

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta



Dizertační práce

**Endokrinní funkce tukové tkáně:
úloha při vzniku a rozvoji
komplikací aterosklerózy**

MUDr. Lenka Bošanská

Školitel: Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

Praha 2009

Poděkování

Úvodem bych ráda poděkovala svému školiteli prof. MUDr. Martinovi Haluzíkovi, DrSc., za vedení mé doktorandské práce a podněty při vypracování dizertační práce. Zároveň bych chtěla poděkovat prof. MUDr. Štěpánovi Svačinovi, DrSc, MBA, který mi jako přednosta 3. interní kliniky 1. LF UK a VFN vytvořil vynikající podmínky k postgraduálnímu studiu a k získávání nových poznatků při mé práci. Děkuji také celému kolektivu laboratorních pracovníků, RNDr. Zence Lacinové, Mgr. Markétě Bártlové, RNDr. Ivaně Dostálové, PhD, Jitce Jahodové a Renatě Pavlovičové za pomoc při laboratorním zpracování vzorků a při přípravě publikací, a doc. MUDr. Mojmírovi Kasalickému, CSc. a as. MUDr. Davidovi Michalskému za spolupráci při odběru tkáňových vzorků. Všem výše uvedeným, i dalším spolupracovníkům, zejména ze 3. interní kliniky, děkuji za velice přátelský přístup a podporu během mého postgraduálního studia.

OBSAH

Seznam tabulek	5
Seznam obrázků	7
Seznam použitých zkratk	8
SOUHRN	9
SUMMARY	11
1. ÚVOD	13
1.1 Obezita a kardiovaskulární onemocnění	13
1.1.1 Prevalence nadváhy a obezity	14
1.1.2 Obezita a metabolický syndrom – definice	15
1.2 Endokrinní funkce tukové tkáně	16
1.2.1 Leptin	16
1.2.2 Adiponektin	17
1.2.3 Rezistin	18
1.3 Mechanismus zvýšeného rizika kardiovaskulárních onemocnění u obezity, subklinický zánět	20
1.4 Kardiovaskulární riziko a katecholaminy: vztah k tukové tkáni	22
1.5 Cytoadhezivní molekuly a jejich význam v procesu aterosklerózy	23
1.5.1 Endotelová dysfunkce a etiopatogeneze aterosklerózy	23
1.5.2 Cytoadhezivní molekuly	24
1.5.2.1 Cytoadhezivní molekuly – experimentální studie	24
1.5.2.2 Cytoadhezivní molekuly – klinické studie	26
1.5.2.3 Tuková tkáň jako potenciální producent cytoadhezivních molekul ..	26
1.5.3 Možnosti snížení kardiovaskulárního rizika – vliv redukce hmotnosti	27
2. CÍL PRÁCE	28
3. SOUBORY VYŠETŘOVANÝCH OSOB A METODIKA	30
3.1 Soubory vyšetřovaných osob	30
3.1.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně	30
3.1.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou a jejich vliv na metabolický fenotyp	31
3.1.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem	31
3.1.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem	32
3.2 Měření sledovaných parametrů	32
3.2.1 Stanovení hormonálních a biochemických parametrů	32
3.2.2 Stanovení exprese mRNA a obsahu proteinů pro cytoadhezivní molekuly a další sledované molekuly v tukové tkáni	34
3.2.2.1 Stanovení mRNA exprese	34
3.2.2.2 Stanovení obsahu proteinů	35
3.2.3 Stanovení polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou	35
3.3 Statistické zpracování	37

4. VÝSLEDKY	38
4.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně	38
4.1.1 Charakteristika pacientů	38
4.1.2 Sérové koncentrace solubilních cytoadhezivních molekul	38
4.1.3 Exprese mRNA a obsah proteinu cytoadhezivních molekul v subkutánní a viscerální tukové tkáni	40
4.1.4 Korelace mezi cytoadhezivními molekulami a dalšími sledovanými parametry	44
4.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou a jejich vliv na metabolický fenotyp	46
4.2.1 Charakteristika pacientů	46
4.2.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin a jejich vztah k metabolickým parametrům	48
4.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem	50
4.3.1 Charakteristika pacientů s feochromocytomem před a po léčbě.....	50
4.3.2 Sérové hladiny CRP, leptinu, adiponektinu a rezistinu u pacientů s feochromocytomem před a po léčbě	51
4.3.3 Korelace mezi hladinami adipokinů, antropometrickými parametry, krevním tlakem, CRP a biochemickými parametry	51
4.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem	53
4.4.1 Charakteristika pacientů a zdravých kontrolních subjektů	53
4.4.2 Markery endoteliální dysfunkce a adipokiny.....	53
5. DISKUZE	55
5.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně	55
5.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou a jejich vliv na metabolický fenotyp	58
5.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem	59
5.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem	61
6. ZÁVĚR	64
7. LITERATURA	66
8. SEZNAM PUBLIKOVANÝCH ČLÁNKŮ A ABSTRAKT	79
9. PŘÍLOHA	86

