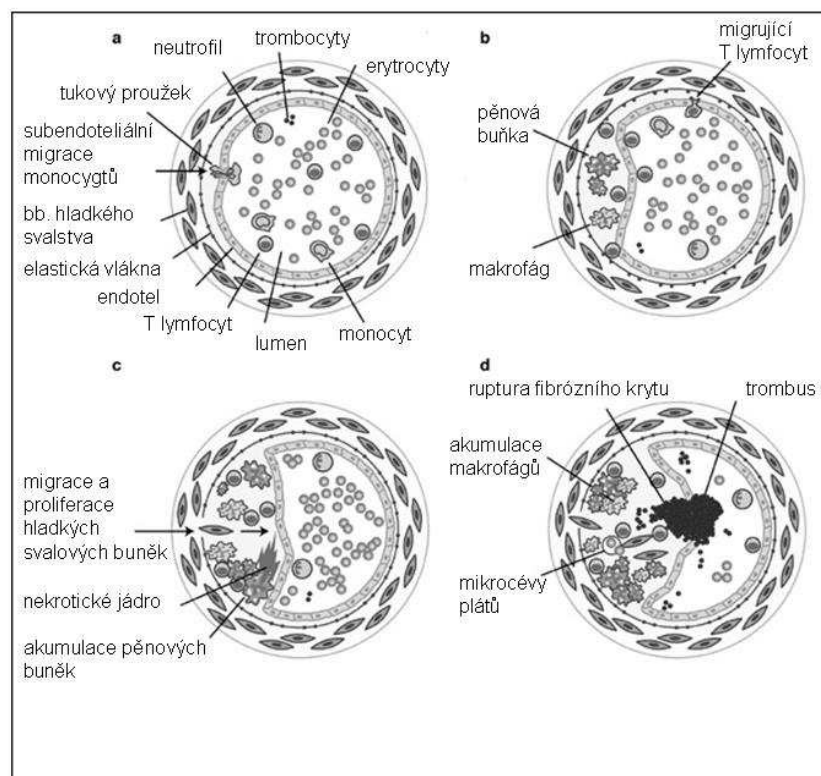


Neointimální proliferace vede společně s akumulací lipidů subendoteliálně k progresivnímu zvětšování fibrózních plátů, které se vyklenují do lumina cévy a působí tak jeho částečnou či úplnou obstrukci. Pláty jsou tvořeny kolagenní matrix, volnými depozity tuků, debris a množstvím buněčných elementů - zejména proliferujícími buňkami hladkého svalstva, makrofágy v různém stupni přeměny v pěnovou buňku a lymfocyty (Češka, 2005). Hlubší vrstvy fibrózního plátu mohou podléhat apoptóze a nekróze, nekrotická ložiska mohou kalcifikovat. Ruptura či ulcerace fibrózního plátu je doprovázena adharencí a agregací trombocytů a organizací trombu, což může velmi rychle vést ke vzniku cévního

uzávěru. Každé ze stádií formace aterosklerotické léze je potenciálně reverzibilní. Podaří-li se odstranit příčinu poškození a zvrátit zánětlivý a fibroproliferativní proces, mohou léze v kterémkoli stupni regredovat (Libby et al., 2002; Ross, 1999).

*Obr. 4* : Stádia vývoje aterosklerotické léze. Upraveno podle Stevens et al., 2005.

(a) Tukové proužky představují nejčasněji identifikovatelnou morfológickou změnu. Neprominují do lumina arterie a neovlivňují tak významně průtok krve. Tukové proužky se mohou vyvíjet s postupujícím procesem aterosklerózy, ale mohou také regredovat. (b) Další stádium představuje formace fibrózních plátů, kdy dochází k akumulaci makrofágů v různém stupni přeměny v pěnovou buňku a k rozvoji lokálního zánětu. (c) Následuje migrace proliferujících buněk hladkého svalstva, tvorba fibrózního krytu a lipidového jádra, které může podléhat nekróze a dalšímu progresu zánětlivého procesu. (d) Vlivem různých faktorů (např. působením degradačních enzymů či reaktivních kyslíkových radikálů) dochází k oslabení fibrózního krytu a následné ulceraci či ruptuře fibrózního plátu. Tak vzniká tzv. komplikovaná léze, která se stává místem adherence a agregace trombocytů a organizace trombu. Trombóza pak může být příčinou náhlého cévního uzávěru a rezultovat v manifestní akutní koronární syndrom.



Na rozvoji endoteliální dysfunkce se podílejí i vlivy hemodynamické. Predilekčními místy pro aterosklerotický proces jsou místa arteriálních bifurkací. Změna laminárního proudění v turbulentní v důsledku změn struktury cévní stěny v těchto lokalizacích způsobuje mechanické poškození endotelové výstelky (tzv. wall shear stress, WSS,

smykový tlak krevního proudu) s následným snížením produkce oxidu dusnatého a zvýšením exprese ICAM-1 na buňkách endotelu (Nagel et al., 1994).

#### **5.4. Možnosti terapeutického ovlivnění endoteliální dysfunkce**

Endoteliální dysfunkce je reverzibilní stav. Úprava endoteliální funkce pomocí režimových opatření či vlivem farmak může zabránit přechodu funkčních změn ve změny strukturální a zabránit tak progresi aterosklerotického procesu a stabilizaci již vyvinutého aterosklerotického plátu.

##### **5.4.1. Nefarmakologická intervence**

Ovlivnění rizikových faktorů úpravou životosprávy je nejjednodušším opatřením při snaze o normalizaci endoteliální funkce. I mírná redukce hmotnosti vede ke zlepšení endoteliální dysfunkce a dalších komplikací obezity (Balkestein et al., 1999; Sciacqua et al., 2003; Ziccardi et al., 2002). Existuje řada důkazů, že snížením energetického příjmu a nárůstem fyzické aktivity lze dosáhnout oslabení příznaků systémového zánětu a snížení kardiovaskulárního rizika (Hambrecht et al., 2000; Smith et al., 2001). Tělesná aktivita působí příznivě na endoteliální funkci nejen u chorobných stavů jako je arteriální hypertenze (Higashi et al., 1999), městnavé srdeční selhání (Hambrecht et al., 1998) či ICHS (Hambrecht et al., 2000), ale i u zdravých jedinců (Clarkson et al., 1999; DeSouza et al., 2000).

V roce 1999 byla Ferrim et al. publikována studie, ve které vedla kalorická restrikce (800 kcal/den) po dobu 12 týdnů k poklesu cirkulujících markerů endoteliální dysfunkce u obézních hypertenzních i normotenzních pacientů (Ferri et al., 1999). Ziccardi et al. publikoval v roce 2002 výsledky své studie, ve které vedla režimová opatření u obézních žen po 12 měsících minimálně k 10% redukci hmotnosti a k poklesu markerů zánětu a endoteliální dysfunkce (Ziccardi et al., 2002). Ve studii Hamdyho et al. byl sledován vliv redukce hmotnosti na endoteliální funkci u obézních, inzulin-rezistentních pacientů (BMI 30-40%). Po šesti měsících došlo u sledované skupiny nejen k redukci hmotnosti ( $6,6 \pm 1\%$ ) a zlepšení inzulinové senzitivity (hodnocené pomocí tzv. Bergmanova minimálního modelu), ale i k signifikantnímu zlepšení vaskulární reaktivity a poklesu hladin sICAM-1 a PAI-1. Hladiny ostatních markerů endoteliální aktivace a koagulace (sVCAM-1, vWF a t-PA) nebyly dietní intervencí ovlivněny (Hamdy et al., 2003). Pozitivní vliv 2týdenní hmotnostní redukce na vaskulární reaktivitu prokázal i Sasaki et al. u obézních pacientů s arteriální hypertenzí (Sasaki et al., 2002).

K úpravě funkce endotelu a snížení kardiovaskulárního rizika vede nepochybně i zanechání kouření. Obecně je doporučována konzumace stravy s nízkým obsahem tuků, dostatek ovoce a zeleniny a též zvýšený přísun flavonoidů, které jsou významnou součástí antioxidantního systému, zabraňují peroxidaci lipidů, likvidují volné kyslíkové radikály a mohou vázat a inaktivovat některé prooxidační kovové ionty (Agewall et al., 2000; Duffy et al., 2001; Krauss et al., 2000; Stein et al., 1999).

#### **5.4.2. Farmakologická intervence**

Ve snaze o zlepšení kardiovaskulární prognózy u pacientů s endoteliální dysfunkcí byla zkoumána řada farmakologických postupů. Jednoznačně příznivý efekt na ED je v současné době přisuzován dvěma skupinám léků – statinům a inhibitorům angiotenzin konvertujícího enzymu (ACEI). U mnoha dalších farmak nebylo v otázce pozitivního vlivu na ED dosaženo jednoznačného závěru.

#### **Statiny**

Snížení sérové koncentrace cholesterolu je pravděpodobně hlavním mechanismem, kterým statiny zlepšují endoteliální funkci (Vogel, 1999). Nicméně z výsledků některých experimentálních i klinických studií je zřejmé, že mechanismus účinku statinů na endotel je komplexní a nezávisí pouze na poklesu hladin cholesterolu (Bonetti et al., 2003; Levine et al., 1995). Extralipidový efekt statinů spočívá například v antioxidantním a protizánětlivém působení (snížení oxidovatelnosti LDL částic, útlum produkce některých cytokinů v lymfocytech, snížení aktivace makrofágů a inhibice exprese leukocytárních adhezivních molekul, IL-6, CRP apod.) (Ridker et al., 2008; Takemoto & Liao, 2001). Statiny také zvyšují expresi a aktivitu endoteliální NO-syntázy, čímž příznivě ovlivňují vazomotorické funkce endotelu (Anderson et al., 1995; Dupuis et al., 1999; O'Driscoll et al., 1997). V antitrombogenním působení statinů se uplatňuje ovlivnění fluidity a stabilizace membrán trombocytů a snížení aktivity PAI-1 provázené zvýšením aktivity t-PA (Krysiak et al., 2003). Inhibicí exprese tkáňového faktoru (TF) přispívají statiny ke snížení trombogenity a stabilizaci aterosklerotického plátu (Eto et al., 2002). Lze předpokládat, že uvedený přehled nelipidových účinků není zdaleka úplný. V tomto ohledu bude třeba vyčkat výsledků dalších velkých klinických studií.

### **Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (ACEI)**

ACEI mají významné kardioprotektivní a vaskuloprotektivní vlastnosti. Vliv ACEI na endoteliální dysfunkci je dán několika mechanismy. Snižují konverzi angiotenzinu I na angiotenzin II a současně inhibují degradaci bradykininu, čímž dochází ke stimulaci tvorby EDRF/NO. Ovlivňují tak pozitivně vazomotorické funkce endotelu, omezují proliferaci a migraci hladkého svalstva cév, snižují funkci a migraci makrofágů. Dále vykazují antioxidační vlastnosti, inhibicí agregace destiček a usnadněním endogenní fibrinolýzy snižují též trombotickou aktivitu (Yusuf & Lonn, 1998).

### **Další možnosti ovlivnění ED farmaky**

Pozitivní vliv na funkci endotelu mohou mít i další léky, dosud však neexistují studie, které by na dostatečně velkých souborech pacientů příznivý efekt těchto léčiv jednoznačně prokázaly. Jedná se např. blokátory kalciových kanálů, antagonisty AT<sub>1</sub> receptorů pro angiotenzin II, estrogeny, L-arginin, léky snižující hladinu homocysteinu, tetrahydrobiopterin (kofaktor pro endoteliální NO-syntázu), blokátory endotelinu, antioxidační látky, inhibitory proteinkinázy C a cyklooxygenázy (Adams et al., 1997; Brown et al., 2002; Heitzer et al., 2000; Chenevard et al., 2003; Verma & Anderson, 2002). Také terapie thiazolidindiony, které se podílejí na kontrole sacharidového metabolismu a diferenciaci adipocytů, vede je zlepšení endoteliální funkce (Hetzl et al., 2005).

### **5.5. Úloha nukleárních receptorů v procesu aterosklerózy**

PPAR (peroxisome proliferator activated receptors = receptory aktivované peroxizomovými proliferátory), jsou transkripční faktory ovlivňující expresi genů kódujících celou řadu působků (enzymů, regulačních proteinů apod.) zapojených v metabolismu lipidů, sacharidů, regulaci zánětu, nádorového bujení, imunitních dějů, diferenciaci buněk apod. (Haluzík & Haluzík, 2006; Chinetti et al., 2003). K aktivaci PPAR dochází navázáním PPAR agonisty. Takto aktivovaný PPAR vytvoří heterodimer s tzv. retinoidním nukleárním receptorem X a poté se váže na specifické úseky DNA, nazývané PPRE (peroxisome proliferator responzivní elementy). Díky této vazbě pak dochází k aktivaci transkripce specifických genů a tvorbě příslušných bílkovin, které zprostředkují vlastní biologické účinky PPAR. V současné době jsou známy tři izoformy PPAR, které jsou kódovány třemi různými geny: PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\beta$  PPAR- $\gamma$  (Desvergne & Wahli, 1999). Shrnutí tkáňové distribuce, funkce a způsobů stimulace jednotlivých izoform je uvedeno v následující tabulce.

Tab. 3 : Tkáňová distribuce, funkce a způsob stimulace jednotlivých izoform receptorů PPAR

	<i>PPAR-<math>\alpha</math></i>	<i>PPAR-<math>\delta/\beta</math></i>	<i>PPAR-<math>\gamma</math></i>
Tkáňová a orgánová exprese	hnědá tuková tkáň, játra, GIT, svaly, ledviny	všechny tkáně (mozek, kůže, tuková tkáň)	tuková tkáň, svaly, střevo, játra, ledviny, pankreas
Ligandy - endogenní - exogenní	VMK fibráty	VMK	VMK + metabolity thiazolidindiony
Funkce	metabolismus lipidů: - transport MK - $\alpha$ , $\beta$ i $\omega$ -oxidace MK ovlivnění inzulinové senzitivity antiaterogenní účinky	myelinizace CNS implantace embrya apoptóza, proliferace a diferenciacie keratinocytů	diferenciacie tuk. tkáně kapacita k ukládání TAG endokrinní fce tuk. tkáně nádory, autoimunitní onemocnění

### 5.5.1. PPAR- $\alpha$ a ateroskleróza

PPAR- $\alpha$  jsou nukleární receptory exprimované v endoteliálních buňkách, monocitech/makrofázích a hladkých svalových buňkách cévní stěny (Plutzky, 2003). Hrají významnou úlohu v regulaci lipidového metabolismu a glukózové homeostázy (Lefebvre et al., 2006). Jsou aktivovány nasycenými a nenasycenými kyselinami s dlouhým řetězcem (kys. palmitová, linoleová, arachidonová) a jejich eikosanoidovými deriváty. Exogenními ligandy pro PPAR- $\alpha$  jsou fibráty, používané mnoho let jako účinná hypolipidemika. Receptory PPAR- $\alpha$  vykazují přímý vliv na transkripci genů kódujících enzymy a transportní proteiny regulující metabolismus lipidů. Jejich aktivací dochází k indukci lipolýzy lipoproteinů, zvýšení vychytávání VMK v játrech a snížení jaterní produkce triglyceridů, zvýšení HDL a stimulaci reverzního transportu cholesterolu a zvýšení vychytávání LDL (Fruchart, 2001; Staels et al., 1998). V poslední době je intenzivně zkoumáno možné ovlivnění inzulinové senzitivity aktivací PPAR- $\alpha$  receptorů. V několika experimentálních studiích u myších modelů obezity a inzulinové rezistence vedla stimulace PPAR- $\alpha$  ke zlepšení inzulinové senzitivity díky stimulaci oxidace mastných kyselin ve svalové a jaterní tkáni a následnému snížení ektopicky uložených lipidů v těchto tkáních (Guerre-Millo et al., 2000; Haluzík, 2005; Chou et al., 2002; Ye et al., 2001). Výsledky dosud publikovaných klinických studií však takto jednoznačné závěry nepřinesly (Haluzík & Haluzík, 2006).

Podávání fibrátů také vede ke snížení koncentrací fibrinogenu, příznivému ovlivnění viskozity krve a působí celkově antiagregačně.

Mechanismus působení PPAR- $\alpha$  na proces aterogeneze je velmi komplexní. Nejlépe prozkoumaným a zřejmě i nejvýznamnějším mechanismem, kterým aktivace PPAR- $\alpha$  vede k ovlivnění procesu aterosklerózy, je působení na metabolismus lipidů a lipoproteinů (Hamblin et al., 2009). Již byla také zmíněna možnost snížení inzulínové rezistence aktivací těchto receptorů. Výzkumy posledních let přinášejí stále více důkazů, že fibráty vykazují pozitivní vliv i na funkci endotelu.

Stimulace PPAR- $\alpha$  vede cestou inhibice signální kaskády nukleárního faktoru  $\kappa$ B ke snížení produkce IL-6 a dalších prozánětlivých cytokinů těmito buňkami (Delerive et al., 2000; Gervois et al., 2004; Hamblin et al., 2009). Protizánětlivý efekt má též inhibice cyklooxygenázy-2, která je silným induktorem IL-1. V experimentální studii na myším transgenním modelu s knockoutem PPAR- $\alpha$  prokázal Delerive a spol. výrazné prodloužení zánětlivé reakce po podání lipopolysacharidu ve srovnání s kontrolními zvířaty (Delerive et al., 1999). Stimulací PPAR- $\alpha$  dochází *in vitro* k poklesu produkce VCAM-1 (indukované TNF- $\alpha$ ) endoteliálními buňkami (Marx et al., 1998a) a k potlačení tvorby podobně protrombogenně působícího PAI-1 v hepatocytech (Marx et al., 1999). Fibráty vykazují též antikoagulační účinky, a to potlačením exprese tkáňového faktoru v lidských monocytech a makrofázích (Neve et al., 2001). Stimulací exprese a aktivací antioxidantních enzymů (superoxiddismutázy, katalázy) chrání PPAR- $\alpha$  agonisté před rozvojem nadměrného oxidačního stresu (Wassmann et al., 2004). Schopnost PPAR- $\alpha$  ovlivnit pozitivně jednotlivé komponenty a symptomy metabolického syndromu (viscerální obezita, inzulínová rezistence, aterogenní dyslipidémie, zánět) může být v širší míře využita v terapii metabolického syndromu a jeho komplikací.

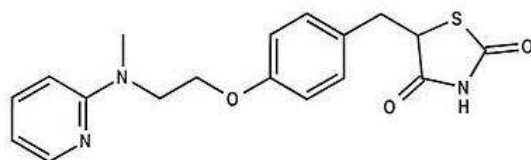
### 5.5.2. PPAR- $\gamma$ a ateroskleróza

Podobně jako PPAR- $\alpha$  jsou i PPAR- $\gamma$  exprimovány endoteliálními buňkami, hladkými buňkami cévní stěny a monocyty/makrofágy (Sato et al., 1999). V *in vitro* studiích byla popsána řada endogenních ligandů pro PPAR- $\gamma$  (např. kyselina linolenová, arachidonová a eicosapentaenová), které se však zpravidla vyskytují v plazmě v zanedbatelných koncentracích a jejich afinita k nukleárním receptorům bývá spíše nízká (Kliwer et al., 1997). Uplatnění těchto endogenních ligandů v metabolických regulacích zůstává zatím sporné. Nejvýznamnějšími exogenními ligandy pro PPAR- $\gamma$  jsou thiazolidindiony (TZDs), léky s prokázaným efektem na zvýšení inzulínové senzitivity



(Lehmann et al., 1995; Saltiel & Olefsky, 1996). V terapii diabetu je široce využíván rosiglitazon, méně potom další zástupce této skupiny, pioglitazon. Troglitazon byl stažen z distribuce pro závažné hepatotoxické účinky. Hlavním místem účinku receptoru PPAR- $\gamma$  je tuková tkáň a dále kosterní sval a játra.

Obr. 5 : Rosiglitazon – selektivní agonista PPAR- $\gamma$



### 5.5.2.1. Hlavní účinky PPAR- $\gamma$

#### Regulace glykémie

Terapie thiazolidindiony vede k poklesu glykémie nalačno, postprandiální glykémie i glykovaného hemoglobinu (HbA1c). Mechanismus vedoucí ke zlepšení kompenzace diabetu je velmi komplexní a nebyl dosud zcela detailně objasněn. Thiazolidindiony příznivě ovlivňují inzulinovou senzitivitu, a to nejen u diabetických pacientů, ale i u ostatních stavů spojených s inzulinovou rezistencí, jako je obezita či porucha glukózové tolerance (PGT) (Berkowitz et al., 1996; Nolan et al., 1994). Stimulací PPAR- $\gamma$  se zvyšuje exprese inzulinových receptorů v tukové tkáni a vzrůstá aktivita glukózového transportéru GLUT4 (Young et al., 1995), čímž se zlepšuje využití glukózy buňkami periferních tkání. Thiazolidindiony také snižují jaterní produkci glukózy a zvyšují aktivitu glykogensyntázy (Martens et al., 2002). V experimentech se zvířaty vedlo podávání rosiglitazonu prokazatelně ke snížení obsahů triglyceridů v  $\beta$ -buňkách pankreatu a tím ke zlepšení produkce inzulinu (Finegood et al., 2001). Rosiglitazon může mít také přímý vliv na  $\beta$ -buňky, ve kterých je doložena přítomnost PPAR- $\gamma$  (Dubois et al., 2000).

#### Vliv na lipidové spektrum

Dyslipidémie je významným rizikovým faktorem aterosklerózy. Thiazolidindiony přispívají k vzestupu HDL-cholesterolu, poklesu triglyceridů a volných mastných kyselin (Tan et al., 2005). Dle některých studií vede podávání rosiglitazonu k vzestupu LDL-cholesterolu (Raskin et al., 2001), zřejmě v důsledku zvýšené hydrolýzy cirkulujících lipoproteinů bohatých na triglyceridy. Tento vzestup je však způsoben nárůstem koncentrací tzv. velkých LDL-částic, které jsou méně náchylné k oxidativní modifikaci a je vyvážen

poklesem malých denzních LDL-částic, jež jsou považovány za vlastní proaterosklerotickou frakci LDL (Hirano et al., 1998; Tack et al., 1998b). V několika studiích bylo při terapii pioglitazonem dosahováno lepších výsledků v ovlivnění sérových koncentrací lipidů ve srovnání s rosiglitazonem (Boyle et al., 2002; Khan et al., 2002; LaCivita & Villarreal, 2002). Tuto skutečnost lze zřejmě vysvětlit výraznější aktivací PPAR- $\alpha$  pioglitazonem (Wurch et al., 2002).

### **Ovlivnění tělesné hmotnosti**

Nárůst tělesné hmotnosti je jedním z vedlejších účinků thiazolidindionů. Klinické i experimentální studie prokázaly, že dlouhodobá terapie thiazolidindiony vede k remodelaci tukové tkáně s převahou vzniku tzv. malých, inzulin-senzitivních adipocytů (Pickavance et al., 1998; Tafuri, 1996) a akumulaci subkutánního tuku, současně také může docházet k redukci viscerálního a intrahepatálního tuku (Kelly et al., 1999; Miyazaki et al., 2001). Ke zvýšení tělesné hmotnosti může přispívat také retence tekutin se sekundárním poklesem hemoglobinu a hematokritu (Nesto et al., 2004).

### **Regulace krevního tlaku**

Receptory PPAR- $\gamma$  hrají úlohu i v regulaci krevního tlaku. Pokles TK v důsledku terapie thiazolidindiony byl pozorován u hypertenzních (Ogihara et al., 1995; Sung et al., 1999) i normotenzních (Ghazzi et al., 1997; Sung et al., 1999) pacientů s diabetes mellitus, stejně tak jako u obézních jedinců bez diabetu (Nolan et al., 1994; Tack et al., 1998a). Mechanismus, jakým thiazolidindiony ovlivňují výši krevního tlaku, je zřejmě mnohočetný. Svoji roli může hrát snížení inzulinémie (Grinsell et al., 2000; Kotchen et al., 1996), přímý vliv thiazolidindionů na cévní stěnu (Knock et al., 1999), snížení aktivity systému renin-angiotenzin a sympatického nervového systému (Kotchen et al., 1996) či pokles hladiny endotelinu-1 (Fukunaga et al., 2001).

### **Účinky PPAR- $\gamma$ v tukové tkáni**

Tuková tkáň je hlavním místem účinku PPAR- $\gamma$ . Kromě transkripční regulace diferenciací adipocytů se PPAR- $\gamma$  uplatňují v regulaci genové exprese ve zralých adipocytech a modifikují produkci adipocytárních hormonů a zřejmě i některých cytokinů (Berg & Scherer, 2005).

Adipocyty mají základ v pluripotentních kmenových buňkách. Z tzv. primitivní mezenchymové kmenové buňky vzniká fibroblastům podobný preadipocyt, který je přímým

prekurzorem bílých i hnědých adipocytů. Opakovaně bylo prokázáno, že thiazolidindiony stimulují adipogenezi prakticky výlučně v subkutánní tkáni a nikoli ve tkáni viscerální (Montague & O'Rahilly, 2000). Aktivace PPAR- $\gamma$  vede ke stimulaci adipogeneze zvýšením exprese genů zapojených do transportu mastných kyselin a jejich ukládání v adipocytech, tedy lipoproteinové lipázy, acyl-CoA syntázy, fosfoenolpyruvát karboxykinázy a fatty acid binding protein (FABP). Exprese genů, které indukují lipolýzu a zvyšují uvolňování volných mastných kyselin do cirkulace (např. gen pro leptin či TNF- $\alpha$ ), je naopak účinkem PPAR- $\gamma$  tlumena (Haluzík, 2005). *In vitro* nedochází u kmenových buněk postrádajících obě kopie genu pro PPAR- $\gamma$  k diferenciaci v adipocyty (Fajas et al., 2001). Také experimentální studie na myších modelech s knockoutem genu pro PPAR- $\gamma$  přinesly důkazy, že PPAR- $\gamma$  hraje zásadní úlohu v procesu diferenciaci adipocytů. Při úplném chybění PPAR- $\gamma$  se rodí myši prakticky bez bílé i hnědé tukové tkáně. U těchto homozygotních jedinců je však v důsledku placentárního defektu velmi vysoká letalita již v období časně embryogeneze (Barak et al., 1999). U zvířat s mutací jedné alely genu pro PPAR- $\gamma$  bylo zaznamenáno snížení množství tukové tkáně a současně tendence ke zlepšení inzulinové senzitivity (Kubota et al., 1999; Miles et al., 2000).

Diferenciaci adipocytů stimulovaná aktivací PPAR- $\gamma$  vede k morfologickým změnám tukové tkáně ve smyslu zvýšení počtu malých adipocytů a snížení počtu velkých vyzrálých adipocytů. Velikost adipocytů významně ovlivňuje jejich metabolické funkce. Malé adipocyty, které převládají u štíhlých jedinců, vykazují větší funkční rezervu pro vychytávání volných mastných kyselin z cirkulace, čímž je omezeno jejich ektopické ukládání v jaterní a svalové tkáni. Malé adipocyty jsou ve srovnání s velkými citlivější na účinky inzulinu a také zvýšeně secernují hormony s inzulin-senzitizujícím účinkem (adiponektin), naopak v menší míře uvolňují působky zhoršující inzulinovou senzitivitu (TNF- $\alpha$ , PAI-1) (Haluzík, 2005).

#### **5.5.2.2. PPAR- $\gamma$ a vybrané sekreční produkty tukové tkáně**

##### **Adiponektin**

V několika experimentálních i klinických studiích bylo prokázáno, že aktivace PPAR- $\gamma$  vede ke zvýšení exprese genu pro adiponektin v tukové tkáni i ke zvýšení jeho sérových koncentrací (Combs et al., 2002; Ouchi et al., 2001; Yamauchi et al., 2001a). Do jaké míry se thiazolidindiony v ovlivnění procesu aterogeneze uplatňují cestou indukce adiponektinu však není zcela jasné.

## **Leptin**

Thiazolidindiony svými přímými účinky inhibují expresi leptinového genu (De Vos et al., 1996). Do regulace produkce leptinu v adipocytech však zasahují i dalšími, poměrně složitými mechanismy.

## **TNF- $\alpha$**

*In vitro* snižují thiazolidindiony expresi mRNA pro TNF- $\alpha$  v tukové tkáni (Fukuzawa et al., 1999; Peraldi et al., 1997). Dosud nejsou k dispozici klinické údaje, které by stejný efekt prokázaly i u lidí. Otázkou tak zůstává, jaký význam má tato downregulace v inzulin-senzitizujících účincích PPAR- $\gamma$  agonistů.

## **Volné mastné kyseliny**

Zvýšené hladiny volných mastných kyselin stimulují glukoneogenezi v játrech a zhoršují utilizaci glukózy ve svalové tkáni již na úrovni vstupu glukózy do buněk (Shulman, 2000). Volné mastné kyseliny mají také přímý regulační efekt na produkci lipoproteinové lipázy makrofágy v cévní stěně (Michaud & Renier, 2001). Aktivace PPAR- $\gamma$  thiazolidindiony vede ke snížení volných mastných kyselin, čímž lze částečně vysvětlit jejich inzulin-senzitizující efekt (Martin et al., 1998). Stimulace PPAR- $\gamma$  inhibuje lipolýzu v adipocytech a zvyšuje transport volných mastných kyselin do těchto buněk. Snížením inzulinové rezistence je potencován antilipolytický vliv inzulinu a tím je účinněji inhibována lipolýza v adipocytech. Terapie thiazolidindiony omezuje ektopické ukládání lipidů jejich redistribucí zpět do tukové tkáně (Haluzík, 2005).

### **5.5.2.3. PPAR- $\gamma$ , chronický zánět a endoteliální dysfunkce**

Chronický zánětlivý stav nízkého stupně hraje významnou roli v iniciaci a progresi aterosklerotického poškození kardiovaskulárního aparátu. *In vitro* snižují PPAR- $\gamma$  agonisté produkci prozánětlivých cytokinů (IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) (Ricote et al., 1999). Také klinická a experimentální data svědčí pro fakt, že mají přímý antiinflamatorní efekt (Duan et al., 2009; Hamblin et al., 2009). Aktivace PPAR- $\gamma$  thiazolidindiony vede ke snížení exprese ICAM-1, VCAM-1 a MCP-1 (Pasceri et al., 2000). Aktivace PPAR- $\gamma$  dále zvyšuje expresi eNOS a tím produkci oxidu dusnatého (Calnek et al., 2003; Goya et al., 2004) a naopak snižuje expresi endotelinu-1 (Martin-Nizard et al., 2002). Kromě úpravy metabolických parametrů (regulace glykémie, snížení volných mastných kyselin, vliv na lipidové spektrum atd.) dochází při podávání thiazolidindionů ke stimulaci reverzního transportu cholesterolu

z periferních tkání, snížení proliferace buněk hladké svaloviny cévní stěny (Hupfeld & Weiss, 2001; Chawla et al., 2001) a redukci neointimální hyperplazie (Law et al., 1996; Minamikawa et al., 1998; Takagi et al., 2000). PPAR- $\gamma$  agonisté významně omezují migraci monocytů a makrofágů do aterosklerotických lézí (Marx et al., 2001; Neve et al., 2001). Podle některých autorů dochází při stimulaci PPAR- $\gamma$  k útlumu exprese matrix metaloproteinázy 9 (Jiang et al., 1998; Marx et al., 1998b; Ricote et al., 1998). Thiazolidindiony se mohou příznivě uplatnit v ovlivnění kardiovaskulárního aparátu též prostřednictvím zmírnění protrombogenního stavu. Inhibicí exprese tkáňového faktoru a PAF (platelet activating factor) v monocytech a makrofázích (Hourton et al., 2001; Marx et al., 2001) a snížením exprese tromboxanu A<sub>2</sub> (Ikeda et al., 2000) modifikují agregaci trombocytů. Jejich působením dochází i k poklesu PAI-1 (Fonseca et al., 1998; Kruszynska et al., 2000).

#### **5.5.2.4. Vliv aktivace PPAR- $\gamma$ na funkci endotelu – výsledky klinických studií**

V klinických studiích je endoteliální dysfunkce hodnocena na základě stanovení relevantních biochemických parametrů či pomocí metod sledujících vaskulární reaktivitu. Avena et al. posuzoval ve své studii vliv podávání troglitazonu v dávce 400mg/den na vaskulární reaktivitu u pacientů s normální glykemií nalačno a patologickým oGTT a u kontrolních subjektů. Před nasazením troglitazonu byla vaskulární reaktivita u pacientů s porušenou glukózovou tolerancí oproti kontrolní skupině výrazně zhoršena. Po 4 měsících podávání troglitazonu se tato porucha zcela normalizovala (Avena et al., 1998). Zlepšení vaskulární reaktivity po 4 týdnech podávání 400mg troglitazonu u nediabetických pacientů s inzulinovou rezistencí bylo demonstrováno i ve studii Watanabeho (Watanabe et al., 2000). Tack et al. sledoval vliv podávání troglitazonu v dávce 400mg/den po dobu 8 týdnů na parametry vaskulární reaktivity u obézních pacientů s inzulinovou rezistencí a normální glykemií. Přestože tato léčba vedla k signifikantnímu zlepšení inzulinové senzitivity měřené hyperinzulinemickým-euglykémickým clampem, vaskulární reaktivita ovlivněna nebyla. V randomizované, dvojité slepé, placebem kontrolované studii Caballera et al. byl zkoumán vliv podávání troglitazonu po dobu 12 týdnů u 87 pacientů s diabetem 2. typu, rozdělených do 3 skupin. První skupinu tvořili diabetici s recentním záchytem diabetu (maximální délka trvání 3 roky) bez makrovaskulárních komplikací, druhou skupinu tvořili pacienti s delším trváním onemocnění bez makrovaskulárních komplikací, do třetí skupiny byli zařazeni pacienti s delším trváním diabetu a dokumentovaným makrovaskulárním postižením (kardiovaskulárního, cerebrovaskulárního či periferního cévního systému). Signifikantní

zlepšení vaskulární reaktivity bylo prokázáno pouze u první skupiny. U pacientů s delším trváním diabetu bez ohledu na přítomnost makrovaskulárních komplikací nebyla cévní reaktivita podáváním troglitazonu ovlivněna (Caballero et al., 2003). Ve studii Wanga byl sledován vliv podávání rosiglitazonu v dávce 4mg/den po dobu 8 týdnů u nediabetických pacientů s metabolickým syndromem (dle kritérií NCEP). Kromě zlepšení vaskulární reaktivity byl zaznamenán signifikantní pokles inzulinémie, HOMA (homeostasis model assessment) indexu, systolického a diastolického krevního tlaku a hsCRP (Wang et al., 2004). Ve studii Pistroscha et al. byl sledován vliv 3 měsíční terapie rosiglitazonem v dávce 4mg/den u pacientů s recentně diagnostikovaným diabetem. I zde vedlo podávání rosiglitazonu ke zlepšení vaskulární reaktivity (Pistrosch et al., 2004).

Jednou ze studií sledujících vliv krátkodobého podávání rosiglitazonu na funkci endotelu byla studie Hetzela (Hetzl et al., 2005). V této práci byl podáván rosiglitazon 10-ti zdravým jedincům po dobu 21 dnů. Ačkoli takto krátkodobé podávání rosiglitazonu nevedlo k signifikantně významným změnám glykémie ani lipidového spektra, došlo již v prvních dnech k významnému zvýšení vazodilatace závislé na endotelu (flow-mediated endothelium-dependent vasodilatation, EDD), které bylo současně doprovázeno poklesem biomarkerů endoteliální dysfunkce (CRP, sérového amyloidu A a E-selektinu). Ze získaných výsledků tedy vyplývá, že thiazolidindiony mohou vykazovat protektivní efekt na cévní stěnu nezávisle na jejich metabolických účincích.

#### **5.5.2.5. Vliv aktivace PPAR- $\gamma$ na riziko restenózy po koronární angioplastice – výsledky klinických studií**

Několik klinických studií se zabývalo možností terapeutického ovlivnění rizika restenózy po koronární angioplastice aktivací PPAR- $\gamma$ . Ačkoli je implantace stentu velmi efektivním způsobem léčby aterosklerotického postižení koronárního řečiště, in-stent restenóza zůstává jednou z hlavních komplikací tohoto terapeutického postupu (Schofer et al., 2000). V literatuře je uváděn výskyt restenózy po implantaci stentu u nediabetických pacientů ve 20-40% po 6 měsících (Betriu et al., 1999; Fischman et al., 1994; Mudra et al., 2001), u pacientů s diabetem dokonce 32–66% (Moses et al., 2002; Schofer et al., 2000). První publikovanou prací zabývající se tímto tématem byla studie Takagiho z roku 2002. Do studie bylo zařazeno 157 pacientů s DM 2. typu, sledován byl vliv podávání troglitazonu na riziko restenózy a tloušťku intimy po koronární angioplastice. U obou parametrů vedlo podávání troglitazonu k signifikantnímu zlepšení (Takagi et al., 2002). Podobný vliv na neointimální proliferaci mělo v další studii u pacientů s DM 2. typu po angioplastice

podávání pioglitazonu (Takagi et al., 2003). V jiné prospektivní randomizované studii vedla terapie rosiglitazonem po dobu 6 měsíců k signifikantnímu poklesu frekvence in-stent restenózy (Choi et al., 2004). Naproti tomu v randomizované, dvojitě slepé, placebem kontrolované studii Osmana (Osman et al., 2004) nebyl tento příznivý efekt podávání rosiglitazonu prokázán, ačkoli bylo dosaženo zlepšení kompenzace diabetu.

#### **5.5.2.6. Potenciální proaterogenní vlivy PPAR- $\gamma$**

Určité rozpaky vyvolaly výsledky *in vitro* studií, ve kterých vedla aktivace PPAR- $\gamma$  ke zvýšení exprese CD36 z rodiny scavengerových receptorů v makrofázích, což by mohlo znamenat zvýšení proaterogenního potenciálu takto aktivovaných makrofágů (Ricote et al., 2000). CD36 slouží jako transportér pro řadu ligandů, jako jsou například volné mastné kyseliny s dlouhým řetězcem či oxidované LDL částice (Abumrad et al., 1998). Všeobecně však panuje názor, že antiaterogenní vlivy thiazolidindionů převládají.

## **6. METODIKA STUDIÍ**

Vyšetření byla prováděna na III. interní klinice VFN ve spolupráci s Ústavem klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a Psychiatrickou klinikou VFN.

### **6.1. Hodnocení antropometrických, biochemických a hormonálních parametrů**

U všech vyšetřovaných subjektů byla změřena výška, tělesná hmotnost a vypočítán BMI. Odběry krevních vzorků byly provedeny za standardních podmínek po celonočním lačnění mezi 7 a 8 hodinou ranní. Základní biochemické parametry (lipoproteinové spektrum, glykémie, glykovaný hemoglobin) byly stanoveny standardními laboratorními metodami. Sérové koncentrace inzulinu byly měřeny komerčními RIA kity (Cis Bio International, Francie). HOMA (homeostasis model assessment) index byl vypočítán pomocí vzorce: sérová koncentrace inzulinu nalačno (mIU/ml) x glykémie nalačno (mmol/l)/22,5. Sérové koncentrace adiponektinu a hsCRP byly měřeny komerčními RIA kity (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA). Sérové koncentrace leptinu, solubilního leptinového receptoru a rezistinu byly měřeny komerčními ELISA kity (BioVendor, Česká republika). Sérové koncentrace interleukinu-6, E-selektinu, sVCAM-1, sICAM-1, MMP-9, MPO a PAI-1 byly měřeny komerčními LINCOPlex kity (Linco Research, St Charles, USA).

### **6.2. Biopsie tukové tkáně**

Biopsie subkutánní tukové tkáně byla prováděna u pacientek s mentální anorexií a u zdravých žen současně s krevními odběry v ranních hodinách po 10-12 hodinovém lačnění. Vzorky podkožní tukové tkáně byly odebírány z oblasti břišní stěny cca 10-15 cm laterálně od pupku. Po zarouškování a dezinfekci místa odběru bylo provedeno lokální znecitlivění 10 ml 1% Mesocainu. Skalpelem byl proveden krátký řez (3-4 mm), kterým byla paralelně s břišní stěnou zavedena plastová kanyla s kovovým zavaděčem (Braunüle MT, 12G, délka 80 mm). Po opatrném rozrušení podkožní tukové tkáně byl odstraněn kovový zavaděč. Na kanylu byla připojena 20 ml stříkačka a poté pomocí vytvořeného podtlaku odebráno požadované množství tukové tkáně (200-1000 mg). Vzorky tukové tkáně byly rozděleny do zkumavek eppendorf (1,5 ml) s 1 ml RNA lateru, okamžitě zmrazeny na -80 °C a uloženy před dalším zpracováním.



### **6.3. Hodnocení exprese mRNA vybraných adipokinů v tukové tkáni**

#### **Homogenizace a izolace RNA**

Vzorek tukové tkáně byl před vlastní izolací homogenizován. K homogenizaci byl používán automatický homogenizátor MagNA Lyser (Roche Diagnostics GmbH, Německo). Po homogenizaci byla RNA extrahována MagNA Pure Compact RNA Isolation Kitem (Tissue) (Roche Diagnostics GmbH, Německo). Do doby další analýzy byly vzorky skladovány při -80 °C.

#### **Elektroforéza a spektrofotometrie**

Integrita RNA a její případné kontaminace DNA byly kontrolovány elektroforeticky na 1% agarozovém gelu s ethidium bromidem (1%). Koncentrace RNA byla stanovena spektrofotometrickým měřením absorbance při 260 nm (BioPhotometr Eppendorf AG, Německo). (Optická hustota  $A_{260}=1$  odpovídá 40  $\mu\text{g}$  RNA/ml). Poměr  $R_{260\text{ nm}/280\text{ nm}}$  byl použit k posouzení čistoty vzorků.

#### **Reverzní transkripce (RT)**

Pro přípravu cDNA bylo použito 0,1 - 1  $\mu\text{g}$  RNA. Syntéza byla provedena soupravou RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas Life Sciences, Lithuania) s oligo(dT)<sub>18</sub> primery podle protokolu doporučeného výrobcem. Vzorky cDNA byly naředěny vodou na koncentraci 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$  a skladovány při -20°C.