Seznam tabulek

Tabulka 1.	15
Klasifikace obezity podle BMI s uvedením zdravotních rizik dle International Obesity Task Force a Světové zdravotnické organizace (WHO)	
Tabulka 2.	36
Stanovení jednonukleotidového polymorfizmu genu pro adiponektin 45 T>G a 276 G>T	
Tabulka 3.	37
Stanovení jednonukleotidového polymorfizmu genu pro rezistin 62 G>A a -180 C>G	
Tabulka 4.	39
Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientek s obezitou a kontrolních štíhlých žen	
Tabulka 5.	45
Korelace mezi expresí mRNA a hladinami proteinů pro cytoadhezivní molekuly v tukové tkáni a dalšími sledovanými parametry u obézních a štíhlých žen	
Tabulka 6.	47
Antropometrické, biochemické a hormonální parametry obézních pacientek, pacientek s mentální anorexií a kontrolních štíhlých žen	
Tabulka 7.	49
Frekvence alel sledovaných jednonukleotidových polymorfizmů u pacientek s obezitou, mentální anorexií a kontrolní skupiny štíhlých žen	
Tabulka 8.	50
Charakteristiky pacientů s feochromocytomem před a po léčbě	
Tabulka 9.	51
Hladiny C-reaktivního proteinu a adipokinů u pacientů s feochromocytomem před a po léčbě	

Tabulka 10. 54
Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientů s chronickou závislostí na heroinu a kontrolní skupiny

Tabulka 11. 54
Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientů s chronickou závislostí na heroinu před léčbou a po 1 roce užívání metadonu

Seznam obrázků

Obrázek 1.	41
Množství proteinu ICAM-1 a VCAM-1 v subkutánní a viscerální tukové tkáni obézních a štíhlých žen	
Obrázek 2.	42
mRNA exprese E-sektinu, ICAM-1 a VCAM-1 v subkutánní a viscerální tukové tkáni obézních a štíhlých žen	
Obrázek 3.	43
mRNA exprese CD68 a MCP-1 v subkutánní a viscerální tukové tkáni obézních a štíhlých žen	
Obrázek 4.	52
Korelace mezi průměrným systolickým a diastolickým krevním tlakem a hladinou CRP u pacientů po chirurgickém odstranění feochromocytomu	

Seznam použitých zkratek

BMI	- index tělesné hmotnosti (body mass index, hmotnost v kg/(výška v m) ²)
CAM	- cytoadhezivní molekuly
CD68	- marker monocytů/makrofágů
CRP	- C-reaktivní protein
DM 2. typu	- diabetes mellitus 2. typu
HDL	- lipoproteiny s vysokou hustotou (high density lipoprotein)
HOMA index	- index inzulinové rezistence (homeostasis model assessment of insulin resistance)
ICAM-1	- intercelulární cytoadhezivní molekula 1 (intercellular adhesion molecule 1)
IFCC	- Světová federace klinické chemie a laboratorní medicíny (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)
IL-1, IL-6	- interleukin 1, interleukin 6
LDL	- lipoproteiny s nízkou hustotou (low density lipoprotein)
M-CSF	- faktor stimulující tvorbu kolonií makrofágů (macrophage colony-stimulating factor)
MCP-1	- monocytární chemoatraktivní protein 1 (monocyte chemoattractant protein-1)
MMP-9	- metaloproteináza 9 (metalloproteinase 9)
MPO	- myeloperoxidáza (myeloperoxidase)
NO	- oxid dusnatý
NS	- nesignifikantní
PAI-1	- inhibitor aktivátoru plazminogenu (plasminogen activator inhibitor)
RNA	- ribonukleová kyselina (ribonucleic acid)
RT-PCR	- polymerázová řetězová reakce v reálném čase (real-time polymerase chain reaction)
s.c.	- subkutánní
SEM	- střední chyba průměru (standard error of mean)
TNF- α	- tumor nekrotizující faktor α
VCAM-1	- vaskulární cytoadhezivní molekula 1 (vascular adhesion molecule 1)
visc.	- viscerální
VLCD	- dieta s velmi nízkým obsahem kalorií (very low calorie diet)

SOUHRN

Tuková tkáň představuje velmi zajímavý endokrinně aktivní orgán produkující řadu proteinových faktorů charakteru hormonů, cytokinů, růstových faktorů a dalších, které se souhrnně nazývají adipokiny. Dosud bylo identifikováno více než 100 látek vznikajících v tukové tkáni, které lokálním nebo celkovým působením po uvolnění do cirkulace ovlivňují regulační mechanismy energetického metabolismu a zánětlivých a imunitních procesů.