#### **RT-PCR**

Validace postupu izolace celkové RNA z tukové tkáně byla provedena stanovením míry genové exprese metodou RT-PCR v systému se specifickou hydrolyzační sondou. RT-PCR s hydrolyzační sondou TaqMan® Gene Expression Assay byla provedena na přístroji ABI 7500 (Applied Biosystems, USA). V reakční směsi byla cDNA (1  $\mu\text{g}$ ), TaqMan® Universal Master Mix, No AmpErase® UNG (12,5  $\mu\text{l}$ ) a hydrolyzační sonda TaqMan® (1,25  $\mu\text{l}$ ). Celkový objem reakční směsi byl 25  $\mu\text{l}$ . Podmínky reakce byly následující: po iniciační denaturaci při 95°C, 10 minut následovalo 40 cyklů, kde anaeling probíhal při 60°C, 1 minutu a hydrolyza při 95°C 15 sekund. Data byla vyjádřena jako prahové hodnoty (Ct), tzn. jako změna fluorescence v reálném čase. Pro každý vzorek byl stanovován také beta-2-mikroglobulin jako endogenní kontrola. Použitím této kontroly byl kompenzován různý vstupní objem RNA do reakční směsi a účinnost reakce. Relativní genová exprese

sledovaných genů byla vypočítána podle vzorce:  $2^{-\Delta\Delta (CT \text{ cytokinu} - CT \text{ B2M})}$  (viz User bulletin #2, ABI Prism 7700 Sequence Detection System, Applied Biosystems).

#### **6.4. Statistická analýza dat**

Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí programu SigmaStat (Jandel Scientific, USA). Jednotlivé parametry byly vyjádřeny jako průměr  $\pm$  SEM. Za statisticky významné byly považovány rozdíly a korelace, kde p bylo menší než 0,05.

K porovnání výsledků u diabetických pacientů před a po léčbě rosiglitazonem byl použit párový t-test. Vzájemné srovnání dat diabetických pacientů a kontrolních subjektů bylo provedeno pomocí jednocestné analýzy variance (One-Way- ANOVA). Závislost mezi adipocytárními hormony a markery endoteliální dysfunkce byla hodnocena Spearmanovým korelačním testem.

Změny hladin adipocytárních hormonů a jejich genové exprese u pacientek s mentální anorexií a zdravých kontrol byly hodnoceny nepárovým t-testem či neparametrickým Wilcoxonovým (Mann Whitney) rank sum testem.

## 7. VLASTNÍ VÝSLEDKY

### 7.1. Vliv terapie PPAR- $\gamma$ agonisty na markery endoteliální dysfunkce u pacientů s DM 2. typu

**Cíl práce:** Thiazolidindiony využívané jako inzulinové senzitizery vykazují též významné antiaterogenní a protizánětlivé účinky a hrají tak významnou úlohu v ovlivnění procesu aterogeneze. Cílem studie bylo popsat efekt 5měsíční terapie PPAR- $\gamma$  agonisty (rosiglitazon v dávce 4mg/den) na vybrané metabolické parametry a markery endoteliální dysfunkce u pacientů s DM 2. typu a posoudit úlohu změn endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu.

**Metodika:** Do studie bylo zařazeno deset pacientek s DM 2. typu (doba trvání  $6,3 \pm 1,8$  let) léčených dlouhodobě metforminem v monoterapii a deset zdravých žen odpovídajícího věku. Biochemické a metabolické parametry, cirkulující adiponektin, rezistin, ICAM-1, VCAM-1, E-selektin, PAI-1, myeloperoxidáza (MPO) a matrix metaloproteináza-9 (MMP-9) byly stanoveny u pacientek s DM 2. typu na začátku studie a po ukončení léčby rosiglitazonem a jednorázově u kontrolní skupiny zdravých žen. Biochemické parametry byly stanoveny běžnými laboratorními metodami, sérové koncentrace vybraných cytokinů a adipocytárních hormonů adiponektinu a rezistinu byly měřeny pomocí Lincoplex a ELISA kitů.

**Výsledky:** U skupiny pacientek s DM jsme ve srovnání se zdravými kontrolami pozorovali signifikantně vyšší BMI ( $29,9 \pm 1,2$  vs.  $25,0 \pm 1,1$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,05$ ) a signifikantně vyšší sérové koncentrace glukózy, glykovaného hemoglobinu (HbA1c), VCAM-1 a PAI-1 (glukóza:  $8,9 \pm 0,6$  vs.  $4,7 \pm 0,3$  mmol/l,  $p < 0,001$ , HbA1c:  $5,4 \pm 0,2$  vs.  $4,0 \pm 0,1$  %,  $p < 0,001$ , VCAM-1:  $1501,6 \pm 73,2$  vs.  $1287,3 \pm 61$  ng/ml,  $p < 0,05$ , PAI-1:  $46,4 \pm 5,1$  vs.  $28,6 \pm 2,1$  ng/ml,  $p < 0,05$ ). Obdobný trend byl pozorován u sérových koncentrací MMP-9, ICAM-1 a E-selektinu, výsledky však nedosáhly statistické významnosti. Nebyly nalezeny významné rozdíly v hladinách MPO mezi oběma skupinami. Sérové koncentrace adiponektinu byly mírně nižší ve skupině pacientek s DM, rozdíl však nedosáhl statistické významnosti. Koncentrace rezistinu byly v obou skupinách srovnatelné. Terapie rosiglitazonem vedla k signifikantnímu poklesu glykémie ( $8,9 \pm 0,6$  vs.  $7,2 \pm 0,4$  mmol/l,  $p < 0,05$ ), stejně tak byl patrný pokles HbA1c, výsledek však nedosáhl statistické významnosti. Dále došlo ke snížení plazmatických koncentrací VCAM-1, PAI-1 a E-selektinu (VCAM-1:  $1501,6 \pm 73,2$  vs.  $1244,2 \pm 110,1$  ng/ml,  $p < 0,05$ , PAI-1:  $46,4 \pm 5,1$  vs.

36,6 ± 3,9 ng/ml, p<0,05, E-selektin: 26,2 ± 4,4 vs. 21 ± 3,3 ng/ml, p<0,05) a vzestupu koncentrací adiponektinu (15,5 ± 1,9 vs. 35,5 ± 6,4 µg/ml, p<0,05), zatímco hladiny rezistinu nebyly terapií rosiglitazonem ovlivněny. Bazálně korelovaly koncentrace adiponektinu negativně s koncentracemi E-selektinu (r = -0,709, p<0,05) a MPO (r = -0,648, p<0,05), po léčbě již tento trend nebyl patrný.

**Závěr:** Z dosažených výsledků vyplývá, že 5-ti měsíční terapie rosiglitazonem vedla k významnému poklesu některých markerů endoteliální dysfunkce. Tento efekt může být patrně do určité míry důsledkem vzestupu koncentrací cirkulujícího adiponektinu.

Výsledky této práce byly publikovány v časopisu *Physiological Research*, článek v původní otištěné verzi přiložen v příloze této dizertační práce.

## 7.2. Změny endokrinní funkce tukové tkáně u pacientek s mentální anorexií: srovnání koncentrací cirkulujících adipokinů a jejich exprese v subkutánní tukové tkáni

**Cíl práce:** Hormony produkované tukovou tkání vykazují systémové i parakrinní účinky. Významná část adipokinů nemusí být uvolňována do systémové cirkulace a působí tak převážně lokálně v tukové tkáni. Z tohoto důvodu se mohou značně lišit koncentrace těchto hormonů v séru a v tukové tkáni a lokální vzestup hladin adipokinů může ovlivňovat metabolismus tukové tkáně, aniž by se odrazil ve změnách jejich cirkulujících koncentrací. Cílem naší práce bylo popsat vliv chronické malnutrice u pacientek s mentální anorexií na endokrinní funkci tukové tkáně srovnáním koncentrací vybraných cirkulujících adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni.

**Metodika:** Do studie bylo zařazeno dvanáct pacientek s mentální anorexií (BMI  $16,37 \pm 0,41 \text{ kg/m}^2$ ) a osmnáct zdravých žen (BMI  $22,96 \pm 0,67 \text{ kg/m}^2$ ), u kterých bylo provedeno fyzikální, antropometrické a laboratorní vyšetření a odběr subkutánní tukové tkáně pomocí jehlové biopsie z oblasti břicha. Sérové koncentrace hsCRP, leptinu, solubilního leptinového receptoru, adiponektinu, rezistinu, interleukinu-6 (IL-6) a inzulinu byly měřeny pomocí komerčních kitů (Lincoplex, ELISA, RIA kity). Expese mRNA těchto adipokinů, adiponektinového receptoru 1 a 2 a transmembránového glykoproteinu CD68 v subkutánní tukové tkáni byly stanoveny pomocí RT-PCR, data byla normalizována k  $\beta$ -2-mikroglobulinu. Biochemické parametry byly stanoveny běžnými laboratorními metodami, HOMA index byl kalkulován z bazální glykémie a inzulinémie.

**Výsledky:** Snížený obsah tukové tkáně u pacientek s MA byl doprovázen snížením sérových koncentrací hsCRP a leptinu (hsCRP:  $1,01 \pm 0,60$  vs.  $2,86 \pm 0,65 \text{ mg/l}$ ,  $p < 0,001$ , leptin  $1,94 \pm 0,57$  vs.  $12,1 \pm 1,77 \text{ ng/ml}$ ,  $p < 0,05$ ) a zvýšením koncentrací adiponektinu a solubilního leptinového receptoru (adiponektin:  $38,23 \pm 5,32$  vs.  $24,94 \pm 2,92 \text{ ug/ml}$ ,  $p < 0,05$ , solubilní leptinový receptor:  $39,32 \pm 2,63$  vs.  $29,74 \pm 2,0 \text{ IU/ml}$ ,  $p < 0,05$ ). Nebyl prokázán významný rozdíl sérových koncentrací rezistinu, IL-6 a inzulinu mezi oběma skupinami. U pacientek s MA byla ve srovnání s kontrolami snižená expese mRNA v tukové tkáni pro adiponektin, leptin, IL-6 a CD68 (adiponektin:  $0,161 \pm 0,0344$  vs.  $0,405 \pm 0,0484$ ,  $p < 0,05$ , leptin:  $8,21 \cdot 10^{-3} \pm 2,97 \cdot 10^{-3}$  vs.  $52,2 \cdot 10^{-3} \pm 8,21 \cdot 10^{-3}$ ,  $p < 0,05$ , IL-6:  $0,91 \cdot 10^{-5} \pm 0,419 \cdot 10^{-5}$  vs.  $5,38 \cdot 10^{-5} \pm 2,3 \cdot 10^{-5}$ ,  $p < 0,05$ , CD68:  $2,41 \cdot 10^{-2} \pm 0,266 \cdot 10^{-2}$  vs.  $8,56 \cdot 10^{-2} \pm 1,4 \cdot 10^{-2}$ ,  $p < 0,05$ ), zatímco expese mRNA pro rezistin byla zvýšená ( $9,22 \cdot 10^{-4} \pm$

$2,4 \cdot 10^{-4}$  vs.  $1,83 \cdot 10^{-4} \pm 0,581 \cdot 10^{-4}$ ,  $p < 0,05$ ). Rozdíly v expresi mRNA pro adiponektinový receptor 1 a 2 nedosáhly statistické významnosti.

**Závěr:** Změny adipocytární exprese mRNA pro adiponektin, rezistin a IL-6 se u patientek s MA neodrazilo ve změnách sérových koncentrací těchto adipokinů. Lze předpokládat, že rozdíly v lokální produkci adiponektinu a rezistinu se mohou podílet na některých metabolických odchylkách u patientek s mentální anorexií.

Výsledky této práce byly publikovány v časopisu *Clinical Endocrinology*, článek v původní otištěné verzi přiložen v příloze této dizertační práce.

## 8. DISKUZE

Metabolický syndrom představuje pro své nositele výrazné zvýšení rizika akcelerace aterosklerózy a tím i kardiovaskulární morbidity a mortality (Haffner et al., 1998; Howard et al., 1996). Endoteliální dysfunkce je považována za časnou, morfologicky němou fázi aterosklerózy. Společně s dalšími funkčními změnami, jako je zvýšená rigidita cévní stěny či abnormální reakce na vazodilatační podněty, předchází rozvoji detekovatelných morfologických změn cévní stěny. Z výsledků řady studií je zřejmé, že v patogenezi metabolického syndromu i aterosklerózy může hrát významnou roli porušená endokrinní a metabolická funkce tukové tkáně, charakterizovaná aktivací tvorby prozánětlivých a inzulinovou rezistencí navozujících signálů v tukové tkáni (Haluzík & Haluzíková, 2006; Haluzík et al., 2004; Ravussin & Smith, 2002). Agonisté PPAR- $\gamma$  receptorů – thiazolidindiony zlepšují v experimentálních i klinických studiích inzulinovou senzitivitu a kompenzaci diabetu (Nolan et al., 1994; Saltiel & Olefsky, 1996). U zvířecích modelů aterosklerózy (LDL receptor deficientní a apolipoprotein E knock-out myši) došlo po podání PPAR- $\gamma$  agonistů ke zpomalení procesu aterosklerózy nezávisle na změnách glykémie a koncentrace plazmatických lipidů (Chen et al., 2001; Li et al., 2000). V klinických studiích byl prokázán pozitivní vliv PPAR- $\gamma$  agonistů na lipidové spektrum, cirkulující zánětlivé a koagulační markery i na funkci endotelu (Goldberg et al., 2005; Haffner et al., 2002; Miyazaki et al., 2004; Szapary et al., 2006). Thiazolidindiony současně reprezentují skupinu léků, které prokazatelně svými účinky příznivě ovlivňují endokrinní funkci tukové tkáně (Combs et al., 2002; Olefsky, 2000).

V naší práci vedlo 5měsíční podávání PPAR- $\gamma$  agonisty rosiglitazonu u pacientů s DM 2. typu nejen ke zlepšení kompenzace diabetu, ale i k signifikantnímu poklesu cirkulujících hladin sVCAM-1, PAI-1 a E-selektinu, což svědčí pro zlepšení endoteliální dysfunkce. Toto zjištění je ve shodě se závěry některých dříve publikovaných studií (Caballero et al., 2003; Esposito et al., 2006), ačkoli jiné práce tuto skutečnost nepotvrdily (Buras et al., 2005). Obdobný trend byl pozorován i u hladin MMP-9, proteolytického enzymu účastnícího se remodelace cévní stěny, jehož působením dochází též k ruptuře aterosklerotického plátu (Dandona et al., 2003), výsledky však nedosáhly statistické signifikance. Jistě existuje několik různých mechanismů, jakými lze vysvětlit pozitivní vliv thiazolidindionů na funkci endotelu. Chronická hyperglykémie vykazuje řadu nežádoucích metabolických efektů a přímo potencuje rozvoj časných aterosklerotických změn. Proto samotné zlepšení kompenzace diabetu nejspíše významně přispívá ke zlepšení endoteliální

funkce. Jak již bylo zmíněno výše, výzkum porušené endokrinní funkce tukové tkáně stojí v současné době v centru zájmu při hledání patofyziologických mechanismů společně se uplatňujících při rozvoji metabolického syndromu, inzulinové rezistence a aterosklerózy. Adiponektin je hormonem vykazujícím inzulin-senzitizující (Berg et al., 2002), antiinflatorní i antisklerotické účinky (Ouchi et al., 2003a). V experimentálních studiích vedlo jeho podání u adiponektin deficientních myší ke zlepšení endoteliální dysfunkce a zpomalení procesu aterosklerózy (Cao et al., 2009; Kubota et al., 2002). Z výsledků klinických studií je zřejmé, že nízké sérové koncentrace adiponektinu jsou v těsné souvislosti s progresí aterosklerotických změn (Kumada et al., 2003; Shimada et al., 2004). Ve shodě s dalšími publikovanými daty (Bahia et al., 2007; Hoo et al., 2007; Majuri et al., 2007) došlo i v naší studii vlivem několikaměsíční terapie rosiglitazonem k vzestupu sérových koncentrací adiponektinu. Tyto výsledky tedy podporují předpoklad, že příznivý efekt aktivace PPAR- $\gamma$  receptorů na funkci endotelu a proces aterogeneze může být alespoň zčásti zprostředkován stimulací produkce adiponektinu v tukové tkáni.

Dalším adipokinem zkoumaným v naší práci byl rezistin. Závěry dosud publikovaných studií hodnotících úlohu tohoto hormonu v patogenezi obezitou indukované inzulinové rezistence a DM 2. jsou značně nejednotné. Výrazná diskrepance se objevuje zejména mezi výsledky experimentálních a klinických studií. V prvních studiích byly u experimentálních modelů obezity a inzulinové rezistence zaznamenány zvýšené cirkulující hladiny rezistinu. Terapie thiazolidindiony vedla k poklesu jeho sérových koncentrací i genové exprese v tukové tkáni. Neutralizace rezistinu specifickými protilátkami zlepšila inzulinovou senzitivitu u inzulin rezistentních obézních myší. Naopak podání rekombinantního rezistinu štíhlým kontrolním jedincům zhoršilo jejich glukózovou toleranci a vyvolalo inzulinovou rezistenci (Steppan et al., 2001a). Na základě těchto nálezů byla vyslovena hypotéza, že rezistin může být důležitým spojovacím článkem mezi obezitou, inzulinovou rezistencí a DM 2. typu. Pozdější experimentální ani klinické studie však tuto hypotézu zcela nepotvrdily. Nicméně výsledky řady klinických studií naznačují, že zvýšené sérové koncentrace rezistinu potencují riziko aterosklerózy (Kawanami et al., 2004; Pischon et al., 2005). Na základě výsledků několika dalších studií lze soudit, že hlavní úloha rezistinu v lidském organismu spočívá v regulaci systémové zánětlivé odpovědi (Gerber et al., 2005; Křemen et al., 2006; Lehrke et al., 2004; Savage et al., 2001). V recentní studii Fargnoliho et al. byl rezistin pozitivně asociován s markery zánětu (TNF-alfaRII a IL-6), nikoli však s biomarkery endoteliální dysfunkce, glykemií, inzulinémií a markery inzulinové sekrece (Fargnoli et al., 2009). Byla prokázána asociace rezistinu



s koronární nemocí (Reilly et al., 2005), revmatoidní artritidou (Bokarewa et al., 2005) a aktivitou nespecifických střevních zánětů (Konrad et al., 2007). Rezistin lze zřejmě též považovat za marker závažnosti klinického stavu u těžké sepse a septického šoku (Sunden-Cullberg et al., 2007). V naší práci jsme nezjistili signifikantní rozdíly v sérových koncentracích rezistinu u pacientů s DM 2. typu a kontrolní skupiny. Přes svůj příznivý efekt na kompenzaci diabetu neovlivnila terapie rosiglitazonem sérové koncentrace tohoto hormonu. Naše výsledky tedy nepodporují hypotézu, že rezistin je přímým spojovacím článkem mezi obezitou, inzulinovou rezistencí a aterosklerózou. Nicméně nelze zcela vyloučit, že podávání rosiglitazonu vedlo k alteraci lokální exprese a sekrece rezistinu v tukové tkáni, aniž by došlo ke změně jeho sérových koncentrací.

Z výsledků naší studie je tedy zřejmé, že aktivace PPAR- $\gamma$  receptorů v kombinaci se vzestupem hladin adiponektinu ovlivnila příznivě kompenzaci diabetu a současně i produkci markerů endoteliální dysfunkce.

Rozsáhlou diskuzi vyvolaly výsledky Nissenovy metaanalýzy 42 klinických studií zveřejněné v roce 2007 v časopisu *The New England Journal of Medicine*, které ukázaly na zvýšený výskyt infarktu myokardu a úmrtí z kardiovaskulárních příčin (zde s hraniční signifikancí) u pacientů léčených rosiglitazonem (Nissen & Wolski, 2007). Po zveřejnění těchto výsledků byla v průběhu roku 2007 publikována data z předběžné analýzy studie RECORD (Rosiglitazon Evaluated for Cardiac Outcomes and Regulation of Glycemia in Diabetes) (Home et al., 2007). Tato multicentrická randomizovaná studie byla designována speciálně na sledování kardiovaskulární bezpečnosti léčby rosiglitazonem v kombinaci se sulfonylureou nebo metforminem. Průběžné ani později zveřejněné finální výsledky této analýzy nepotvrdily zvýšení rizika kardiovaskulárních příhod v důsledku terapie rosiglitazonem. Prokázaly pouze zvýšené riziko srdečního selhání v důsledku retence tekutin a také zvýšené riziko fraktur některých kostí u žen (Home et al., 2009). Při dodržování indikačních kritérií tedy pravděpodobně převažuje přínos léčby thiazolidindiony nad jejími riziky. Tato skupina léků má tak jistě své místo v moderní terapii diabetu.

Tělesná hmotnost a procento tělesného tuku významně ovlivňují endokrinní funkci tukové tkáně. Druhým cílem naší práce bylo posouzení vlivu chronické malnutrice na endokrinní funkci tukové tkáně u pacientek s mentální anorexií. Hodnotili jsme vztah mezi antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry, současně jsme porovnávali koncentrace vybraných cirkulujících adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni.

HOMA index a sérové koncentrace inzulinu a triglyceridů byly mírně snižené ve skupině pacientek s MA, rozdíl však nedosáhl statistické významnosti. Nebyly nalezeny významné rozdíly v hladinách glukózy a cholesterolu mezi oběma skupinami.

Ve shodě s dříve publikovanými daty (Delporte et al., 2003; Housová et al., 2005) jsme u pacientek s MA prokázali zvýšené sérové koncentrace adiponektinu ve srovnání s kontrolní skupinou. Naproti tomu exprese mRNA pro adiponektin v subkutánní tukové tkáni byla u pacientek s MA snižena. Jedním z možných vysvětlení tohoto nesouladu mezi sérovými koncentracemi adiponektinu a expresí jeho mRNA v subkutánní tukové tkáni je zvýšená produkce adiponektinu v jiných lokalizacích, například ve viscerální tukové tkáni či ve svalu. Produkce adiponektinu byla původně připisována výhradně adipocytům (Maeda et al., 1996; Scherer et al., 1995). Výsledky pozdějších experimentálních studií na myších modelech však svědčí pro možnou tvorbu adiponektinu ve svalové tkáni (Delaigle et al., 2004; Haluzík et al., 2006). V jedné z našich prací zvyšovala chronická kalorická restrikce u myši prokazatelně expresi adiponektinu ve svalu (Haluzíková et al., nepublikovaná data). V jiné studii provedené na kuřecím modelu byla zjištěna produkce adiponektinu kromě tukové a svalové tkáně též v játrech, adenohypofýze, diencefalu, ledvinách a ováriích (Maddineni et al., 2005). Punyadeera et al. ve své studii prokázala imunohistochemickými metodami expresi adiponektinu i v lidském kosterním svalu (Punyadeera et al., 2005). Mechanismus, jakým dochází ke zvýšení produkce adiponektinu u MA, nebyl dosud zcela objasněn. Někteří autoři zvažují možnost existence negativní zpětné vazby mezi tukovou tkání a expresí adiponektinu (Delporte et al., 2003). Tuková tkáň by mohla být místem syntézy faktoru s destabilizujícími účinky na adiponektinovou mRNA (Halleux et al., 2001). Nicméně například ve studii Bosity-Westphal nebyl vzestup hmotnosti u pacientek s MA doprovázen změnami v koncentracích adiponektinu (Bosity-Westphal et al., 2005). V několika experimentálních i klinických studiích byl popsán těsný vztah mezi sníženou hladinou adiponektinu a poklesem inzulinové senzitivity u obézních jedinců (Hotta et al., 2000; Weyer et al., 2001a). Studie zaměřené na hodnocení inzulinové senzitivity u pacientů s MA však přinášejí značně protichůdné výsledky. Ve studiích využívajících hyperinzulinemického-euglykémického clampu byla inzulinová senzitivita u pacientek s MA srovnatelná (Castillo et al., 1985) či dokonce nižší než u kontrolní skupiny (Pannacciulli et al., 2003). Jiné studie, ve kterých byla inzulinová senzitivita hodnocena pomocí minimálního modelu či HOMA indexu naopak prokázaly zvýšení inzulinové senzitivity u pacientek s MA (Delporte et al., 2003; Dostálová et al., 2007; Fukushima et al., 1993; Housová et al., 2005; Misra et al., 2004). Tuto tendenci naznačují i výsledky naší

práce, rozdíly však nedosáhly statistické významnosti. V experimentálních studiích byl opakovaně demonstrován inzulin-senzitizující efekt adiponektinu (Berg et al., 2001; Yamauchi et al., 2001b). Z výše uvedeného je patrná souvislost mezi adiponektiněmi a inzulinovou senzitivitou. Nicméně zda je zvýšená inzulinová senzitivita kauzativním faktorem pro rozvoj hyperadiponektinémie u MA či spíše jejím důsledkem nelze s určitostí zodpovědět. V regulaci sekrece adiponektinu se zřejmě uplatňuje i sympatoadrenální systém. Bylo prokázáno, že  $\beta$ -adrenergní stimulací je významně suprimována exprese genu pro adiponektin (Delporte et al., 2002; Fasshauer et al., 2001). Snížená aktivita sympatoadrenálního systému u MA se tak může uplatňovat při vzestupu jeho sérových koncentrací. Určitý podíl na rozvoji hyperadiponektinémie u nemocných s MA mohou mít též změny clearance adiponektinu.

Další zajímavé výsledky přineslo srovnání hladin cirkulujícího rezistinu a exprese mRNA pro rezistin v subkutánní tukové tkáni. V některých klinických studiích byly popsány zvýšené sérové koncentrace rezistinu u obézních subjektů ve srovnání se štíhlými kontrolami (Degawa-Yamauchi et al., 2003; Schaffler et al., 2004; Vendrell et al., 2004) a signifikantní pokles jeho hladin po mírné redukci hmotnosti (Valsamakis et al., 2004) či po provedení gastrického bypassu (Vendrell et al., 2004). Nicméně v řadě jiných studií nebyla prokázána asociace mezi koncentrací rezistinu a BMI či inzulinovou rezistencí (Anderlová et al., 2006; Lee et al., 2003; Utzschneider et al., 2005). Podobně ve studii Housové et al. nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v sérových koncentracích rezistinu mezi skupinou pacientek s mentální anorexií a zdravými kontrolami (Housová et al., 2005). V naší studii jsme nezjistili signifikantní rozdíly v sérových koncentracích rezistinu u obou sledovaných skupin, ačkoli významně nižší hodnoty hsCRP ve skupině pacientek s mentální anorexií svědčily pro útlum systémové zánětlivé reakce organismu. Exprese mRNA pro rezistin v subkutánní tukové tkáni byla zvýšená oproti kontrolní skupině. Toto zjištění je v souladu s výsledky další studie, ve které byly stanovovány koncentrace rezistinu v intersticiální tekutině subkutánní tukové tkáně pomocí mikrodialyzační techniky (Dostálová et al., 2006). Naproti tomu exprese dalšího z prozánětlivých faktorů IL-6 v subkutánní tukové tkáni byla ve skupině pacientek s MA signifikantně nižší, přestože se jeho plazmatické koncentrace v obou skupinách nelišily. Je možné, že tuto skutečnost lze alespoň částečně vysvětlit zvýšenou produkcí IL-6 v jiných lokalizacích. Na celkové koncentraci IL-6 v plazmě se za bazálních podmínek podílí produkce v tukové tkáni cca 15-35% (Mohamed-Ali et al., 1997). Bylo prokázáno, že během fyzické zátěže významně narůstá exprese IL-6 ve svalové tkáni. Tento vzestup je akcentován poklesem zásob svalového glykogenu pod určitou

hranici. Následné zvýšení plazmatické koncentrace IL-6 může být signálem pro vzestup jaterní produkce glukózy, což napomáhá k udržení glukózové homeostázy (Keller et al., 2001; Steensberg et al., 2000). Nelze vyloučit, že u pacientek s MA, u kterých jsou nacházeny nízké zásoby glykogenu, dochází obdobným mechanismem k nárůstu exprese svalové mRNA pro IL-6.

Jak bylo uvedeno výše, tuková tkáň je tvořena rozličnými typy buněčných populací. Nakolik se na sekreci jednotlivých prozánětlivých cytokinů podílejí samotné adipocyty a nakolik stromální/vaskulární frakce a imunokompetentní buňky tukové tkáně zůstává předmětem zkoumání. Akumulace makrofágů v tukové tkáni narůstá proporcionálně k BMI a adipocytární hypertrofii (Cancello et al., 2005; Curat et al., 2004; Weisberg et al., 2003). V souladu s těmito údaji jsme v naší studii zaznamenali ve skupině pacientek s MA sníženou expresi mRNA glykoproteinu CD68, markeru mononukleární fagocytární linie, což svědčí pro nízký stupeň infiltrace tukové tkáně makrofágy. Lze tedy soudit, že rezistin je u těchto pacientek produkován ve větší míře samotnými adipocyty spíše než imunokompetentními buňkami. Je možné, že právě malnutrice je pro adipocyty určitým „stresujícím“ faktorem vyvolávajícím zvýšenou produkci rezistinu.

Závěrem lze shrnout, že změny adipocytární exprese mRNA pro adiponektin, rezistin a IL-6 se u pacientek s MA neodrazily v sérových koncentracích těchto adipokinů. Uplatnění těchto změn na systémové úrovni je jistě ovlivněno sníženým procentem tělesného tuku. Předpokládáme, že se rozdíl v lokální produkci adiponektinu a rezistinu mohou podílet na některých metabolických odchylkách u pacientek s MA.

## 9. ZÁVĚR

Obezita je jedním z hlavních rizikových faktorů pro rozvoj diabetu 2. typu, arteriální hypertenze a progresi aterosklerózy. Je doprovázena chronickým zánětlivým stavem tukové tkáně. Tuková tkáň je v současné době považována za aktivní sekreční a imunitní orgán. Zvýšením jejího objemu v důsledku dlouhodobé pozitivní energetické bilance dochází k nárůstu produkce adipokinů s prozánětlivým účinkem. Tyto hormony a cytokiny produkované adipocyty i makrofágy působí lokálně v tukové tkáni a současně vykazují systémové účinky. Mohou se tak různou měrou podílet na vzniku patofyziologických změn charakterizujících metabolický syndrom a vedoucích k rozvoji endoteliální dysfunkce a progresi aterosklerózy. Naopak nevelké množství tukové tkáně u štíhlých jedinců či výrazné snížení jejího objemu u obézních pacientů po redukci hmotnosti je spojeno s nárůstem produkce faktorů s příznivými metabolickými účinky a poklesem produkce prozánětlivých a inulinovou rezistenci indukujících faktorů.

Endoteliální dysfunkce a zánět jsou důležitými markery aterogenního procesu a zhoršené prognózy u pacientů s metabolickým syndromem a diabetem 2. typu. Detekce endoteliální dysfunkce je užitečným nástrojem pro výzkum mechanismů aterosklerózy, screening z hlediska budoucího kardiovaskulárního rizika a sledování odpovědi na terapeutické zásahy. V současné době je značná pozornost věnována úloze PPAR- $\gamma$  agonistů – thiazolidindionů v ovlivnění endoteliální dysfunkce a snížení kardiovaskulární morbidity a mortality. Thiazolidindiony regulují expresi genů hrajících klíčovou roli v glukózovém a lipidovém metabolismu. Kromě přímého vlivu na inulinovou senzitivitu může vést aktivace PPAR- $\gamma$  ke zlepšení vaskulárních funkcí a zmírnění zánětu. Cílem naší studie bylo zhodnocení vlivu terapie PPAR- $\gamma$  agonistou rosiglitazonem na hladiny cirkulujících markerů endoteliální dysfunkce u pacientů s diabetem 2. typu a posouzení role změn endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu. Pětiměsíční podávání rosiglitazonu vedlo kromě zlepšení kompenzace diabetu k signifikantnímu zvýšení koncentrace adiponektinu (aniž by byla ovlivněna koncentrace rezistinu) a k poklesu hladin cirkulujících markerů endoteliální dysfunkce VCAM-1, PAI-1 a E-selektinu. Současně byl zaznamenán pokles MMP-9, výsledek však nedosáhl statistické významnosti. Pozitivní vliv rosiglitazonu na endoteliální dysfunkci tak lze nejspíše vysvětlit kombinací poklesu glykémie a vzestupu koncentrace antiaterogenně působícího adiponektinu.

V současné době je všeobecně akceptována souvislost mezi zvýšenou produkcí určitých faktorů v tukové tkáni a rozvojem metabolických a kardiovaskulárních komplikací

obezity. Na druhou stranu i výrazně redukované množství tukové tkáně je doprovázeno četnými metabolickými a endokrinními abnormalitami. V několika studiích byly demonstrovány snížené koncentrace leptinu a zvýšené koncentrace adiponektinu u pacientek s mentální anorexií. V naší druhé práci jsme testovali hypotézu, že dlouhodobá kalorická restrikce vede u pacientek s mentální anorexií ke zvýšení exprese adiponektinu a poklesu exprese prozánětlivých adipokinů v subkutánní tukové tkáni. Přestože koncentrace cirkulujícího adiponektinu byly ve skupině pacientek s mentální anorexií signifikantně vyšší ve srovnání s kontrolní skupinou, exprese adiponektinové mRNA v subkutánní tkáni byla výrazně nižší. Tento náleží lze zřejmě vysvětlit zvýšenou produkcí adiponektinu v jiných lokalizacích, například ve viscerální tukové tkáni či ve svalové tkáni. Nebyl nalezen rozdíl v koncentracích rezistinu mezi oběma sledovanými skupinami. Velmi zajímavým zjištěním však je, že exprese rezistinu v subkutánní tukové tkáni byla u pacientek s mentální anorexií výrazně vyšší, ačkoli exprese dalšího faktoru s prozánětlivými účinky IL-6 byla nižší ve srovnání s kontrolními subjekty. Předpokládáme, že se změny v lokální produkci určitých adipokinů mohou podílet na rozvoji některých metabolických odchylek v subkutánní tukové tkáni u pacientů s mentální anorexií.

Ačkoli experimentální i klinický výzkum v této oblasti přináší stále nové informace, přesná úloha jednotlivých adipokinů zůstává z velké části neobjasněná. Pochopení endokrinní funkce tukové tkáně by nám mělo výrazně napomoci v hledání efektivních přístupů v terapii patologických stavů spojených s její nadměrnou akumulací či naopak úbytkem. Zkoumání vlastností tukové tkáně a její úloha při rozvoji metabolického syndromu a komplikací s ním spojených bude i do budoucna jedním z hlavních cílů naší práce.

## 10. SUMMARY

The metabolic effects of obesity have made this disease one of the most common risk factors for diabetes, hypertension, and atherosclerosis. Adipose tissue is now recognized as an active secretory and immune organ. Chronic inflammation is a common feature of the obesity, and inflammatory signals may originate within visceral adipose tissue as this fat depot expands in response to chronic positive energy balance. Both adipocytes and macrophages within fat secrete numerous hormones and cytokines that have local effects on WAT physiology but also systemic effects on other organs and may markedly contribute to the development of pathophysiological disorders associated with metabolic syndrome. On the contrary, leanness as well as significant weight reduction in obese patients increases production and circulating levels of metabolically beneficial factors and decreases production of proinflammatory and insulin resistance-inducing factors.

Endothelial dysfunction and inflammation are important signs of vascular risk and worsened prognosis in patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes. Measures of endothelial function remains invaluable for research into disease mechanism and response to new therapies. An interesting area of ongoing investigation is the role of thiazolidinediones in improving endothelial function in patients with type 2 diabetes. Thiazolidinediones regulate the expression of numerous genes with key roles in glucose and lipid metabolism and thus are able to exert direct beneficial effect on insulin resistance. In addition, activation of PPARs could improve vascular function and inflammatory processes resulting in additional vascular effects. The aim of our study was to evaluate the effect of 5months treatment with PPAR- $\gamma$  agonist rosiglitazone on the circulating markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes and to evaluate the role of changes in endocrine function of adipose tissue in this process. We showed similarly to previously published studies that activation of PPAR- $\gamma$  by rosiglitazone improved diabetes compensation, markedly increased circulating adiponectin levels (whereas resistin levels were not affected) and led to decrease of circulating markers of endothelial dysfunction VCAM-1, PAI-1 and E-selectin. It also tended to decrease circulating levels of matrix metalloproteinase-9. The beneficial effect on endothelial dysfunction is very likely explainable by the combination of glucose-lowering effect of rosiglitazone and by increased circulating levels of anti-atherogenic hormone adiponectin.

There is considerable evidence of links between increased production of some adipocyte factors and the metabolic and cardiovascular complications of obesity. On the

contrary, previous studies in AN patients showed numerous metabolic and endocrine abnormalities including the perturbations of endocrine function of adipose tissue such as decreased circulating leptin levels and increased adiponectin levels. In our second study we tested the hypothesis that chronically decreased calory intake in anorexia nervosa patients enhances the mRNA expression of adiponectin and decreases expression of proinflammatory adipokines in subcutaneous adipose tissue. Surprisingly, we found significantly decreased subcutaneous fat adiponectin mRNA expression with simultaneous increase of its circulating levels. We suppose that increased production of adiponectin in other tissues such as visceral adipose tissue or the muscle tissue could be responsible for this dissociation. Another interesting finding of the study was dissociation between unchanged circulating resistin levels in anorexia nervosa patients and its markedly up-regulated mRNA expression in subcutaneous adipose tissue, although mRNA expression of other proinflammatory factor interleukin-6 was significantly decreased relative to in the control group. We suppose that altered local adipokine production may contribute to the development of some metabolic alterations in subcutaneous adipose tissue of patients with anorexia nervosa.

Both experimental and clinical research bring new informations and throw more light on this fascinating field. However, the exact role of endocrine function of adipose tissue in humans remains to be elucidated. Understanding the endocrine function of adipose tissue will likely permit more rational approaches to treatment of the metabolic consequences of excess and deficiency of adipose tissue. The evaluation of adipose tissue and particularly its endocrine function remains an essential component of our investigations.



## 11. LITERATURA

- Abate N. Obesity and cardiovascular disease. Pathogenetic role of the metabolic syndrome and therapeutic implications. *J Diabetes Complications* 2000. 14:154-74
- Abate N, Garg A, Peshock RM, Stray-Gundersen J, Grundy SM. Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. *J Clin Invest* 1995. 96:88-98
- Abumrad N, Harmon C, Ibrahimi A. Membrane transport of long-chain fatty acids: evidence for a facilitated process. *J Lipid Res* 1998. 39:2309-18
- Adams DH, Lloyd AR. Chemokines: leucocyte recruitment and activation cytokines. *Lancet* 1997. 349:490-5
- Adams MR, McCredie R, Jessup W, Robinson J, Sullivan D, Celermajer DS. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilatation and reduces monocyte adhesion to endothelial cells in young men with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1997. 129:261-9
- Agewall S, Wright S, Doughty RN, Whalley GA, Duxbury M, Sharpe N. Does a glass of red wine improve endothelial function? *Eur Heart J* 2000. 21:74-8
- Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbone G, Juhan-Vague I. Production of plasminogen activator inhibitor 1 by human adipose tissue: possible link between visceral fat accumulation and vascular disease. *Diabetes* 1997. 46:860-7
- Anderlová K, Křemen J, Doležalová R, Housová J, Haluzíková D, Kunešová M, Haluzík M. The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women. *Physiol Res* 2006. 55:277-83
- Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995. 332:488-93
- Andreeff M, Welte K. Hematopoietic colony-stimulating factors. *Semin Oncol* 1989. 16:211-29
- Avena R, Mitchell ME, Nysten ES, Curry KM, Sidawy AN. Insulin action enhancement normalizes brachial artery vasoactivity in patients with peripheral vascular disease and occult diabetes. *J Vasc Surg* 1998. 28:1024-31; discussion 31-2
- Avogaro A, de Kreutzenberg SV. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. *Clin Chim Acta* 2005. 360:9-26
- Bahia L, Aguiar LG, Villela N, Bottino D, Godoy-Matos AF, Geloneze B, Tambascia M, Bouskela E. Adiponectin is associated with improvement of endothelial function after rosiglitazone treatment in non-diabetic individuals with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2007. 195:138-46
- Bahl JJ, Matsuda M, DeFronzo RA, Bressler R. In vitro and in vivo suppression of gluconeogenesis by inhibition of pyruvate carboxylase. *Biochem Pharmacol* 1997. 53:67-74
- Balkestein EJ, van Aggel-Leijssen DP, van Baak MA, Struijker-Boudier HA, Van Bortel LM. The effect of weight loss with or without exercise training on large artery compliance in healthy obese men. *J Hypertens* 1999. 17:1831-5
- Barak Y, Nelson MC, Ong ES, Jones YZ, Ruiz-Lozano P, Chien KR, Koder A, Evans RM. PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell* 1999. 4:585-95
- Barrett-Connor EL. Obesity, atherosclerosis, and coronary artery disease. *Ann Intern Med* 1985. 103:1010-9
- Bastelica D, Morange P, Berthet B, Borghi H, Lacroix O, Grino M, Juhan-Vague I, Alessi MC. Stromal cells are the main plasminogen activator inhibitor-1-producing cells in

- human fat: evidence of differences between visceral and subcutaneous deposits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002. 22:173-8
- Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 2001. 7:947-53
- Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002. 13:84-9
- Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005. 96:939-49
- Berkowitz K, Peters R, Kjos SL, Goico J, Marroquin A, Dunn ME, Xiang A, Azen S, Buchanan TA. Effect of troglitazone on insulin sensitivity and pancreatic beta-cell function in women at high risk for NIDDM. *Diabetes* 1996. 45:1572-9
- Berrettini M, Schleef RR, Espana F, Loskutoff DJ, Griffin JH. Interaction of type 1 plasminogen activator inhibitor with the enzymes of the contact activation system. *J Biol Chem* 1989. 264:11738-43
- Betriu A, Masotti M, Serra A, Alonso J, Fernandez-Aviles F, Gimeno F, Colman T, Zueco J, Delcan JL, Garcia E, Calabuig J. Randomized comparison of coronary stent implantation and balloon angioplasty in the treatment of de novo coronary artery lesions (START): a four-year follow-up. *J Am Coll Cardiol* 1999. 34:1498-506
- Birgel M, Gottschling-Zeller H, Rohrig K, Hauner H. Role of cytokines in the regulation of plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in newly differentiated subcutaneous human adipocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000. 20:1682-7
- Biswas P, Delfanti F, Bernasconi S, Mengozzi M, Cota M, Polentarutti N, Mantovani A, Lazzarin A, Sozzani S, Poli G. Interleukin-6 induces monocyte chemotactic protein-1 in peripheral blood mononuclear cells and in the U937 cell line. *Blood* 1998. 91:258-65
- Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, Meyer J. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001. 104:1336-42
- Blann AD, Lip GY. Cell adhesion molecules in cardiovascular disease and its risk factors--what can soluble levels tell us? *J Clin Endocrinol Metab* 2000. 85:1745-7
- Bluher S, Shah S, Mantzoros CS. Leptin deficiency: clinical implications and opportunities for therapeutic interventions. *J Investig Med* 2009. 57:784-8
- Boden G, Chen X, Capulong E, Mozzoli M. Effects of free fatty acids on gluconeogenesis and autoregulation of glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes* 2001a. 50:810-6
- Boden G, Chen X, Iqbal N. Acute lowering of plasma fatty acids lowers basal insulin secretion in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes* 1998. 47:1609-12
- Boden G, Chen X, Rosner J, Barton M. Effects of a 48-h fat infusion on insulin secretion and glucose utilization. *Diabetes* 1995. 44:1239-42
- Boden G, Chen X, Stein TP. Gluconeogenesis in moderately and severely hyperglycemic patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001b. 280:E23-30
- Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest* 2002. 32 Suppl 3:14-23
- Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005. 174:5789-95
- Bonetti PO, Lerman LO, Napoli C, Lerman A. Statin effects beyond lipid lowering--are they clinically relevant? *Eur Heart J* 2003. 24:225-48