Jak prokázala řada velkých studií, nadměrná akumulace tukové tkáně u obézních jedinců představuje nezávislý rizikový faktor aterosklerózy a následně se podílí na rozvoji kardiovaskulárních onemocnění. Tuková tkáň může být zejména u pacientů s obezitou zdrojem zvýšených kvant prozánětlivých působků a cytoadhezivních molekul, které sehrávají významnou úlohu v iniciaci rozvoje endotelové dysfunkce. Ateroskleróza, podobně jako obezita, jsou v současné době považovány za chronická onemocnění, u kterých klíčovou roli sehrává prozánětlivý stav organismu. V posledních letech probíhají intenzivní výzkumy zaměřené na souvislosti a mechanismy vzniku endoteliální dysfunkce, subklinického zánětu a poruch endokrinní funkce tukové tkáně. Tato problematika je sledována také vzhledem k velkému významu z pohledu klinické praxe, zvyšuje se počet pacientů, kteří trpí onemocněním kardiovaskulárního systému a nebo mají zvýšené riziko předčasného rozvoje aterosklerózy. Přesné mechanismy těchto dějů však zatím nebyly objasněny.

Proto byl tématem této práce výzkum endokrinní funkce tukové tkáně u osob se zvýšeným rizikem rozvoje aterosklerózy, jako jsou pacienti s obezitou, se sekundární hypertenzí a nadprodukcí katecholaminů při feochromocytomu nebo skupina drogově závislých pacientů. Kromě sérových koncentrací hormonů a cytoadhezivních molekul vznikajících v tukové tkáni jsme u obézních pacientů sledovali i exprese relevantních genů v podkožní resp. viscerální tukové tkáni. Snažili jsme se tak objasnit, jakou mírou přispívají jednotlivé typy tukové tkáně svou produkcí k hladinám solubilních cytoadhezivních molekul. U části pacientů jsme zjišťovali výskyt polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin a jejich vliv na metabolické parametry. U podskupiny pacientů s nadprodukcí katecholaminů jsme sledovali vliv jejich zvýšených hladin na endokrinní funkci tukové tkáně, který byl dosud prokázán zejména v experimentálních

studíích. V souvislosti s tím jsme měřili i parametry subklinického zánětu, který se významně podílí na iniciaci procesu aterosklerózy.

Naše výsledky potvrdily, že jak subkutánní tak i viscerální tuková tkáň jsou místem produkce cytoadhezivních molekul, které jsou považovány za markery endotelové dysfunkce. Prokázali jsme rozdíly mezi subkutánní a viscerální tkání: byla potvrzena souvislost obezity a zvýšených genových expresí a produkce proteinu pro dva typy cytoadhezivních molekul ve viscerální tukové tkáni. Naše výsledky mohou částečně vysvětlit těsný vztah viscerální obezity a kardiovaskulárních komplikací. Na základě výsledků sledování polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin předpokládáme jejich vliv na metabolický fenotyp pacientů. Manifestace určitého genotypu se však liší u pacientů s rozdílným nutričním stavem organismu. U podskupiny pacientů s feochromocytomem bylo zvýšení hmotnosti po chirurgickém odstranění tumoru překvapivě provázeno signifikantním poklesem hladin C-reaktivního proteinu, markeru systémového zánětu. V tomto procesu jsme neprokázali přímou účast hormonů tukové tkáně, a snížení hladin CRP je tak pravděpodobně projevem přerušení působení zvýšených hladin katecholaminů na produkci CRP. Může být známkou pozitivního efektu léčby feochromocytomu na progresi aterosklerózy a kardiovaskulární riziko. U jedinců závislých na heroinu jsme podle očekávání zjistili zvýšené markery endoteliální dysfunkce a současně poruchu endokrinní funkce tukové tkáně, která se, kromě jiných faktorů, může částečně podílet na systémovém prozánětlivém stavu. Otevřenou otázkou zůstává, jestli porucha endokrinní funkce tukové tkáně vzniká v důsledku systémového prozánětlivého stavu a nebo v tomto procesu sehrává kauzální roli.