- Borst SE, Bagby GJ. Neutralization of tumor necrosis factor reverses age-induced impairment of insulin responsiveness in skeletal muscle of Sprague-Dawley rats. *Metabolism* 2002. 51:1061-4
- Bosy-Westphal A, Brabant G, Haas V, Onur S, Paul T, Nutzinger D, Klein H, Hauer M, Muller MJ. Determinants of plasma adiponectin levels in patients with anorexia nervosa examined before and after weight gain. *Eur J Nutr* 2005. 44:355-9
- Bouchard C, Despres JP, Mauriege P. Genetic and nongenetic determinants of regional fat distribution. *Endocr Rev* 1993. 14:72-93
- Boyle PJ, King AB, Olansky L, Marchetti A, Lau H, Magar R, Martin J. Effects of pioglitazone and rosiglitazone on blood lipid levels and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a retrospective review of randomly selected medical records. *Clin Ther* 2002. 24:378-96
- Brichard SM, Delporte ML, Lambert M. Adipocytokines in anorexia nervosa: a review focusing on leptin and adiponectin. *Horm Metab Res* 2003. 35:337-42
- Brown NJ, Abbas A, Byrne D, Schoenhard JA, Vaughan DE. Comparative effects of estrogen and angiotensin-converting enzyme inhibition on plasminogen activator inhibitor-1 in healthy postmenopausal women. *Circulation* 2002. 105:304-9
- Brun RP, Spiegelman BM. PPAR gamma and the molecular control of adipogenesis. *J Endocrinol* 1997. 155:217-8
- Bruun JM, Lihn AS, Madan AK, Pedersen SB, Schiott KM, Fain JN, Richelsen B. Higher production of IL-8 in visceral vs. subcutaneous adipose tissue. Implication of nonadipose cells in adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004. 286:E8-13
- Bruun JM, Lihn AS, Verdich C, Pedersen SB, Toubro S, Astrup A, Richelsen B. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003. 285:E527-33
- Buras J, Reenstra WR, Orlow D, Horton ES, Veves A. Troglitazone-induced changes in adiponectin do not affect endothelial function in diabetes. *Obes Res* 2005. 13:1167-74
- Bussolino F, Camussi G, Baglioni C. Synthesis and release of platelet-activating factor by human vascular endothelial cells treated with tumor necrosis factor or interleukin 1 alpha. *J Biol Chem* 1988. 263:11856-61
- Caballero AE, Saouaf R, Lim SC, Hamdy O, Abou-Elenin K, O'Connor C, Logerfo FW, Horton ES, Veves A. The effects of troglitazone, an insulin-sensitizing agent, on the endothelial function in early and late type 2 diabetes: a placebo-controlled randomized clinical trial. *Metabolism* 2003. 52:173-80
- Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CW, Jr. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 1999. 341:1097-105
- Calnek DS, Mazzella L, Roser S, Roman J, Hart CM. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003. 23:52-7
- Cancello R, Henegar C, Viguerie N, Taleb S, Poitou C, Rouault C, Coupaye M, Pelloux V, Hugol D, Bouillot JL, Bouloumie A, Barbatelli G, Cinti S, Svensson PA, Barsh GS, Zucker JD, Basdevant A, Langin D, Clement K. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. *Diabetes* 2005. 54:2277-86
- Cao Y, Tao L, Yuan Y, Jiao X, Lau WB, Wang Y, Christopher T, Lopez B, Chan L, Goldstein B, Ma XL. Endothelial dysfunction in adiponectin deficiency and its mechanisms involved. *J Mol Cell Cardiol* 2009. 46:413-9

- Castillo M, Scheen A, Lefebvre PJ, Luyckx AS. Insulin-stimulated glucose disposal is not increased in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1985. 60:311-4
- Clarke JF, Young PW, Yonezawa K, Kasuga M, Holman GD. Inhibition of the translocation of GLUT1 and GLUT4 in 3T3-L1 cells by the phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, wortmannin. *Biochem J* 1994. 300 ( Pt 3):631-5
- Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, Jubb M, World M, Deanfield JE. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol* 1999. 33:1379-85
- Collen D. The plasminogen (fibrinolytic) system. *Thromb Haemost* 1999. 82:259-70
- Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Klebanov S, Iyengar P, Jimenez-Chillaron JC, Patti ME, Klein SL, Weinstein RS, Scherer PE. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes* 2003. 52:268-76
- Combs TP, Wagner JA, Berger J, Doebber T, Wang WJ, Zhang BB, Tanen M, Berg AH, O'Rahilly S, Savage DB, Chatterjee K, Weiss S, Larson PJ, Gottesdiener KM, Gertz BJ, Charron MJ, Scherer PE, Moller DE. Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPARgamma agonists: a potential mechanism of insulin sensitization. *Endocrinology* 2002. 143:998-1007
- Considine RV, Caro JF. Leptin and the regulation of body weight. *Int J Biochem Cell Biol* 1997. 29:1255-72
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996. 334:292-5
- Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc* 2001. 60:349-56
- Cousin B, Munoz O, Andre M, Fontanilles AM, Dani C, Cousin JL, Laharrague P, Casteilla L, Penicaud L. A role for preadipocytes as macrophage-like cells. *Faseb J* 1999. 13:305-12
- Curat CA, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R, Bouloumie A. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes* 2004. 53:1285-92
- Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991. 251:788-91
- Češka R. 2005. *Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií*. 2005. Praha: Triton. 343 pp.
- Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004. 25:4-7
- Dandona P, Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Bandyopadhyay A, Chaudhuri A. Insulin suppresses plasma concentration of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9. *Diabetes Care* 2003. 26:3310-4
- Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, Pigott R, Woolf N, Katz D, Kyriakopoulos A. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993. 171:223-9
- Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004. 109:III27-32
- de Lemos JA, Hennekens CH, Ridker PM. Plasma concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1 and subsequent cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2000. 36:423-6
- De Vos P, Lefebvre AM, Miller SG, Guerre-Millo M, Wong K, Saladin R, Hamann LG, Staels B, Briggs MR, Auwerx J. Thiazolidinediones repress ob gene expression in

- rodents via activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Clin Invest* 1996. 98:1004-9
- DeFronzo RA. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidaemia and atherosclerosis. *Neth J Med* 1997. 50:191-7
- DeFronzo RA, Simonson D, Ferrannini E. Hepatic and peripheral insulin resistance: a common feature of type 2 (non-insulin-dependent) and type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1982. 23:313-9
- Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Juliar BE, Watson W, Kerr K, Jones R, Zhu Q, Considine RV. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003. 88:5452-5
- Delaigle AM, Jonas JC, Bauche IB, Cornu O, Brichard SM. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology* 2004. 145:5589-97
- Delerive P, De Bosscher K, Besnard S, Vanden Berghe W, Peters JM, Gonzalez FJ, Fruchart JC, Tedgui A, Haegeman G, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF-kappaB and AP-1. *J Biol Chem* 1999. 274:32048-54
- Delerive P, Gervois P, Fruchart JC, Staels B. Induction of IkappaBalpha expression as a mechanism contributing to the anti-inflammatory activities of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activators. *J Biol Chem* 2000. 275:36703-7
- Delporte ML, Brichard SM, Hermans MP, Beguin C, Lambert M. Hyperadiponectinaemia in anorexia nervosa. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003. 58:22-9
- Delporte ML, Funahashi T, Takahashi M, Matsuzawa Y, Brichard SM. Pre- and post-translational negative effect of beta-adrenoceptor agonists on adiponectin secretion: in vitro and in vivo studies. *Biochem J* 2002. 367:677-85
- Demerath E, Towne B, Blangero J, Siervogel RM. The relationship of soluble ICAM-1, VCAM-1, P-selectin and E-selectin to cardiovascular disease risk factors in healthy men and women. *Ann Hum Biol* 2001. 28:664-78
- DeSouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, Dinenna FA, Monahan KD, Tanaka H, Seals DR. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation* 2000. 102:1351-7
- Despres JP. Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition* 1993. 9:452-9
- Despres JP, Lamarche B, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, Lupien PJ. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996. 334:952-7
- Despres JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C. Genetic aspects of susceptibility to obesity and related dyslipidemias. *Mol Cell Biochem* 1992. 113:151-69
- Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev* 1999. 20:649-88
- Donahue RP, Abbott RD, Bloom E, Reed DM, Yano K. Central obesity and coronary heart disease in men. *Lancet* 1987. 1:821-4
- Dostálová I, Kunešová M, Dušková J, Papežová H, Nedvídková J. Adipose tissue resistin levels in patients with anorexia nervosa. *Nutrition* 2006. 22:977-83
- Dostálová I, Smitka K, Papežová H, Kvasnickova H, Nedvídková J. Increased insulin sensitivity in patients with anorexia nervosa: the role of adipocytokines. *Physiol Res* 2007. 56:587-94

- Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, Petersen KF, Shulman GI. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest* 1999. 103:253-9
- Duan SZ, Usher MG, Mortensen RM. PPARs: the vasculature, inflammation and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009. 18:128-33
- Dubois M, Pattou F, Kerr-Conte J, Gmyr V, Vandewalle B, Desreumaux P, Auwerx J, Schoonjans K, Lefebvre J. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) in normal human pancreatic islet cells. *Diabetologia* 2000. 43:1165-9
- Ducimetiere P, Richard J, Cambien F. The pattern of subcutaneous fat distribution in middle-aged men and the risk of coronary heart disease: the Paris Prospective Study. *Int J Obes* 1986. 10:229-40
- Duffy SJ, Keaney JF, Jr., Holbrook M, Gokce N, Swerdloff PL, Frei B, Vita JA. Short- and long-term black tea consumption reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001. 104:151-6
- Dupuis J, Tardif JC, Cernacek P, Theroux P. Cholesterol reduction rapidly improves endothelial function after acute coronary syndromes. The RECIFE (reduction of cholesterol in ischemia and function of the endothelium) trial. *Circulation* 1999. 99:3227-33
- Eckert ED, Pomeroy C, Raymond N, Kohler PF, Thuras P, Bowers CY. Leptin in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1998. 83:791-5
- Emeis JJ, van den Eijnden-Schrauwen Y, van den Hoogen CM, de Priester W, Westmuckett A, Lupu F. An endothelial storage granule for tissue-type plasminogen activator. *J Cell Biol* 1997. 139:245-56
- Engert JC, Vohl MC, Williams SM, Lepage P, Loredó-Osti JC, Faith J, Dore C, Renaud Y, Burt NP, Villeneuve A, Hirschhorn JN, Altshuler D, Groop LC, Despres JP, Gaudet D, Hudson TJ. 5' flanking variants of resistin are associated with obesity. *Diabetes* 2002. 51:1629-34
- Eriksson P, Reynisdottir S, Lonnqvist F, Stemme V, Hamsten A, Arner P. Adipose tissue secretion of plasminogen activator inhibitor-1 in non-obese and obese individuals. *Diabetologia* 1998. 41:65-71
- Esposito K, Ciotola M, Carleo D, Schisano B, Saccomanno F, Sasso FC, Cozzolino D, Assaloni R, Merante D, Ceriello A, Giugliano D. Effect of rosiglitazone on endothelial function and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2006. 29:1071-6
- Eto M, Kozai T, Cosentino F, Joch H, Luscher TF. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. *Circulation* 2002. 105:1756-9
- Fain JN. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam Horm* 2006. 74:443-77
- Fajas L, Debril MB, Auwerx J. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: from adipogenesis to carcinogenesis. *J Mol Endocrinol* 2001. 27:1-9
- Fargnoli JL, Sun Q, Olenczuk D, Qi L, Zhu Y, Hu FB, Mantzoros CS. Resistin is associated with biomarkers of inflammation while total and high-molecular weight adiponectin are associated with biomarkers of inflammation, insulin resistance, and endothelial function. *Eur J Endocrinol* 2009. 162:281-8

- Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Adiponectin gene expression is inhibited by beta-adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001. 507:142-6
- Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Klein J, Paschke R. Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2003. 301:1045-50
- Fernandez-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev* 2003. 24:278-301
- Fernandez-Riejos P, Najib S, Santos-Alvarez J, Martin-Romero C, Perez-Perez A, Gonzalez-Yanes C, Sanchez-Margalet V. Role of leptin in the activation of immune cells. *Mediators Inflamm* 2010:568343
- Ferri C, Desideri G, Valenti M, Bellini C, Pasin M, Santucci A, De Mattia G. Early upregulation of endothelial adhesion molecules in obese hypertensive men. *Hypertension* 1999. 34:568-73
- Ferron F, Considine RV, Peino R, Lado IG, Dieguez C, Casanueva FF. Serum leptin concentrations in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa and non-specific eating disorders correlate with the body mass index but are independent of the respective disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997. 46:289-93
- Festa A, D'Agostino R, Jr., Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000. 102:42-7
- Festa A, D'Agostino R, Jr., Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2002. 51:1131-7
- Finegood DT, McArthur MD, Kojwang D, Thomas MJ, Topp BG, Leonard T, Buckingham RE. Beta-cell mass dynamics in Zucker diabetic fatty rats. Rosiglitazone prevents the rise in net cell death. *Diabetes* 2001. 50:1021-9
- Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M, et al. A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med* 1994. 331:496-501
- Folsom AR, Kushi LH, Anderson KE, Mink PJ, Olson JE, Hong CP, Sellers TA, Lazovich D, Prineas RJ. Associations of general and abdominal obesity with multiple health outcomes in older women: the Iowa Women's Health Study. *Arch Intern Med* 2000. 160:2117-28
- Fonseca VA, Reynolds T, Hemphill D, Randolph C, Wall J, Valiquet TR, Graveline J, Fink LM. Effect of troglitazone on fibrinolysis and activated coagulation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 1998. 12:181-6
- Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules--Part II: Blood vessels and blood cells. *N Engl J Med* 1996. 335:43-5
- Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 1998. 83:847-50
- Fruchart JC. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activation and high-density lipoprotein metabolism. *Am J Cardiol* 2001. 88:24N-9N
- Fukunaga Y, Itoh H, Doi K, Tanaka T, Yamashita J, Chun TH, Inoue M, Masatsugu K, Sawada N, Saito T, Hosoda K, Kook H, Ueda M, Nakao K. Thiazolidinediones, peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists, regulate endothelial cell growth and secretion of vasoactive peptides. *Atherosclerosis* 2001. 158:113-9

- Fukushima M, Nakai Y, Taniguchi A, Imura H, Nagata I, Tokuyama K. Insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose effectiveness in anorexia nervosa: a minimal model analysis. *Metabolism* 1993. 42:1164-8
- Fukuzawa M, Satoh J, Qiang X, Miyaguchi S, Sakata Y, Nakazawa T, Ikehata F, Ohta S, Toyota T. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha with anti-diabetic agents. *Diabetes Res Clin Pract* 1999. 43:147-54
- Gainsford T, Willson TA, Metcalf D, Handman E, McFarlane C, Ng A, Nicola NA, Alexander WS, Hilton DJ. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996. 93:14564-8
- Gerber M, Boettner A, Seidel B, Lammert A, Bar J, Schuster E, Thiery J, Kiess W, Kratzsch J. Serum resistin levels of obese and lean children and adolescents: biochemical analysis and clinical relevance. *J Clin Endocrinol Metab* 2005. 90:4503-9
- Gervois P, Fruchart JC, Staels B. Inflammation, dyslipidaemia, diabetes and PPARs: pharmacological interest of dual PPARalpha and PPARgamma agonists. *Int J Clin Pract Suppl* 2004.22-9
- Ghazzi MN, Perez JE, Antonucci TK, Driscoll JH, Huang SM, Faja BW, Whitcomb RW. Cardiac and glycemic benefits of troglitazone treatment in NIDDM. The Troglitazone Study Group. *Diabetes* 1997. 46:433-9
- Gimbrone MA, Jr., Cybulsky MI, Kume N, Collins T, Resnick N. Vascular endothelium. An integrator of pathophysiological stimuli in atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 1995. 748:122-31; discussion 31-2
- Gnacinska M, Malgorzewicz S, Guzek M, Lysiak-Szydłowska W, SworczaK K. Adipose tissue activity in relation to overweight or obesity. *Endokrynol Pol* 61:160-8
- Goldberg RB, Kendall DM, Deeg MA, Buse JB, Zagar AJ, Pinaire JA, Tan MH, Khan MA, Perez AT, Jacober SJ. A comparison of lipid and glycemic effects of pioglitazone and rosiglitazone in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care* 2005. 28:1547-54
- Goodpaster BH, Krishnaswami S, Resnick H, Kelley DE, Haggerty C, Harris TB, Schwartz AV, Kritchevsky S, Newman AB. Association between regional adipose tissue distribution and both type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in elderly men and women. *Diabetes Care* 2003. 26:372-9
- Goodpaster BH, Thaete FL, Kelley DE. Thigh adipose tissue distribution is associated with insulin resistance in obesity and in type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2000. 71:885-92
- Goya K, Sumitani S, Xu X, Kitamura T, Yamamoto H, Kurebayashi S, Saito H, Kouhara H, Kasayama S, Kawase I. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonists increase nitric oxide synthase expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004. 24:658-63
- Gregoire FM, Smas CM, Sul HS. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev* 1998. 78:783-809
- Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goodyear LJ, Kraegen EW, White MF, Shulman GI. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 1999. 48:1270-4
- Grimble RF. Inflammatory status and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002. 5:551-9
- Grinsell JW, Lardinois CK, Swislocki A, Gonzalez R, Sare JS, Michaels JR, Starich GH. Pioglitazone attenuates basal and postprandial insulin concentrations and blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertens* 2000. 13:370-5



- Grinspoon S, Gulick T, Askari H, Landt M, Lee K, Anderson E, Ma Z, Vignati L, Bowsher R, Herzog D, Klibanski A. Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1996. 81:3861-3
- Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, Smith SC, Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004a. 24:e13-8
- Grundy SM, Hansen B, Smith SC, Jr., Cleeman JI, Kahn RA. Clinical management of metabolic syndrome: report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation* 2004b. 109:551-6
- Guerre-Millo M. Adipose tissue and adipokines: for better or worse. *Diabetes Metab* 2004. 30:13-9
- Guerre-Millo M, Gervois P, Raspe E, Madsen L, Poulain P, Derudas B, Herbert JM, Winegar DA, Willson TM, Fruchart JC, Berge RK, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem* 2000. 275:16638-42
- Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, Freed MI. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2002. 106:679-84
- Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998. 339:229-34
- Haim M, Tanne D, Boyko V, Reshef T, Goldbourt U, Leor J, Mekori YA, Behar S. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and long-term risk of acute coronary events in patients with chronic coronary heart disease. Data from the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study. *J Am Coll Cardiol* 2002. 39:1133-8
- Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995. 269:543-6
- Halleux CM, Takahashi M, Delporte ML, Detry R, Funahashi T, Matsuzawa Y, Brichard SM. Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2001. 288:1102-7
- Haluzík M. 2002. *Poruchy výživy a leptin*. 2002. Praha: Grada Publishing. 184s.
- Haluzík M, Fiedler J, Nedvídková J, Češka R. Serum leptin concentrations in patients with combined hyperlipidemia: relationship to serum lipids and lipoproteins. *Physiol Res* 1999a. 48:363-8
- Haluzík M, Haluzíková D. The role of resistin in obesity-induced insulin resistance. *Curr Opin Investig Drugs* 2006. 7:306-11
- Haluzík M, Kábrt J, Nedvídková J, Svobodová J, Kotrlíková E, Papežová H. Relationship of serum leptin levels and selected nutritional parameters in patients with protein-caloric malnutrition. *Nutrition* 1999b. 15:829-33
- Haluzík M, Pařízková J, Haluzík MM. Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. *Physiol Res* 2004. 53:123-9
- Haluzík M, Svačina, Š., ed. 2005. *Metabolický syndrom a nukleární receptory - PPAR*: Grada Publishing. 136 s.
- Haluzík MM, Haluzík M. PPAR-alpha and insulin sensitivity. *Physiol Res* 2006. 55:115-22
- Haluzík MM, Lacinová Z, Dolinková M, Haluzíková D, Housa D, Hořínek A, Vernerová Z, Kumstýřová T, Haluzík M. Improvement of insulin sensitivity after peroxisome