Výsledky této práce mohou přispět k detailnímu vysvětlení všech mechanismů a souvislostí mezi endokrinní funkcí resp. dysfunkcí tukové tkáně a rozvojem aterosklerózy. Porozumění a schopnost terapeuticky ovlivnit negativní humorální působení tukové tkáně by mohlo znamenat přímý prospěch pro řadu nemocných s vysokým rizikem rozvoje kardiovaskulárních onemocnění.

SUMMARY

Adipose tissue represents a multi-functional endocrine organ producing various protein factors including hormones, cytokines, growth factors and others, commonly referred to as adipokines. To date, more than 100 products of adipose tissue were identified. They can act either locally or after their release into the circulation and influence the regulation of the energy metabolism, inflammatory and immune processes.

Numerous large scale studies have demonstrated that increased adipose tissue mass in obese individuals represents an independent risk factor of atherosclerosis and development of cardiovascular diseases. Obesity may lead to the increased release of proinflammatory factors and adhesion molecules from adipose tissue, thus playing an important role in the development of endothelial dysfunction. Both atherosclerosis and obesity are nowadays considered chronic diseases with low-grade inflammation as a key factor in their etiopathogenesis. Recent research studies were focused on the mechanisms of the endothelial dysfunction, low-grade inflammation and adipose tissue endocrine function dysregulation, and their mutual relationships. These processes are of a great interest due to their clinical relevance and increasing numbers of patients suffering from cardiovascular diseases or being at high risk of early atherosclerosis progression. Exact mechanisms and interrelationships of these factors are yet to be fully clarified.

Therefore, this project was focused on the endocrine function of adipose tissue in individuals at high risk of early atherosclerosis development such as patients with obesity, secondary hypertension and increased levels of catecholamines due to pheochromocytoma and injection drug users. In addition to serum concentrations of hormones and soluble adhesion molecules, expression of relevant genes and their protein content were measured directly in the subcutaneous and visceral adipose tissue samples. Hereby, the contribution of subcutaneous and visceral fat depots to the circulating pool of adhesion molecules was examined. Adiponectin and resistin gene polymorphisms in patients with diverse body weight were also examined and their influence on metabolic phenotype was assessed. The influence of catecholamines overproduction on endocrine function of adipose tissue was previously shown in several experimental studies. Here we tested these effects in patients with pheochromocytoma.

Markers of low-grade inflammation, as an indicator of atherosclerosis development, were also measured in these patients.

Our results confirmed the previous findings that both subcutaneous and visceral fat depots are producers of adhesion molecules, known as markers of endothelial dysfunction. We were able to show the differences between various fat depots and to demonstrate the relationship between obesity and increased adhesion molecules gene expression and protein content in visceral adipose tissue. Our results may partially explain the close relationship of the visceral obesity and cardiovascular diseases. Our assessment of adiponectin and resistin gene polymorphisms indicated their possible influence on the metabolic phenotype of patients. Nevertheless, manifestation of respective genotypes differed in patients with different nutritional status. In patients with pheochromocytoma, successful surgical treatment led to a weight gain that was surprisingly accompanied by attenuation of the inflammatory state as measured by the decrease of C-reactive protein levels. We failed to demonstrate a direct involvement of the changes in adipokines levels in this process. Drop of the C-reactive protein levels thus could be a result of normalization of catecholamine levels and it may reflect positive effects of pheochromocytoma removal on atherosclerosis progression and cardiovascular risk. In injection drug users, increased levels of endothelial dysfunction markers were found accompanied by dysregulated endocrine function of adipose tissue which may contribute to proinflammatory state of these patients. It remains to be determined whether endocrine dysfunction of adipose tissue in this subgroup of patients is entirely the consequence of the systemic inflammation or whether it plays a causal role in the process.

Results of this project may represent another step on the way to the detailed explanation of the mechanisms and relationships between adipose tissue endocrine function or dysfunction and atherosclerosis development. Better understanding and ability to prevent or treat the negative metabolic effects of adipose tissue-derived molecules would be of great importance for numbers of patients at high risk of cardiovascular diseases.

1. ÚVOD

1.1 Obezita a kardiovaskulární onemocnění

Kardiovaskulární onemocnění představují hlavní příčinu morbiditu a mortality ve vyspělých zemích a jsou tak i velmi závažným socioekonomickým problémem (Mathers and Loncar 2006). Nadváha a obezita se velmi často vyskytují společně s arteriální hypertenzí, poruchou glukózové tolerance, inzulínovou rezistencí nebo diabetes mellitus 2. typu, s dyslipidemií a dalšími poruchami jako tzv. metabolický syndrom. Za jeho patofyziologický podklad je považována inzulínová rezistence a v klinických studiích se ukázalo, že tyto faktory jednotlivě i v kombinaci přinášejí zvýšené riziko kardiovaskulárních chorob.

Dle velkých epidemiologických studií (Framingham Heart Study, Nurses Health Study, Buffalo Health Study, Cancer Prevention Study II) představuje zvýšená tělesná hmotnost významný rizikový faktor ischemické choroby srdce i kardiovaskulárních onemocnění celkově (Eckel and Krauss 1998; Rashid 2003). Velká americká studie Chicago Heart Association Detection Project in Industry s více než 17 000 účastníky sledovala po dobu 32 let vliv obezity v období středního věku na morbiditu a mortalitu ve vyšším věku. Pro hodnocení bylo vytvořeno 5 skupin dle počtu přítomných rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění (hypertenze, vyšší cholesterol, kouření) a každá skupina byla dále rozdělena podle BMI (index tělesné hmotnosti, body mass index, kg/m^2). Výsledky studie ukázaly, že nadváha a obezita představují nezávislý rizikový faktor kardiovaskulárních onemocnění a to v podstatě ve všech skupinách, tedy v přítomnosti i v nepřítomnosti dalších rizikových faktorů (Yan 2006). Dle dlouhodobých epidemiologických studií koreluje přírůstek hmotnosti po 25. roce života s kardiovaskulárním rizikem a to dokonce proporcionálně s množstvím kilogramů navíc. Za více rizikovou je u obézních jedinců i jedinců s nadváhou považována abdominální akumulace tuku, která podobně jako výrazné oscilace hmotnosti v důsledku neúspěšných pokusů o redukci hmotnosti, souvisí s progresí aterosklerózy (Kannel 1996).

Kromě již zmiňovaných onemocnění kardiovaskulárního systému se u obézních pacientů častěji vyskytují onemocnění pohybového aparátu, kožní, nádorová a respirační onemocnění. Obézní jedinci mají téměř o 7 let kratší očekávanou délku života

ve srovnání se štíhlými osobami (Peeters 2003). Morbidita spojená s obezitou se promítá i do ekonomických statistik, existuje řada dat svědčících pro vyšší spotřebu zdravotní péče u obézních osob, včetně farmakologické terapie a hospitalizací (Peeters 2003; van Dijk 2006).

1.1.1 Prevalence nadváhy a obezity

S ohledem na výše uvedená rizika je alarmující, že prevalence nadváhy a obezity mají celosvětově stoupající trend (Kopelman 2000; Seidell 2000). Již v roce 1997, na základě dat z epidemiologických studií, vyhlásila Světová zdravotnická organizace (WHO) obezitu celosvětovou epidemií. V roce 1995 byl odhadovaný celosvětový počet pacientů s obezitou 200 milionů, v roce 2000 se však tento počet zvýšil na 300 milionů (WHO 2003 Obesity and overweight).

V dospělé populaci Spojených států se prevalence obezity zvýšila z 15% v roce 1970 na 31% v roce 2000. Dle dostupných dat ze studie NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) se v USA prevalence nadváhy a obezity nadále postupně zvyšuje, zejména u dětí, adolescentů a mužů. V letech 2003 – 2004 mělo 17% amerických dětí nadváhu a 32,2% dospělých bylo obézních. U dospělých žen nebyl v letech 1999 až 2004 zaznamenán signifikantní vzestup hmotnosti. Nejvyšší procento obézních osob je ve věkové kategorii 40-59 let – 36,8% a dále pak klesá pravděpodobně v souvislosti se zvýšenou mortalitou (Ogden 2006). Vyšší prevalence obezity byla pozorována mezi Američany hispánského původu, a také v oblasti jihovýchodní Ázie a Polynézie.

V Evropské populaci je v současné době prevalence obezity 10-20% u mužů a 10-25% žen, v zemích východní Evropy a Středozeří však trpí obezitou až 40% žen. Dle výsledků multicentrické studie MONICA (MONItoring of trends and determinants in CARDiovascular diseases), které se zúčastnila i Česká republika, je v Evropě stoupající trend v prevalenci obezity pozorován zejména u mužů (Evans 2001). Česká republika se v počtu obézních zařadila na přední místo v Evropě, sledování změn v prevalenci obezity z roku 2000 ukazuje, že 20-25% dospělé populace u nás je obézní (Kunešová 2005).