- proliferator-activated receptor-alpha agonist treatment is accompanied by paradoxical increase of circulating resistin levels. *Endocrinology* 2006. 147:4517-24
- Hamblin M, Chang L, Fan Y, Zhang J, Chen YE. PPARs and the cardiovascular system. *Antioxid Redox Signal* 2009. 11:1415-52
- Hambrecht R, Fiehn E, Weigl C, Gielen S, Hamann C, Kaiser R, Yu J, Adams V, Niebauer J, Schuler G. Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1998. 98:2709-15
- Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, Linke A, Hofer J, Erbs S, Schoene N, Schuler G. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000. 342:454-60
- Hamdy O, Ledbury S, Mullooly C, Jarema C, Porter S, Ovalle K, Moussa A, Caselli A, Caballero AE, Economides PA, Veves A, Horton ES. Lifestyle modification improves endothelial function in obese subjects with the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 2003. 26:2119-25
- Hamm JK, el Jack AK, Pilch PF, Farmer SR. Role of PPAR gamma in regulating adipocyte differentiation and insulin-responsive glucose uptake. *Ann N Y Acad Sci* 1999. 892:134-45
- Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, Corti MC, Wacholder S, Ettinger WH, Jr., Heimovitz H, Cohen HJ, Wallace R. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med* 1999. 106:506-12
- Hauner H. Secretory factors from human adipose tissue and their functional role. *Proc Nutr Soc* 2005. 64:163-9
- Havel PJ. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. *Curr Opin Lipidol* 2002. 13:51-9
- Hebebrand J, Blum WF, Barth N, Coners H, Englaro P, Juul A, Ziegler A, Warnke A, Rascher W, Remschmidt H. Leptin levels in patients with anorexia nervosa are reduced in the acute stage and elevated upon short-term weight restoration. *Mol Psychiatry* 1997. 2:330-4
- Heitzer T, Krohn K, Albers S, Meinertz T. Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation by increasing nitric oxide activity in patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000. 43:1435-8
- Helset E, Ytrehus K, Tveita T, Kjaeve J, Jorgensen L. Endothelin-1 causes accumulation of leukocytes in the pulmonary circulation. *Circ Shock* 1994. 44:201-9
- Hetzel J, Balletshofer B, Rittig K, Walcher D, Kratzer W, Hombach V, Haring HU, Koenig W, Marx N. Rapid effects of rosiglitazone treatment on endothelial function and inflammatory biomarkers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005. 25:1804-9
- Higashi Y, Sasaki S, Kurisu S, Yoshimizu A, Sasaki N, Matsuura H, Kajiyama G, Oshima T. Regular aerobic exercise augments endothelium-dependent vascular relaxation in normotensive as well as hypertensive subjects: role of endothelium-derived nitric oxide. *Circulation* 1999. 100:1194-202
- Hirano T, Yoshino G, Kazumi T. Troglitazone and small low-density lipoprotein in type 2 diabetes. *Ann Intern Med* 1998. 129:162-3
- Holtkamp K, Hebebrand J, Mika C, Grzella I, Heer M, Heussen N, Herpertz-Dahlmann B. The effect of therapeutically induced weight gain on plasma leptin levels in patients with anorexia nervosa. *J Psychiatr Res* 2003. 37:165-9
- Home PD, Jones NP, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, Gomis R, Hanefeld M, Komajda M, Curtis P. Rosiglitazone RECORD study: glucose control outcomes at 18 months. *Diabet Med* 2007. 24:626-34

- Home PD, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, Curtis PS, Gomis R, Hanefeld M, Jones NP, Komajda M, McMurray JJ. Rosiglitazone evaluated for cardiovascular outcomes in oral agent combination therapy for type 2 diabetes (RECORD): a multicentre, randomised, open-label trial. *Lancet* 2009. 373:2125-35
- Hoo RL, Chow WS, Yau MH, Xu A, Tso AW, Tse HF, Fong CH, Tam S, Chan L, Lam KS. Adiponectin mediates the suppressive effect of rosiglitazone on plasminogen activator inhibitor-1 production. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007. 27:2777-82
- Hornig B, Maier V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1996. 93:210-4
- Hotamisligil GS. The role of TNF $\alpha$  and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J Intern Med* 1999. 245:621-5
- Hotamisligil GS. The irresistible biology of resistin. *J Clin Invest* 2003. 111:173-4
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993. 259:87-91
- Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000. 20:1595-9
- Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeyer HK, Arita Y, Hansen BC, Matsuzawa Y. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes* 2001. 50:1126-33
- Hourton D, Delerive P, Stankova J, Staels B, Chapman MJ, Ninio E. Oxidized low-density lipoprotein and peroxisome-proliferator-activated receptor  $\alpha$  down-regulate platelet-activating-factor receptor expression in human macrophages. *Biochem J* 2001. 354:225-32
- Housová J, Anderlová K, Křížová J, Haluzíková D, Křemen J, Kumstýřová T, Papežová H, Haluzík M. Serum adiponectin and resistin concentrations in patients with restrictive and binge/purge form of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2005. 90:1366-70
- Howard G, O'Leary DH, Zaccaro D, Haffner S, Rewers M, Hamman R, Selby JV, Saad MF, Savage P, Bergman R. Insulin sensitivity and atherosclerosis. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) Investigators. *Circulation* 1996. 93:1809-17
- Huo Y, Ley K. Adhesion molecules and atherogenesis. *Acta Physiol Scand* 2001. 173:35-43
- Hupfeld CJ, Weiss RH. TZDs inhibit vascular smooth muscle cell growth independently of the cyclin kinase inhibitors p21 and p27. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001. 281:E207-16
- Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM, Jr., Boerwinkle E. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation* 1997. 96:4219-25
- Charriere G, Cousin B, Arnaud E, Andre M, Bacou F, Penicaud L, Casteilla L. Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem* 2003. 278:9850-5
- Chawla A, Barak Y, Nagy L, Liao D, Tontonoz P, Evans RM. PPAR- $\gamma$  dependent and independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. *Nat Med* 2001. 7:48-52

- Chen L, Nyomba BL. Glucose intolerance and resistin expression in rat offspring exposed to ethanol in utero: modulation by postnatal high-fat diet. *Endocrinology* 2003. 144:500-8
- Chen X, Iqbal N, Boden G. The effects of free fatty acids on gluconeogenesis and glycogenolysis in normal subjects. *J Clin Invest* 1999. 103:365-72
- Chen Z, Ishibashi S, Perrey S, Osuga J, Gotoda T, Kitamine T, Tamura Y, Okazaki H, Yahagi N, Iizuka Y, Shionoiri F, Ohashi K, Harada K, Shimano H, Nagai R, Yamada N. Troglitazone inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice: pleiotropic effects on CD36 expression and HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001. 21:372-7
- Chenevard R, Hurlimann D, Bechir M, Enseleit F, Spieker L, Hermann M, Riesen W, Gay S, Gay RE, Neidhart M, Michel B, Luscher TF, Noll G, Ruschitzka F. Selective COX-2 inhibition improves endothelial function in coronary artery disease. *Circulation* 2003. 107:405-9
- Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation: from basic science to clinical applications. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003. 27 Suppl 3:S41-5
- Chobanian AV. Pathophysiology of atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1992. 70:3G-7G
- Choi D, Kim SK, Choi SH, Ko YG, Ahn CW, Jang Y, Lim SK, Lee HC, Cha BS. Preventative effects of rosiglitazone on restenosis after coronary stent implantation in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004. 27:2654-60
- Chou CJ, Haluzik M, Gregory C, Dietz KR, Vinson C, Gavrilova O, Reitman ML. WY14,643, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) agonist, improves hepatic and muscle steatosis and reverses insulin resistance in lipoatrophic A-ZIP/F-1 mice. *J Biol Chem* 2002. 277:24484-9
- Chow WH, Gridley G, Fraumeni JF, Jr., Jarvholm B. Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med* 2000. 343:1305-11
- Ikeda Y, Sugawara A, Taniyama Y, Uruno A, Igarashi K, Arima S, Ito S, Takeuchi K. Suppression of rat thromboxane synthase gene transcription by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in macrophages via an interaction with NRF2. *J Biol Chem* 2000. 275:33142-50
- Iwahashi H, Funahashi T, Kurokawa N, Sayama K, Fukuda E, Okita K, Imagawa A, Yamagata K, Shimomura I, Miyagawa JI, Matsuzawa Y. Plasma adiponectin levels in women with anorexia nervosa. *Horm Metab Res* 2003. 35:537-40
- Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ, Emeis JJ, Nijpels G, Dekker JM, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 are associated with risk of cardiovascular mortality in type 2 diabetes: the Hoorn study. *Diabetes* 2000. 49:485-91
- Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res* 2002. 10:1-5
- Jeng CY, Sheu WH, Fuh MM, Chen YD, Reaven GM. Relationship between hepatic glucose production and fasting plasma glucose concentration in patients with NIDDM. *Diabetes* 1994. 43:1440-4
- Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 1998. 391:82-6
- Juge-Aubry CE, Somm E, Giusti V, Pernin A, Chicheportiche R, Verdumo C, Rohner-Jeanrenaud F, Burger D, Dayer JM, Meier CA. Adipose tissue is a major source of interleukin-1 receptor antagonist: upregulation in obesity and inflammation. *Diabetes* 2003. 52:1104-10

- Kawanami D, Maemura K, Takeda N, Harada T, Nojiri T, Imai Y, Manabe I, Utsunomiya K, Nagai R. Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. *Biochem Biophys Res Commun* 2004. 314:415-9
- Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada T, Saltin B, Pedersen BK, Neufer PD. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *Faseb J* 2001. 15:2748-50
- Kelley DE, Goodpaster BH, Storlien L. Muscle triglyceride and insulin resistance. *Annu Rev Nutr* 2002. 22:325-46
- Kelly IE, Han TS, Walsh K, Lean ME. Effects of a thiazolidinedione compound on body fat and fat distribution of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999. 22:288-93
- Kereiakes DJ, Willerson JT. Metabolic syndrome epidemic. *Circulation* 2003. 108:1552-3
- Khan MA, St Peter JV, Xue JL. A prospective, randomized comparison of the metabolic effects of pioglitazone or rosiglitazone in patients with type 2 diabetes who were previously treated with troglitazone. *Diabetes Care* 2002. 25:708-11
- Kliwer SA, Sundseth SS, Jones SA, Brown PJ, Wisely GB, Koble CS, Devchand P, Wahli W, Willson TM, Lenhard JM, Lehmann JM. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997. 94:4318-23
- Knock GA, Mishra SK, Aaronson PI. Differential effects of insulin-sensitizers troglitazone and rosiglitazone on ion currents in rat vascular myocytes. *Eur J Pharmacol* 1999. 368:103-9
- Konrad A, Lehrke M, Schachinger V, Seibold F, Stark R, Ochsenkuhn T, Parhofer KG, Goke B, Broedl UC. Resistin is an inflammatory marker of inflammatory bowel disease in humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007. 19:1070-4
- Kotchen TA, Zhang HY, Reddy S, Hoffmann RG. Effect of pioglitazone on vascular reactivity in vivo and in vitro. *Am J Physiol* 1996. 270:R660-6
- Koyanagi M, Egashira K, Kitamoto S, Ni W, Shimokawa H, Takeya M, Yoshimura T, Takeshita A. Role of monocyte chemoattractant protein-1 in cardiovascular remodeling induced by chronic blockade of nitric oxide synthesis. *Circulation* 2000. 102:2243-8
- Krauss RM, Eckel RH, Howard B, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, Erdman JW, Jr., Kris-Etherton P, Goldberg IJ, Kotchen TA, Lichtenstein AH, Mitch WE, Mullis R, Robinson K, Wylie-Rosett J, St Jeor S, Suttie J, Tribble DL, Bazzarre TL. AHA Dietary Guidelines: revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Stroke* 2000. 31:2751-66
- 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 <sup>1</sup>H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 1999. 42:113-6
- Kruszynska YT, Yu JG, Olefsky JM, Sobel BE. Effects of troglitazone on blood concentrations of plasminogen activator inhibitor 1 in patients with type 2 diabetes and in lean and obese normal subjects. *Diabetes* 2000. 49:633-9
- Krysiak R, Okopien B, Herman Z. Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on coagulation and fibrinolysis processes. *Drugs* 2003. 63:1821-54
- Křemen J, Dolinková M, Krájčková J, Bláha J, Anderlová K, Lacinová Z, Haluzíková D, Bošanská L, Vokurka M, Svačina S, Haluzík M. Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role in postoperative insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006. 91:4620-7

- Kubota N, Terauchi Y, Miki H, Tamemoto H, Yamauchi T, Komeda K, Satoh S, Nakano R, Ishii C, Sugiyama T, Eto K, Tsubamoto Y, Okuno A, Murakami K, Sekihara H, Hasegawa G, Naito M, Toyoshima Y, Tanaka S, Shiota K, Kitamura T, Fujita T, Ezaki O, Aizawa S, Kadowaki T, et al. PPAR gamma mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. *Mol Cell* 1999. 4:597-609
- Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J, Eto K, Yamashita T, Kamon J, Satoh H, Yano W, Froguel P, Nagai R, Kimura S, Kadowaki T, Noda T. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem* 2002. 277:25863-6
- Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, Arita Y, Okamoto Y, Shimomura I, Hiraoka H, Nakamura T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003. 23:85-9
- Kunnari A, Ukkola O, Paivansalo M, Kesaniemi YA. High plasma resistin level is associated with enhanced highly sensitive C-reactive protein and leukocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2006. 91:2755-60
- Kusminski CM, McTernan PG, Kumar S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lond)* 2005. 109:243-56
- LaCivita KA, Villarreal G. Differences in lipid profiles of patients given rosiglitazone followed by pioglitazone. *Curr Med Res Opin* 2002. 18:363-70
- Lafontan M, Berlan M. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? *Trends Pharmacol Sci* 2003. 24:276-83
- Lam TK, Carpentier A, Lewis GF, van de Werve G, Fantus IG, Giacca A. Mechanisms of the free fatty acid-induced increase in hepatic glucose production. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003. 284:E863-73
- Lapidus L, Bengtsson C, Larsson B, Pennert K, Rybo E, Sjostrom L. Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984. 289:1257-61
- Larsson B, Svardssudd K, Welin L, Wilhelmsen L, Bjorntorp P, Tibblin G. Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984. 288:1401-4
- Law RE, Meehan WP, Xi XP, Graf K, Wuthrich DA, Coats W, Faxon D, Hsueh WA. Troglitazone inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia. *J Clin Invest* 1996. 98:1897-905
- Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Estrada E, Seip R, Orlova C, Mantzoros CS. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003. 88:4848-56
- Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Sorting out the roles of PPAR alpha in energy metabolism and vascular homeostasis. *J Clin Invest* 2006. 116:571-80
- Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Willson TM, Kliewer SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *J Biol Chem* 1995. 270:12953-6
- Lehrke M, Reilly MP, Millington SC, Iqbal N, Rader DJ, Lazar MA. An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans. *PLoS Med* 2004. 1:e45
- Levine GN, Keaney JF, Jr., Vita JA. Cholesterol reduction in cardiovascular disease. Clinical benefits and possible mechanisms. *N Engl J Med* 1995. 332:512-21

- Li AC, Brown KK, Silvestre MJ, Willson TM, Palinski W, Glass CK. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest* 2000. 106:523-31
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002. 420:868-74
- Libby P. Vascular biology of atherosclerosis: overview and state of the art. *Am J Cardiol* 2003. 91:3A-6A
- Libby P, Geng YJ, Aikawa M, Schoenbeck U, Mach F, Clinton SK, Sukhova GK, Lee RT. Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr Opin Lipidol* 1996. 7:330-5
- Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002. 105:1135-43
- Lillioja S, Mott DM, Howard BV, Bennett PH, Yki-Jarvinen H, Freymond D, Nyomba BL, Zurlo F, Swinburn B, Bogardus C. Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action. Longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. *N Engl J Med* 1988. 318:1217-25
- Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet* 2002. 360:57-8
- Loskutoff DJ, Samad F. The adipocyte and hemostatic balance in obesity: studies of PAI-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998. 18:1-6
- Luc G, Arveiler D, Evans A, Amouyel P, Ferrieres J, Bard JM, Elkhilil L, Fruchart JC, Ducimetiere P. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and incident coronary heart disease: the PRIME Study. *Atherosclerosis* 2003. 170:169-76
- Lum H, Malik AB. Regulation of vascular endothelial barrier function. *Am J Physiol* 1994. 267:L223-41
- Lyons TJ. Oxidized low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? *Diabet Med* 1991. 8:411-9
- Lyons TJ. Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. *Diabetes* 1992. 41 Suppl 2:67-73
- Ma LJ, Mao SL, Taylor KL, Kanjanabuch T, Guan Y, Zhang Y, Brown NJ, Swift LL, McGuinness OP, Wasserman DH, Vaughan DE, Fogo AB. Prevention of obesity and insulin resistance in mice lacking plasminogen activator inhibitor 1. *Diabetes* 2004. 53:336-46
- Maddineni S, Metzger S, Ocon O, Hendricks G, 3rd, Ramachandran R. Adiponectin gene is expressed in multiple tissues in the chicken: food deprivation influences adiponectin messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology* 2005. 146:4250-6
- Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996. 221:286-9
- Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, Nagaretani H, Matsuda M, Komuro R, Ouchi N, Kuriyama H, Hotta K, Nakamura T, Shimomura I, Matsuzawa Y. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 2001. 50:2094-9
- Magnusson I, Rothman DL, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI. Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance study. *J Clin Invest* 1992. 90:1323-7
- Majuri A, Santaniemi M, Rautio K, Kunnari A, Vartiainen J, Ruokonen A, Kesaniemi YA, Tapanainen JS, Ukkola O, Morin-Papunen L. Rosiglitazone treatment increases plasma levels of adiponectin and decreases levels of resistin in overweight women

- with PCOS: a randomized placebo-controlled study. *Eur J Endocrinol* 2007. 156:263-9
- Malik I, Danesh J, Whincup P, Bhatia V, Papacosta O, Walker M, Lennon L, Thomson A, Haskard D. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet* 2001. 358:971-6
- Malík J, Melenovský V, Wichterle D. Function and dysfunction of the endothelium. *Cas Lek Cesk* 2000. 139:197-202
- Marcus BC, Wyble CW, Hynes KL, Gewertz BL. Cytokine-induced increases in endothelial permeability occur after adhesion molecule expression. *Surgery* 1996. 120:411-6; discussion 6-7
- Martens FM, Visseren FL, Lemay J, de Koning EJ, Rabelink TJ. Metabolic and additional vascular effects of thiazolidinediones. *Drugs* 2002. 62:1463-80
- Martin-Nizard F, Furman C, Delerive P, Kandoussi A, Fruchart JC, Staels B, Duriez P. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit oxidized low-density lipoprotein-induced endothelin-1 secretion in endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002. 40:822-31
- Martin G, Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. PPARgamma activators improve glucose homeostasis by stimulating fatty acid uptake in the adipocytes. *Atherosclerosis* 1998. 137 Suppl:S75-80
- Marx N, Mackman N, Schonbeck U, Yilmaz N, Hombach V, Libby P, Plutzky J. PPARalpha activators inhibit tissue factor expression and activity in human monocytes. *Circulation* 2001. 103:213-9
- Marx N, Schonbeck U, Lazar MA, Libby P, Plutzky J. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activators inhibit gene expression and migration in human vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1998a. 83:1097-103
- Marx N, Sukhova G, Murphy C, Libby P, Plutzky J. Macrophages in human atheroma contain PPARgamma: differentiation-dependent peroxisomal proliferator-activated receptor gamma(PPARgamma) expression and reduction of MMP-9 activity through PPARgamma activation in mononuclear phagocytes in vitro. *Am J Pathol* 1998b. 153:17-23
- Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. PPARalpha activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation* 1999. 99:3125-31
- Massillon D, Barzilai N, Hawkins M, Prus-Wertheimer D, Rossetti L. Induction of hepatic glucose-6-phosphatase gene expression by lipid infusion. *Diabetes* 1997. 46:153-7
- Mauriege P, Prud'homme D, Lemieux S, Tremblay A, Despres JP. Regional differences in adipose tissue lipolysis from lean and obese women: existence of postreceptor alterations. *Am J Physiol* 1995. 269:E341-50
- Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, Mannion JD, Diehl JT, Arafat H, Sarov-Blat L, O'Brien S, Keiper EA, Johnson AG, Martin J, Goldstein BJ, Shi Y. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation* 2003. 108:2460-6
- McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002. 51:7-18
- McGarry JD, Dobbins RL. Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion. *Diabetologia* 1999. 42:128-38
- Meirhaeghe A, Cotel D, Amouyel P, Dallongeville J. Lack of association between certain candidate gene polymorphisms and the metabolic syndrome. *Mol Genet Metab* 2005. 86:293-9
- Michaud SE, Renier G. Direct regulatory effect of fatty acids on macrophage lipoprotein lipase: potential role of PPARs. *Diabetes* 2001. 50:660-6