1.1.2 Obezita a metabolický syndrom – definice

Obezita je multifaktoriálně podmíněná metabolická choroba, kdy individuálně podmíněná predispozice vede v případě pozitivní energetické bilance k hromadění tukových zásob. Ve většině případů se setkáváme s prostou obezitou, která vzniká v důsledku relativně vyššího příjmu energie potravou a/nebo nižšího výdeje energie. Na celkovém energetickém výdeji se podílí bazální a postprandiální energetický výdej a výdej energie v souvislosti s fyzickou aktivitou (Hainer 1997).

V běžné praxi nahrazujeme přesné měření množství tukové tkáně stanovením indexu tělesné hmotnosti – tzv. BMI (body mass index) = hmotnost / druhá mocnina výšky, vyjádřený v jednotkách kg/m^2 . Z tohoto postupu vychází i současná klasifikace obezity dle BMI (Tabulka 1).

Tabulka 1. Klasifikace obezity podle BMI s uvedením zdravotních rizik dle International Obesity Task Force a Světové zdravotnické organizace (WHO)

BMI (kg/m^2)	Kategorie	Zdravotní rizika
18,5 – 24,9	Normální rozmezí	Minimální
25 – 29,9	Nadváha	Nízká
30 – 34,9	Obezita 1. stupně	Vysoká
35 – 39,9	Obezita 2. stupně	Vysoká
Nad 40	Obezita 3. stupně	Velmi vysoká

Množství tuku v organismu lze měřit i pomocí dalších metod jako jsou bioelektrická impedance, zobrazovací metody, zejména duální rentgenová absorpcimetrie – DEXA, nebo také měřením tloušťky kožní řasy ve stanovených lokalizacích pomocí kaliperu. Některé z uvedených metod se využívají pro přesnou charakteristiku složení těla ve výzkumných studiích.

Podle charakteru rozložení tuku rozlišujeme obezitu gynoidní (ženského typu) s hromaděním podkožního tuku v oblasti hýždí a stehen – obezita typu hrušky a obezitu androidní nebo-li viscerální (mužského typu) s hromaděním tuku v oblasti hrudníku a břicha – proto tvaru jablka. V oblasti břicha se pak u tohoto typu obezity hromadí

především tuk nitrobrišní neboli viscerální. Právě tento typ je součástí metabolického syndromu a je provázen zvýšeným výskytem kardiovaskulárních a metabolických onemocnění. Vzhledem k uvedeným rozdílům je logické, že je nutné charakterizovat obezitu nejen z hlediska stupně dle BMI, ale také z hlediska distribuce tukové tkáně. K tomu lze využít jednoduché metody měření tělesných obvodů, především obvodu pasu a v některých případech i obvodu boků.

Metabolický syndrom je dle kritérií Mezinárodní diabetologické federace (IDF) charakterizován abdominální obezitou (obvod pasu ≥ 94 cm u mužů, ≥ 80 cm u žen) a alespoň 2 z dalších kritérií: triacylglyceroly $\geq 1,7$ mmol/l a/nebo HDL cholesterol $< 1,03$ mmol/l u mužů a $< 1,29$ mmol/l u žen nebo hypolipidemická léčba, dále arteriální hypertenze – systolický krevní tlak ≥ 130 mmHg nebo diastolický krevní tlak ≥ 85 mmHg nebo antihypertenzní léčba a dále zvýšená glykémie nalačno ($\geq 5,6$ mmol/l) nebo porušená glukózová tolerance nebo diabetes mellitus 2. typu.

1.2 Endokrinní funkce tukové tkáně

Tuková tkáň představuje multifunkční endokrinní orgán produkující řadu proteinových faktorů charakteru hormonů, cytokinů, růstových faktorů a dalších, které se souhrnně nazývají adipokiny (Zhang 1994; Guerre-Millo 2002). Dosud bylo identifikováno více než 100 látek vznikajících v tukové tkáni, které lokálním nebo celkovým působením po uvolnění do cirkulace ovlivňují regulační mechanismy energetického metabolismu a zánětlivých a imunitních procesů (Hauner 2005).

Mezi adipokiny patří proteiny produkované převážně adipocyty (leptin, adiponektin), dále proteiny vznikající v jiných buňkách tukové tkáně (např. produkce rezistinu imunokompetentními buňkami) a také faktory převážně produkované jinými orgány jako například TNF- α (Haluzík 2002).