- Miles PD, Barak Y, He W, Evans RM, Olefsky JM. Improved insulin-sensitivity in mice heterozygous for PPAR-gamma deficiency. *J Clin Invest* 2000. 105:287-92
- Minamikawa J, Tanaka S, Yamauchi M, Inoue D, Koshiyama H. Potent inhibitory effect of troglitazone on carotid arterial wall thickness in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1998. 83:1818-20
- Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Muller C, Carling D, Kahn BB. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* 2002. 415:339-43
- Misra M, Miller KK, Almazan C, Ramaswamy K, Aggarwal A, Herzog DB, Neubauer G, Breu J, Klibanski A. Hormonal and body composition predictors of soluble leptin receptor, leptin, and free leptin index in adolescent girls with anorexia nervosa and controls and relation to insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004. 89:3486-95
- Mittelman SD, Van Citters GW, Kirkman EL, Bergman RN. Extreme insulin resistance of the central adipose depot in vivo. *Diabetes* 2002. 51:755-61
- Miyazaki Y, Glass L, Triplitt C, Matsuda M, Cusi K, Mahankali A, Mahankali S, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Effect of rosiglitazone on glucose and non-esterified fatty acid metabolism in Type II diabetic patients. *Diabetologia* 2001. 44:2210-9
- Miyazaki Y, Mahankali A, Wajsborg E, Bajaj M, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Effect of pioglitazone on circulating adipocytokine levels and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004. 89:4312-9
- Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppack SW. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997. 82:4196-200
- Montague CT, O'Rahilly S. The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes* 2000. 49:883-8
- Morange PE, Alessi MC, Verdier M, Casanova D, Magalon G, Juhan-Vague I. PAI-1 produced ex vivo by human adipose tissue is relevant to PAI-1 blood level. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999. 19:1361-5
- Moreno PR, Bernardi VH, Lopez-Cuellar J, Murcia AM, Palacios IF, Gold HK, Mehran R, Sharma SK, Nemerson Y, Fuster V, Fallon JT. Macrophages, smooth muscle cells, and tissue factor in unstable angina. Implications for cell-mediated thrombogenicity in acute coronary syndromes. *Circulation* 1996. 94:3090-7
- Morgan JF, Bolton J, Sedgwick PM, Patel S, Lacey JH, Conway GS. Changes in plasma concentrations of leptin and body fat composition during weight restoration in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1999. 84:2257
- Moses JW, Moussa I, Leon MB, Teirstein PS, Fish RD, Ellis SG, Nawas D, Kluck B, Giorgianni JA, Donohoe D, Kuntz RE. Effect of catheter-based iridium-192 gamma brachytherapy on the added risk of restenosis from diabetes mellitus after intervention for in-stent restenosis (subanalysis of the GAMMA I Randomized Trial). *Am J Cardiol* 2002. 90:243-7
- Motoshima H, Wu X, Sinha MK, Hardy VE, Rosato EL, Barbot DJ, Rosato FE, Goldstein BJ. Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab* 2002. 87:5662-7
- Mudra H, di Mario C, de Jaegere P, Figulla HR, Macaya C, Zahn R, Wennerblom B, Rutsch W, Voudris V, Regar E, Henneke KH, Schachinger V, Zeiher A. Randomized comparison of coronary stent implantation under ultrasound or angiographic guidance to reduce stent restenosis (OPTICUS Study). *Circulation* 2001. 104:1343-9

- Mulvihill NT, Boccalatte M, Foley JB. Inflammatory markers as predictors of clinical outcome in acute coronary syndromes. *Minerva Cardioangiol* 2002a. 50:653-9
- Mulvihill NT, Foley JB, Crean P, Walsh M. Prediction of cardiovascular risk using soluble cell adhesion molecules. *Eur Heart J* 2002b. 23:1569-74
- Mulvihill NT, Foley JB, Murphy RT, Curtin R, Crean PA, Walsh M. Risk stratification in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction using soluble cell adhesion molecules. *Heart* 2001. 85:623-7
- Murohara T, Horowitz JR, Silver M, Tsurumi Y, Chen D, Sullivan A, Isner JM. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation* 1998. 97:99-107
- Nagel T, Resnick N, Atkinson WJ, Dewey CF, Jr., Gimbrone MA, Jr. Shear stress selectively upregulates intercellular adhesion molecule-1 expression in cultured human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1994. 94:885-91
- Nesto RW, Bell D, Bonow RO, Fonseca V, Grundy SM, Horton ES, Le Winter M, Porte D, Semenkovich CF, Smith S, Young LH, Kahn R. Thiazolidinedione use, fluid retention, and congestive heart failure: a consensus statement from the American Heart Association and American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2004. 27:256-63
- Neve BP, Corseaux D, Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Duriez P, Staels B, Jude B. PPARalpha agonists inhibit tissue factor expression in human monocytes and macrophages. *Circulation* 2001. 103:207-12
- Nissen SE, Wolski K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2007. 356:2457-71
- Nolan JJ, Ludvik B, Beerdsen P, Joyce M, Olefsky J. Improvement in glucose tolerance and insulin resistance in obese subjects treated with troglitazone. *N Engl J Med* 1994. 331:1188-93
- Nomura S, Shouzu A, Omoto S, Nishikawa M, Fukuhara S. Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes. *Clin Exp Immunol* 2000. 121:437-43
- O'Brien KD, Allen MD, McDonald TO, Chait A, Harlan JM, Fishbein D, McCarty J, Ferguson M, Hudkins K, Benjamin CD, et al. Vascular cell adhesion molecule-1 is expressed in human coronary atherosclerotic plaques. Implications for the mode of progression of advanced coronary atherosclerosis. *J Clin Invest* 1993. 92:945-51
- O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997. 95:1126-31
- Ogihara T, Rakugi H, Ikegami H, Mikami H, Masuo K. Enhancement of insulin sensitivity by troglitazone lowers blood pressure in diabetic hypertensives. *Am J Hypertens* 1995. 8:316-20
- Okada T, Kawano Y, Sakakibara T, Hazeki O, Ui M. Essential role of phosphatidylinositol 3-kinase in insulin-induced glucose transport and antilipolysis in rat adipocytes. Studies with a selective inhibitor wortmannin. *J Biol Chem* 1994. 269:3568-73
- Olefsky JM. Treatment of insulin resistance with peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Clin Invest* 2000. 106:467-72
- Osawa H, Onuma H, Murakami A, Ochi M, Nishimiya T, Kato K, Shimizu I, Fujii Y, Ohashi J, Makino H. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the resistin gene: the absence of evidence for the association of three identified single nucleotide polymorphisms with Japanese type 2 diabetes. *Diabetes* 2002. 51:863-6
- Osman A, Otero J, Brizolar A, Waxman S, Stouffer G, Fitzgerald P, Uretsky BF. Effect of rosiglitazone on restenosis after coronary stenting in patients with type 2 diabetes. *Am Heart J* 2004. 147:e23

- Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999. 100:2473-6
- Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001. 103:1057-63
- Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000. 102:1296-301
- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol* 2003a. 14:561-6
- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, Okamoto Y, Ohashi K, Nagaretani H, Kishida K, Nishizawa H, Maeda N, Kobayashi H, Hiraoka H, Matsuzawa Y. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003b. 107:671-4
- 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. 46:983-8
- Pannacciulli N, Vettor R, Milan G, Granzotto M, Catucci A, Federspil G, De Giacomo P, Giorgino R, De Pergola G. Anorexia nervosa is characterized by increased adiponectin plasma levels and reduced nonoxidative glucose metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2003. 88:1748-52
- Paquot N, Tappy L. [Adipocytokines: link between obesity, type 2 diabetes and atherosclerosis]. *Rev Med Liege* 2005. 60:369-73
- Pasceri V, Wu HD, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of vascular inflammation in vitro and in vivo by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators. *Circulation* 2000. 101:235-8
- Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, Macphee CH, Smith SA. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003. 300:472-6
- Peraldi P, Xu M, Spiegelman BM. Thiazolidinediones block tumor necrosis factor-alpha-induced inhibition of insulin signaling. *J Clin Invest* 1997. 100:1863-9
- 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. 48:1600-6
- Peter K, Nawroth P, Conradt C, Nordt T, Weiss T, Boehme M, Wunsch A, Allenberg J, Kubler W, Bode C. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and thrombomodulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997. 17:505-12
- Pickavance L, Widdowson PS, King P, Ishii S, Tanaka H, Williams G. The development of overt diabetes in young Zucker Diabetic Fatty (ZDF) rats and the effects of chronic MCC-555 treatment. *Br J Pharmacol* 1998. 125:767-70

- Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia* 1998. 41:1241-8
- Pischon T, Bamberger CM, Kratzsch J, Zyriax BC, Algenstaedt P, Boeing H, Windler E. Association of plasma resistin levels with coronary heart disease in women. *Obes Res* 2005. 13:1764-71
- Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004. 291:1730-7
- Pistrosch F, Passauer J, Fischer S, Fuecker K, Hanefeld M, Gross P. In type 2 diabetes, rosiglitazone therapy for insulin resistance ameliorates endothelial dysfunction independent of glucose control. *Diabetes Care* 2004. 27:484-90
- Plutzky J. Peroxisome proliferator-activated receptors as therapeutic targets in inflammation. *J Am Coll Cardiol* 2003. 42:1764-6
- Poredos P. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002. 32:274-7
- Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS, Mouton CP, Rifai N, Wallace RB, Jackson RD, Pettinger MB, Ridker PM. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA* 2002a. 288:980-7
- Pradhan AD, Rifai N, Ridker PM. Soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble vascular adhesion molecule-1, and the development of symptomatic peripheral arterial disease in men. *Circulation* 2002b. 106:820-5
- Punyadeera C, Zorenc AH, Koopman R, McAinch AJ, Smit E, Manders R, Keizer HA, Cameron-Smith D, van Loon LJ. The effects of exercise and adipose tissue lipolysis on plasma adiponectin concentration and adiponectin receptor expression in human skeletal muscle. *Eur J Endocrinol* 2005. 152:427-36
- Rader DJ. Inflammatory markers of coronary risk. *N Engl J Med* 2000. 343:1179-82
- Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963. 1:785-9
- Raskin P, Rendell M, Riddle MC, Dole JF, Freed MI, Rosenstock J. A randomized trial of rosiglitazone therapy in patients with inadequately controlled insulin-treated type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001. 24:1226-32
- Ravussin E, Smith SR. Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 2002. 967:363-78
- Reaven G. Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation* 2002. 106:286-8
- Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988. 37:1595-607
- Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005. 111:932-9
- Reusch JE. Current concepts in insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2002. 90:19G-26G
- Ricote M, Huang JT, Welch JS, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor(PPARgamma) as a regulator of monocyte/macrophage function. *J Leukoc Biol* 1999. 66:733-9
- Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998. 391:79-82

- Ricote M, Welch JS, Glass CK. Regulation of macrophage gene expression by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Horm Res* 2000. 54:275-80
- Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008. 359:2195-207
- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000a. 342:836-43
- Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998. 351:88-92
- Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000b. 101:1767-72
- Roden M, Stingl H, Chandramouli V, Schumann WC, Hofer A, Landau BR, Nowotny P, Waldhausl W, Shulman GI. Effects of free fatty acid elevation on postabsorptive endogenous glucose production and gluconeogenesis in humans. *Diabetes* 2000. 49:701-7
- Romano M, Sironi M, Toniatti C, Polentarutti N, Fruscella P, Ghezzi P, Faggioni R, Luini W, van Hinsbergh V, Sozzani S, Bussolino F, Poli V, Ciliberto G, Mantovani A. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity* 1997. 6:315-25
- Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006. 64:355-65
- Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999. 340:115-26
- Saltiel AR, Olefsky JM. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes* 1996. 45:1661-9
- Sandler S, Bendtzen K, Eizirik DL, Strandell E, Welsh M, Welsh N. Metabolism and beta-cell function of rat pancreatic islets exposed to human interleukin-1 beta in the presence of a high glucose concentration. *Immunol Lett* 1990. 26:245-51
- Santomauro AT, Boden G, Silva ME, Rocha DM, Santos RF, Ursich MJ, Strassmann PG, Wajchenberg BL. Overnight lowering of free fatty acids with Acipimox improves insulin resistance and glucose tolerance in obese diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes* 1999. 48:1836-41
- Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003. 100:7265-70
- Sasaki S, Higashi Y, Nakagawa K, Kimura M, Noma K, Sasaki S, Hara K, Matsuura H, Goto C, Oshima T, Chayama K. A low-calorie diet improves endothelium-dependent vasodilation in obese patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2002. 15:302-9
- Satoh H, Tsukamoto K, Hashimoto Y, Hashimoto N, Togo M, Hara M, Maekawa H, Isoo N, Kimura S, Watanabe T. Thiazolidinediones suppress endothelin-1 secretion from bovine vascular endothelial cells: a new possible role of PPARgamma on vascular endothelial function. *Biochem Biophys Res Commun* 1999. 254:757-63
- Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, O'Rahilly S. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes* 2001. 50:2199-202

- Sciacqua A, Candigliota M, Ceravolo R, Scozzafava A, Sinopoli F, Corsonello A, Sesti G, Perticone F. Weight loss in combination with physical activity improves endothelial dysfunction in human obesity. *Diabetes Care* 2003. 26:1673-8
- 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. 87:3023-8
- Sessa WC. The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res* 1994. 31:131-43
- Shankar SS, Steinberg HO. Obesity and endothelial dysfunction. *Semin Vasc Med* 2005. 5:56-64
- Shimada K, Miyazaki T, Daida H. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta* 2004. 344:1-12
- Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, Maeda K, Kotani K, Nakamura T, Yamashita S, Miura M, Fukuda Y, Takemura K, Tokunaga K, Matsuzawa Y. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med* 1996. 2:800-3
- Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000. 106:171-6
- Schaffler A, Buchler C, Muller-Ladner U, Herfarth H, Ehling A, Paul G, Scholmerich J, Zietz B. Identification of variables influencing resistin serum levels in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 2004. 36:702-7
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995. 270:26746-9
- Schneider BS, Faust IM, Hemmes R, Hirsch J. Effects of altered adipose tissue morphology on plasma insulin levels in the rat. *Am J Physiol* 1981. 240:E358-62
- Schnitzer JE, Liu J, Oh P. Endothelial caveolae have the molecular transport machinery for vesicle budding, docking, and fusion including VAMP, NSF, SNAP, annexins, and GTPases. *J Biol Chem* 1995. 270:14399-404
- Schofer J, Schluter M, Rau T, Hammer F, Haag N, Mathey DG. Influence of treatment modality on angiographic outcome after coronary stenting in diabetic patients: a controlled study. *J Am Coll Cardiol* 2000. 35:1554-9
- Sixma JJ, van Zanten GH, Huizinga EG, van der Plas RM, Verkley M, Wu YP, Gros P, de Groot PG. Platelet adhesion to collagen: an update. *Thromb Haemost* 1997. 78:434-8
- Skurk T, Hauner H. Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004. 28:1357-64
- Smith SC, Jr., Blair SN, Bonow RO, Brass LM, Cerqueira MD, Dracup K, Fuster V, Gotto A, Grundy SM, Miller NH, Jacobs A, Jones D, Krauss RM, Mosca L, Ockene I, Pasternak RC, Pearson T, Pfeffer MA, Starke RD, Taubert KA. AHA/ACC Guidelines for Preventing Heart Attack and Death in Patients With Atherosclerotic Cardiovascular Disease: 2001 update. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol* 2001. 38:1581-3
- Smith SR, Zachwieja JJ. Visceral adipose tissue: a critical review of intervention strategies. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999. 23:329-35
- Southern C, Schulster D, Green IC. Inhibition of insulin secretion from rat islets of Langerhans by interleukin-6. An effect distinct from that of interleukin-1. *Biochem J* 1990. 272:243-5
- Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 1998. 98:2088-93

- Steensberg A, van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Klarlund Pedersen B. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol* 2000. 529 Pt 1:237-42
- Stehouwer CD, Gall MA, Twisk JW, Knudsen E, Emeis JJ, Parving HH. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes* 2002. 51:1157-65
- Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S, Folts JD. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999. 100:1050-5
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001a. 409:307-12
- Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY, Enders GH, Silberg DG, Wen X, Wu GD, Lazar MA. A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001b. 98:502-6
- Stevens RJ, Douglas KM, Saratzis AN, Kitas GD. Inflammation and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Expert Rev Mol Med* 2005. 7:1-24
- Stvrtinova V, Ferencik M, Hulin I, Jahnova E. [Vascular endothelium as a factor in information transfer between the cardiovascular and immune systems]. *Bratisl Lek Listy* 1998. 99:5-19
- Sunden-Cullberg J, Nystrom T, Lee ML, Mullins GE, Tokics L, Andersson J, Norrby-Teglund A, Treutiger CJ. Pronounced elevation of resistin correlates with severity of disease in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2007. 35:1536-42
- Sung BH, Izzo JL, Jr., Dandona P, Wilson MF. Vasodilatory effects of troglitazone improve blood pressure at rest and during mental stress in type 2 diabetes mellitus. *Hypertension* 1999. 34:83-8
- Svačina Š. 2007. *Hypertenze při obezitě a diabetu* 2007. Praha: Triton. 136 pp.
- Szapary PO, Bloedon LT, Samaha FF, Duffy D, Wolfe ML, Soffer D, Reilly MP, Chittams J, Rader DJ. Effects of pioglitazone on lipoproteins, inflammatory markers, and adipokines in nondiabetic patients with metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006. 26:182-8
- Tack CJ, Ong MK, Lutterman JA, Smits P. Insulin-induced vasodilatation and endothelial function in obesity/insulin resistance. Effects of troglitazone. *Diabetologia* 1998a. 41:569-76
- Tack CJ, Smits P, Demacker PN, Stalenhoef AF. Troglitazone decreases the proportion of small, dense LDL and increases the resistance of LDL to oxidation in obese subjects. *Diabetes Care* 1998b. 21:796-9
- Tafari SR. Troglitazone enhances differentiation, basal glucose uptake, and Glut1 protein levels in 3T3-L1 adipocytes. *Endocrinology* 1996. 137:4706-12
- Tagami T, Satoh N, Usui T, Yamada K, Shimatsu A, Kuzuya H. Adiponectin in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2004. 89:1833-7
- Takagi T, Akasaka T, Yamamuro A, Honda Y, Hozumi T, Morioka S, Yoshida K. Troglitazone reduces neointimal tissue proliferation after coronary stent implantation in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus: a serial intravascular ultrasound study. *J Am Coll Cardiol* 2000. 36:1529-35
- Takagi T, Yamamuro A, Tamita K, Yamabe K, Katayama M, Mizoguchi S, Ibuki M, Tani T, Tanabe K, Nagai K, Shiratori K, Morioka S, Yoshikawa J. Pioglitazone reduces neointimal tissue proliferation after coronary stent implantation in patients with type

- 2 diabetes mellitus: an intravascular ultrasound scanning study. *Am Heart J* 2003. 146:E5
- Takagi T, Yamamuro A, Tamita K, Yamabe K, Katayama M, Morioka S, Akasaka T, Yoshida K. Impact of troglitazone on coronary stent implantation using small stents in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2002. 89:318-22
- Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001. 21:1712-9
- Tan GD, Fielding BA, Currie JM, Humphreys SM, Desage M, Frayn KN, Laville M, Vidal H, Karpe F. The effects of rosiglitazone on fatty acid and triglyceride metabolism in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2005. 48:83-95
- Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 1995. 332:635-41
- Toborek M, Barger SW, Mattson MP, Barve S, McClain CJ, Hennig B. Linoleic acid and TNF-alpha cross-amplify oxidative injury and dysfunction of endothelial cells. *J Lipid Res* 1996. 37:123-35
- Toborek M, Kaiser S. Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis. *Basic Res Cardiol* 1999. 94:295-314
- Tomas E, Tsao TS, Saha AK, Murrey HE, Zhang Cc C, Itani SI, Lodish HF, Ruderman NB. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002. 99:16309-13
- Trayhurn P. Adipose tissue in obesity--an inflammatory issue. *Endocrinology* 2005. 146:1003-5
- Tsikouris JP, Suarez JA, Meyerrose GE. Plasminogen activator inhibitor-1: physiologic role, regulation, and the influence of common pharmacologic agents. *J Clin Pharmacol* 2002. 42:1187-99
- Ukkola O. Resistin - a mediator of obesity-associated insulin resistance or an innocent bystander? *Eur J Endocrinol* 2002. 147:571-4
- Unger RH, Zhou YT. Lipotoxicity of beta-cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover. *Diabetes* 2001. 50 Suppl 1:S118-21
- Utzschneider KM, Carr DB, Tong J, Wallace TM, Hull RL, Zraika S, Xiao Q, Mistry JS, Retzlaff BM, Knopp RH, Kahn SE. Resistin is not associated with insulin sensitivity or the metabolic syndrome in humans. *Diabetologia* 2005. 48:2330-3
- Valsamakis G, McTernan PG, Chetty R, Al Daghri N, Field A, Hanif W, Barnett AH, Kumar S. Modest weight loss and reduction in waist circumference after medical treatment are associated with favorable changes in serum adipocytokines. *Metabolism* 2004. 53:430-4
- Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* 2006. 444:875-80
- Van Harmelen V, Reynisdottir S, Eriksson P, Thorne A, Hoffstedt J, Lonnqvist F, Arner P. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. *Diabetes* 1998. 47:913-7
- Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, Molina A, Gomez JM, Gutierrez C, Simon I, Soler J, Richart C. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res* 2004. 12:962-71
- Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002. 105:546-9
- Vogel RA. Cholesterol lowering and endothelial function. *Am J Med* 1999. 107:479-87