1.2.1 Leptin

V roce 1994 byl objeven proteinový hormon leptin produkovaný převážně adipocyty a to změnilo pohled vědců na tukovou tkáň (Zhang 1994). Leptin ovlivňuje centrum sytosti v hypotalamu a prostřednictvím neuropeptidu Y reguluje příjem

potravy. Podílí se tak na udržování energetické homeostázy organismu a to spíše z dlouhodobého hlediska než krátkodobě změnou příjmu potravy (Halaas 1995).

V experimentálních studiích vedl deficit leptinu u *ob/ob* myší (mutace *ob* genu kódujícího leptin) nebo porucha leptinového receptoru u *db/db* myší (mutace genu pro leptinový receptor) k hyperfagii, obezitě, inzulinové rezistenci a vzniku diabetu (Zhang 1994). Porucha leptinového genu byla popsána i u lidí a projevuje se extrémní hyperfagií s rychlým vznikem těžké obezity již v dětském věku (Montague 1997).

Je zajímavé, že prostorová struktura leptinu složená ze 4 α -helixů připomíná strukturu rodiny cytokinů IL-6. Experimentální studie prokázaly, že leptin hraje důležitou roli v imunologických procesech. Ovlivňuje monocyty/makrofágy, stimuluje fagocytózu a jejich proliferaci, zvyšuje expresi aktivačních proteinů řady imunokompetentních buněk, ovlivňuje subpopulace T lymfocytů (Matarese 2005; Steiner and Romanovsky 2007). U malnutričních stavů byla snížená hladina leptinu spojena se sníženou lymfoproliferativní odpovědí (Matarese 2005).

Obezita je považována za chronický prozánětlivý stav organismu se zvýšenou hladinou leptinu v séru (hyperleptinemií), dále tzv. leptinorezistencí, lokální akumulací makrofágů v tukové tkáni a celkově zvýšenou produkcí prozánětlivých faktorů (např. TNF- α). Přesný mechanismus působení leptinu v těchto složitých vazbách není zatím detailně popsán (Matarese 2005).

Sérové hladiny leptinu a exprese mRNA pro leptin v tukové tkáni u lidí pozitivně korelují s BMI a obsahem tuku (Maffei 1995; Haluzik 1999a; Haluzik 1999b; Anderlova 2006). Zvýšené hladiny leptinu byly také zjištěny u pacientů s manifestní aterosklerózou, chronickou anginou pectoris, u akutního infarktu myokardu nebo cévní mozkové příhody (Wallerstedt 2004; Taneli 2006; Sierra-Johnson 2007). Existuje i vztah mezi leptinem a CRP. Experimentální studie prokázaly, že leptin dokáže indukovat produkci CRP aktivací leptinových receptorů lidských endotelových buněk, zvýšenou produkcí volných kyslíkových radikálů a fosforylací proteinkinázy ERK 1/2 (extracellular signal-regulated kinase). Tyto výsledky svědčí pro možný proaterogenní potenciál leptinu (Singh 2007).

1.2.2 Adiponektin

Adiponektin je proteinový hormon produkovaný převážně adipocyty bílé tukové tkáně a je strukturou podobný rodině proteinů s C1q globulární doménou (Maeda 1996).

Adiponektin je kvantitativně nejvýznamnějším proteinem produkovaným v tukové tkáni a také jeho hladiny v cirkulaci jsou až tisícnásobně vyšší než u jiných proteohormonů (Haluzik 2005). Molekuly adiponektinu cirkulující v séru mají tendenci k tvorbě izoform o různé molekulární hmotnosti: trimer, hexamer s nízkou molekulární hmotností nebo tzv. vysokomolekulární formy (Pajvani 2004). Tkáňové účinky adiponektinu jsou zprostředkovány pomocí dvou typů adiponektinových receptorů, AdipoR1 a AdipoR2, přítomných kromě svalové a jaterní tkáně i v řadě dalších tkání (Yamauchi 2003a; Haluzíková 2007).

Gen pro lidský adiponektin byl identifikován na chromozomu 3q27, který je v literatuře asociován s diabetes mellitus 2. typu a metabolickým syndromem (Kissebah 2000; Mori 2002; Vasseur 2002). Proto je gen pro adiponektin považován za jeden z kandidátních genů při studiu inzulinové rezistence a diabetu (Kadowaki 2006). Polymorfizmy genu pro adiponektin mohou být spojeny se sníženou sérovou hladinou adiponektinu, výskytem inzulinové rezistence a zvýšeným rizikem rozvoje diabetes mellitus 2. typu (Hara 2002; Menzaghi 2002; Gonzalez-Sanchez 2005).