- Vuong PT, Malik AB, Nagpala PG, Lum H. Protein kinase C beta modulates thrombin-induced Ca<sup>2+</sup> signaling and endothelial permeability increase. *J Cell Physiol* 1998. 175:379-87
- Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2000. 21:697-738
- Wang H, Chu WS, Hemphill C, Elbein SC. Human resistin gene: molecular scanning and evaluation of association with insulin sensitivity and type 2 diabetes in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 2002. 87:2520-4
- Wang TD, Chen WJ, Lin JW, Chen MF, Lee YT. Effects of rosiglitazone on endothelial function, C-reactive protein, and components of the metabolic syndrome in nondiabetic patients with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2004. 93:362-5
- Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med* 1990. 113:909-15
- Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension* 2004. 44:381-6
- Watanabe Y, Sunayama S, Shimada K, Sawano M, Hoshi S, Iwama Y, Mokuno H, Daida H, Yamaguchi H. Troglitazone improves endothelial dysfunction in patients with insulin resistance. *J Atheroscler Thromb* 2000. 7:159-63
- Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003. 112:1796-808
- 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. 362:951-7
- Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003. 112:1785-8
- Weyer C, Foley JE, Bogardus C, Tataranni PA, Pratley RE. Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts type II diabetes independent of insulin resistance. *Diabetologia* 2000. 43:1498-506
- Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001a. 86:1930-5
- Weyer C, Wolford JK, Hanson RL, Foley JE, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley RE. Subcutaneous abdominal adipocyte size, a predictor of type 2 diabetes, is linked to chromosome 1q21--q23 and is associated with a common polymorphism in LMNA in Pima Indians. *Mol Genet Metab* 2001b. 72:231-8
- Williams B, Baker AQ, Gallacher B, Lodwick D. Angiotensin II increases vascular permeability factor gene expression by human vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1995. 25:913-7
- Williamson JR, Kreisberg RA, Felts PW. Mechanism for the stimulation of gluconeogenesis by fatty acids in perfused rat liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1966. 56:247-54
- Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 2004. 15:2792-800
- Woods A, Brull DJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J* 2000. 21:1574-83

- Wurch T, Junquero D, Delhon A, Pauwels J. Pharmacological analysis of wild-type alpha, gamma and delta subtypes of the human peroxisome proliferator-activated receptor. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2002. 365:133-40
- Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003. 112:1821-30
- Yamauchi T, Hara K, Miki H, Kadowaki T. [The mechanisms by which PPAR gamma regulates fat storage and insulin sensitivity]. *Nippon Rinsho* 2001a. 59 Suppl 2:489-97
- Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002. 8:1288-95
- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med* 2001b. 7:941-6
- Yang WS, Jeng CY, Wu TJ, Tanaka S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Wang JP, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2002. 25:376-80
- Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001. 86:3815-9
- Ye JM, Doyle PJ, Iglesias MA, Watson DG, Cooney GJ, Kraegen EW. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha activation lowers muscle lipids and improves insulin sensitivity in high fat-fed rats: comparison with PPAR-gamma activation. *Diabetes* 2001. 50:411-7
- Young PW, Cawthorne MA, Coyle PJ, Holder JC, Holman GD, Kozka IJ, Kirkham DM, Lister CA, Smith SA. Repeat treatment of obese mice with BRL 49653, a new potent insulin sensitizer, enhances insulin action in white adipocytes. Association with increased insulin binding and cell-surface GLUT4 as measured by photoaffinity labeling. *Diabetes* 1995. 44:1087-92
- Yu JG, Javorschi S, Hevener AL, Kruszynska YT, Norman RA, Sinha M, Olefsky JM. The effect of thiazolidinediones on plasma adiponectin levels in normal, obese, and type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 2002. 51:2968-74
- Yusuf S, Lonn E. Anti-ischaemic effects of ACE inhibitors: review of current clinical evidence and ongoing clinical trials. *Eur Heart J* 1998. 19 Suppl J:J36-44
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994. 372:425-32
- Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, D'Andrea F, Molinari AM, Giugliano D. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* 2002. 105:804-9

## 12. SEZNAM VLASTNÍCH PUBLIKACÍ

### Původní práce publikované v impaktovaných časopisech:

#### Práce které jsou podkladem dizertace:

Doležalová R., Haluzík M., Bošanská L., Lacinová Z., Štulc T., Haluzík M.: **Effect of PPAR-gama agonist treatment on markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus.** *Physiol. Res.* 2007; 56: 741-748. (IF 2,093), dosud citováno 3 x dle ISI Web of Knowledge

Doležalová R., Lacinová Z., Dolinková M., Kleiblová P., Haluzíková D., Housa D., Papežová H., Haluzík M.: **Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: comparison of circulating levels versus subcutaneous mRNA expression.** *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007 Nov; 67(5): 674-8. (IF 3.358), dosud citováno 7 x dle ISI Web of Knowledge

Celkový počet citací autorky: 37

#### Další původní práce v impaktovaných časopisech:

Anderlová K., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Haluzíková D., Kunešová M., Haluzík M.: **The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women.** *Physiol Res.* 2006; 55(3):277-83 (IF 2,093)

Anderlová K., Doležalová R., Housová J., Bošanská L., Haluzíková D., Křemen J., Škrha J., Haluzík M.: **The influence of ppar- alfa agonist fenofibrate on insulin sensitivity and selected adipose tissue-derived hormones in obese women with type 2 diabetes.** *Physiol Res.* 2007; 56(5):579-86 (IF 2,093)

Haluzík MM., Anderlová K., Doležalová R., Adamíková A., Haluzíková D., Housová J., Svačina Š., Haluzík M. **Serum adipocyte fatty acid binding protein levels in patients with type 2 diabetes mellitus and obesity: the influence of fenofibrate treatment.** *Physiol Res.* 2009; 58(1):93-9 (IF 2,093)

Chytilová E., Malík J., Kasalová Z., Doležalová R., Štulc T., Česka R. **Lower wall shear rate of the common carotid artery in treated type 2 diabetes mellitus with metabolic syndrome.** *Physiol Res.* 2009; 58(2):185-91 (IF 2,093)

Křížová J., Dolinková M., Lacinová Z., Sulek Š., Doležalová R., Housová J., Krajičková J., Haluzíková D., Bošanská L., Papežová H., Haluzík M.: **Adiponectin and resistin gene polymorphisms in patients with anorexia nervosa and obesity and its influence on metabolic phenotype.** *Physiol Res.* 2008;57(4):539-46 (IF 2,093)

Štulc T., Kasalová Z., Krejčí H., Doležalová R., Česka R.: **Effect of rosiglitazone on homocysteine and creatinine levels in patients with type 2 diabetes.** *Letter to Editor, Atherosclerosis* 183 (2005) 367-368 (IF 3,777)

#### Ostatní původní práce:

Dolinková M., Křížová J., Lacinová Z., Doležalová R., Housová J., Krajičková J., Bošanská L., Papežová H., Haluzík M.: **Polymorphisms of adiponectin and resistin genes in patients with obesity and anorexia nervosa.** *Čas. Lék. čes.*, 2006, 145, p. 562–566

**Přehledné články:**

Doležalová R., Haluzík M.: **Metabolický syndrom a fyzická aktivita.** Trendy soudobé diabetologie. 2005, svazek 10

Doležalová R., Haluzík M.: **Metabolický syndrom a fyzická aktivita.** DMEV 2006, 2:63-68

**Anderlová K., Doležalová R., Haluzík M.:** PPAR- $\alpha$  a inzulínová rezistence. **DMEV 2006 1:15-20**

**Abstrakta:**

Doležalová R.: **Vliv VLCD na tukovou tkáň.** XII. kongres ČIS Praha, 10/2005

Doležalová R., Housová J., Anderlová K., Křížová J., Haluzíková D., Křemen J., Papežová H., Haluzík M.: **Serum adiponectin and resistin concentrations in patients with obesity and anorexia nervosa: relationship to nutritional status.** V. mezinárodní a mezioborová konference o poruchách příjmu potravy, Praha, 03/2005

Doležalová R., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na markery endoteliální dysfunkce u obézních žen a úloha endokrinní funkce tukové tkáně v tomto procesu.** 7. SVK, Praha, 5/2006

Doležalová R., Anderlová K., Housová J., Bošanská L., Haluzíková D., Křemen J., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na markery endoteliální dysfunkce u obézních žen: možný podíl endokrinní funkce tukové tkáně.** 42. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2006

Doležalová R., Anderlová K., Housová J., Bošanská L., Škrha J., Haluzík M.: **The influence of PPAR- $\alpha$  agonist treatment on insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes: the role of resistin and adiponectin.** 42nd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Kodaň/Malmö, Dánsko/Švédsko, 9/2006

Doležalová R., Anderlová K., Housová J., Bošanská L., Kaválková P., Haluzíková D., Křemen J., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na markery endoteliální dysfunkce u obézních žen: možná úloha endokrinní funkce tukové tkáně.** Celostátní konference se zahraniční účastí Obezitologie, Brno, 11/2006

Doležalová R., Lacinová Z., Dolinková M., Kleiblová P., Haluzíková D., Mráz M., Housa D., Housová J., Papežová H., Haluzík M.: **Vliv chronické malnutrice u pacientek s mentální anorexií na endokrinní funkci tukové tkáně: disociace sérových koncentrací adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni.** VI. mezinárodní a mezioborová konference o poruchách příjmu potravy, Praha, 3/2007

Doležalová R., Lacinová Z., Dolinková M., Kleiblová P., Haluzíková D., Mráz M., Housa D., Housová J., Papežová H., Haluzík M.: **Vliv chronické malnutrice u pacientek s mentální anorexií na endokrinní funkci tukové tkáně: disociace sérových koncentrací adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni.** 43. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2007

Doležalová R., Lacinová Z., Dolinková M., Kleiblová P., Haluzíková D., Mráz M., Housa D., Housová J., Papežová H., Haluzík M.: **Changes of endocrine function of adipose**

**tissue in anorexia nervosa: dissociation of circulating adipokine levels vs. subcutaneous mRNA expression.** 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Amsterdam, Nizozemí, 9/2007

Anderlová K., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Haluzíková D., Kunešová M., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace leptinu, adiponectinu a rezistinu u obézních žen.** 41. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2005

Anderlová K., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Haluzíková D., Kunešová M., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace leptinu, adiponectinu a rezistinu u obézních žen.** Dny mladých internistů, Olomouc, 05/2005

Anderlová K., Doležalová R., Housová R., Bošanská L., Jahodová J., Pavlovičová R., Houdek Z., Škrha J., Haluzík M.: **Vliv PPAR- $\alpha$  agonistů na inzulinovou senzitivitu.** 42. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2006

Antošová M., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Límanová Z., Kotrlíková E., Jiskra J.: **Nepoznaná primární hyperparatyreóza jako příčina chronické pankreatitidy.** 3. hradecký postgraduální kurz v endokrinologii, 5/2006

Bošanská L., Anderlová K., Doležalová R., Housová J., Jahodová J., Pavlovičová R., Škrha J., Haluzík M.: **Vliv PPAR- $\alpha$  agonistů na inzulinovou senzitivitu.** XXV. Dny mladých internistů, Martin, 5/2006

Bošanská L., Anderlová K., Doležalová R., Housová J., Jahodová J., Pavlovičová R., Škrha J., Haluzík M.: **Vliv PPAR- $\alpha$  agonistů na inzulinovou senzitivitu.** 7. SVK, Praha, 5/2006

Bošanská L., Lacinová Z., Doležalová R., Dolinková M., Mráz M., Roubíček T., Křemen M., Haluzíková D., Matoulek M., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhesivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.** XXVI. Dny mladých internistů, Olomouc, 5/2007

Bošanská L., Lacinová Z., Doležalová R., Jahodová J., Pavlovičová R., Čechová M., Haluzík M.: **Změny exprese cytoadhezivních molekul ve viscerální a subkutánní tukové tkáni obézních žen.** 43. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2007

Bošanská L., Lacinová Z., Doležalová R., Dolinková M., Mráz M., Roubíček T., Křemen M., Haluzíková D., Matoulek M., Haluzík M.: **Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhesivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.** 8. SVK Praha, 5/2007

Bošanská L., Lacinová Z., Doležalová R., Čechová M., Haluzík M.: **Changes of adhesion molecules plasma concentrations and their expression in adipose tissue in obese women.** 6th Congress European Federation of Internal Medicine - EFIM, Lisabon, Portugalsko, 2007

Dobiášová M., Vrablík M., Štulc T., Doležalová R., Kasalová Z., Zlatohlávek L., Češka R.: **Rosiglitazone and fenofibrate improve HDL metabolism assessed by FERHDL.** 77th Congress of the European Atherosclerosis Society, Istanbul, Turecko, 4/2008

Haluzík M., Doležalová R., Kleiblová P., Anderlová K., Křemen J., Haluzíková D., Papežová H., Lacinová Z.: **Vliv morbidní obezity a mentální anorexie na sérové koncentrace a genovou expresi adiponektinu a jeho receptoru.** XXVIII. Endokrinologické dny, Olomouc, 10/2005

Haluzík M., Anderlová K., Haluzíková D., Křemen J., Doležalová R., Housová J., Kunešová M., Lacinová Z.: **The influence of very-low-caloric-diet on serum adiponectin and resistin levels in obese women.** 3rd World Congress on Insulin Resistance Syndrome. San Francisco, USA, 11/2005

Haluzík M., Bošanská L., Haluzíková D., Doležalová R., Roubíček T., Mráz M., Dolinková M., Matoulek M., Lacinová Z.: **The influence of very low calorie diet on serum concentrations and subcutaneous mRNA expression of endothelial cell adhesion molecules in obese, insulin-resistant women.** 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Amsterdam, Nizozemí, 9/2007

Haluzíková D., Doležalová R., Haluzík M., Bošanská L., Dolinková M., Lacinová Z., Štulc T.: **Effect of PPAR-gamma agonist treatment on markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus.** Diabetes and Vascular Disease Research, Velká Británie, 1479-1641. 2006, 3, s. 1130-1130. 4th Annual World Congress on Insulin Resistance Syndrome, Las Vegas, USA, 10/2006

Housová J., Doležalová R., Křížová J., Anderlová K., Křemen J., Haluzíková D., Papežová H., Jahodová J., Kleiblová P., Haluzík M.: **Expresie hormonů tukové tkáně u morbidně obézních pacientek a pacientek s mentální anorexií.** 41. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2005

Chytilová E., Malík J., Kasalová Z., Doležalová R., Štulc T.: **Diabetes mellitus 2. typu je spojen s nižší hodnotou smykové rychlosti ve společné karotidě.** X. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2006

Chytilová E., Malík J., Kasalová Z., Doležalová R., Štulc T., Tuka V.: **Elastické vlastnosti stěny společných karotid u diabetiků.** X. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2006

Chytilová E., Kasalová Z., Malík J., Doležalová R., Štulc T., Češka R.: **Adequately treated type 2 diabetes is associated with lower wall shear rate of the common carotid artery.** Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology Annual Conference, Chicago, USA, 4/2007

Chytilová E., Malík J., Kasalová Z., Doležalová R., Housová J., Štulc T.: **Adequately treated type 2 diabetes is associated with lower wall shear rate of the common carotid artery.** 76 th Congress of the European Atherosclerosis Society, Helsinki, Finsko, 6/2007

Jiskra J., Antošová M., Křemen J., Doležalová R., Kotlíková E.: **Myxedémové koma.** 3. hradecký postgraduální kurz v endokrinologii, 5/2006

Jiskra J., Kotlíková E., Křemen J., Doležalová R., Antošová M., Límanová Z.: **Myxedémové kóma – víme jak ho správně diagnostikovat a léčit?** XXIII. kongres SKVIMP, Hradec Králové, 3/2007

Kasalová Z., Štulc T., Krejčí H., Doležalová R., Perušičová J., Češka R.: **Vliv rosiglitazonu na hladinu homocysteinu a kreatininu u pacientů s diabetes mellitus 2.typu.** 41. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2005

Kasalová Z., Prázný M., Doležalová R., Krejčí H., Perušičová J., Malík J., Štulc T., Vopálková L.: **Účinek rosiglitazonu na mikrovaskulární reaktivitu u diabetes mellitus 2.typu.** 41. diabetologické dny, Luhačovice, 4/2005

Křemen J., Bláha J., Ellmerer M., Lindner J., Pieber T.R., Kopecký P., Božanská L., Suppan M., Kotrlíková E., Jiskra J., Doležalová R., Svačina Š., Bodenlenz M., Mader J., Haluzík M.: **Srovnání arteriálních a intersticiálních koncentrací glukózy u pacientů v kritickém stavu.** XXIII. kongres SKVIMP, Hradec Králové, 3/2007

Malík J., Kasalová Z., Štulc T., Doležalová R., Šimek J., Housová J., Škrha J.: **Autonomní dysfunkce u diabetiků 2. typu a vliv rosiglitazonu.** IX. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2005

Svobodová H., Štulc T., Kasalová Z., Doležalová R., Krejčí H., Marinov I., Češka R.: **Vliv rosiglitazonu na leukocytární expresi prozánětlivých a protrombogenních molekul u diabetiků.** IX. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2005

Svobodová H., Štulc T., Kasalová Z., Doležalová R., Krejčí H., Marinov I., Češka R.: **Effect of rosiglitazone on leukocyte expression of proinflammatory and prothrombotic molecules in patients with type 2 diabetes.** 76 th Congress of the European Atherosclerosis Society, Helsinki, Finsko, 6/2007

Štulc T., Kasalová Z., Doležalová R., Krejčí H., Melenovský V., Malík J., Kožich V., Češka R.: **Receptory PPAR, homocystein a renální funkce.** IX. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 12/2005

**Ostatní:**

Doležalová R., Křemen J., Svačina Š., Haluzík M.: **Our Experience With 6th EU Framework Projects CLINICIP and HEALTH+ in Obesity Research and Treatment.** CEC-IDF Meeting, Belgrade, Serbia, 11/2006

## 13. PŘÍLOHY

### 13.1. Kopie vlastních publikací v odborných časopisech

Effect of PPAR- $\gamma$  agonist treatment on markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus

Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: comparison of circulating levels versus subcutaneous mRNA expression

### 13.2. Prohlášení autorky

### 13.3. Identifikační záznam s abstrakty a klíčovými slovy































### **13.2. Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby tato závěrečná práce byla archivována v Ústavu vědeckých informací 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a zde užívána ke studijním účelům. Za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repozitáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze.

Souhlasím.

V Praze, 14. května 2010

MUDr. Radka Doležalová

### **13.3. Identifikační záznam:**

DOLEŽALOVÁ , Radka. *Úloha tukové tkáně při rozvoji endoteliální dysfunkce, aterosklerózy a dalších komplikací metabolického syndromu: vliv dietních a farmakologických intervencí.* [The role of adipose tissue in endothelial dysfunction, atherosclerosis and other complications of metabolic syndrome: influence of diet and pharmacotherapy. Praha, 2010. 112 s. 4 přílohy. Dizertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, 3. interní klinika. Vedoucí práce Haluzík, Martin.

#### **Abstrakt:**

Dizertační práce je zaměřena na studium úlohy tukové tkáně při rozvoji endoteliální dysfunkce a aterosklerózy. V první části jsme se zabývali hodnocením vlivu terapie PPAR- $\gamma$  agonistou rosiglitazonem na vybrané metabolické parametry a markery endoteliální dysfunkce u pacientů s diabetes mellitus 2. typu. Pětiměsíční podávání rosiglitazonu vedlo kromě zlepšení kompenzace diabetu k poklesu hladin některých cirkulujících markerů endoteliální dysfunkce. Tento efekt může být do určité míry důsledkem vzestupu koncentrací antiaterogenně působícího adiponektinu. V druhé části jsme studovali vliv chronické malnutrice u pacientek s mentální anorexií na endokrinní funkci tukové tkáně srovnáním koncentrací vybraných cirkulujících adipokinů a jejich exprese v podkožní tukové tkáni. Změny adipocytární exprese mRNA pro adiponektin, rezistin a IL-6 se u pacientek s mentální anorexií neodrazilily ve změnách sérových koncentrací těchto adipokinů. Lze předpokládat, že se změny v lokální produkci určitých adipokinů mohou podílet na rozvoji některých metabolických odchylek v subkutánní tukové tkáni a pacientů s mentální anorexií.

#### **Abstract:**

The doctoral dissertation is focused on the role of adipose tissue in endothelial dysfunction and atherosclerosis. In the first part we tested the effect of rosiglitazone treatment on selected metabolic and hormonal parameters in patients with type 2 diabetes mellitus. We showed that activation of PPAR- $\gamma$  by rosiglitazone improved diabetes compensation and led to decrease of circulating markers of endothelial dysfunction. The beneficial effect on endothelial dysfunction can very likely be partially explained by increased circulating levels of anti-atherogenic hormone adiponectin. In the second part studied the influence of chronic malnutrition in patients with anorexia nervosa on endocrine function of adipose tissue on

both circulating and subcutaneous fat mRNA expression level. We concluded, that local perturbations in resistin, adiponectin and interleukin-6 mRNA expression in subcutaneous adipose tissue were not reflected by its circulating levels. These changes could be involved in some local metabolic disturbances in subcutaneous adipose tissue of anorexia nervosa patients.

**Klíčová slova:**

Tuková tkáň – Metabolický syndrom - Obezita - Diabetes mellitus 2. typu – Endoteliální dysfunkce – Thiazolidindiony – Adipocytární hormony – Mentální anorexie  
Adipose tissue – Metabolic syndrome - Obesity – Type 2 diabetes mellitus– Endothelial dysfunction – Adipocyte-derived hormones – Anorexia nervosa