V současné době jsou v popředí zájmu inzulin-senzitizující a protizánětlivé účinky adiponektinu. V experimentálních studiích byla u transgenních myší s knock-outem genu pro adiponektin pozorována inzulinová rezistence mírného až středního stupně a zvýšená citlivost k rozvoji aterosklerózy (Kubota 2002; Matsuda 2002). Podávání adiponektinu a normalizace jeho hladin u experimentálních myších modelů obezity a aterosklerózy inhibuje TNF- α – indukované zvýšení endoteliální exprese E-selektinu, intracelulární cytoadhezivní molekuly 1 (ICAM-1) a vaskulární cytoadhezivní molekuly 1 (VCAM-1) (Kawanami 2004). Adiponektin působí jako antiaterogenní faktor, snižuje syntézu C-reaktivního proteinu v endotelových buňkách, inhibuje migraci monocytů a makrofágů a jejich transformaci na pěnové buňky v cévní stěně a přispívá ke zvýšení inzulinové senzitivity (Ouchi 2001; Haluzik 2004b; Devaraj 2008).

Sérové hladiny adiponektinu jsou snižené u obézních jedinců a diabetes mellitus 2. typu, stoupají po redukci hmotnosti a vyšší hladiny pak nacházíme u jedinců s normální hmotností nebo dokonce malnutricí (Esposito 2003; Housova 2005a; Coppola 2008). Řada studií popsala asociaci mezi hladinou adiponektinu a aterosklerotickými změnami u lidí s ischemickou chorobou srdeční (Kumada 2003; Nakamura 2004), jiné studie však tyto závěry nepotvrdily (Hopkins 2007). V současné době není úloha adiponektinu zcela objasněna. Není jednoznačně vysvětleno, jestli je pokles adiponektinu příčinou nebo důsledkem probíhajícího aterosklerotického procesu.

1.2.3 Rezistin

Rezistin je proteinový hormon, který je kromě adipocytů produkován i monocyty a makrofágy, a spolu s tzv. rezistinu-podobnými molekulami (resistin-like molecules, RELM) patří do skupiny proteinů bohatých na cystein. U myši je rezistin exprimován především v tukové tkáni a uvolňován do cirkulace. U lidí byla exprese rezistinu detekována v kostní dřeni, v plicích, v trofoblastu placenty a v tukové tkáni. Rezistin cirkuluje v plazmě ve formě dimerů. Zvýšené sérové koncentrace rezistinu byly zjištěny u experimentálních modelů obezity a diabetes mellitus 2. typu (Steppan 2001a; Steppan 2001b).

Gen pro lidský rezistin byl identifikován na chromozómu 19p13 (Steppan 2001a). Podobně jako u adiponektinu, byla u i rezistinu zkoumána spojitost mezi polymorfizmy genu pro rezistin a obezitou nebo inzulinovou rezistencí (Steppan and Lazar 2004). Řada studií potvrzuje tyto vztahy (Cao and Hegele 2001; Pizzuti 2002; Tan 2003), výsledky se však liší v závislosti na sledované populaci (Engert 2002).

První experimentální studie nasvědčovaly tomu, že zvýšené hladiny rezistinu vyvolávají inzulinovou rezistenci (Steppan 2001a; Hartman 2002; Steppan and Lazar 2002). Řada dalších studií, experimentálních i klinických, však tyto jednoznačné závěry a kauzalitu zpochybnila. Některé studie popsaly sníženou expresi rezistinové mRNA v tukové tkáni obézních myší (Way 2001), což bylo v některých pracích provázeno zvýšením cirkulujících koncentrací rezistinu (Haluzik 2004a; Rajala 2004). V lidské tukové tkáni byla u obézních jedinců zjištěna zvýšená exprese mRNA pro rezistin, v izolovaných adipocytech však byla genová exprese rezistinu nízká a nebyl zaznamenán rozdíl mezi obézními a štíhlými jedinci (Savage 2001). Lze předpokládat, že hlavním producentem rezistinu v lidské tukové tkáni jsou spíše buňky stromovaskulární frakce, např. imunokompetentní buňky. Podobně i klinické studie přinesly rozporuplné výsledky, v některých studiích byly nalezeny zvýšené sérové koncentrace rezistinu u obézních jedinců (McTernan 2002a; McTernan 2002b; Degawa-Yamauchi 2003), v jiných korelace mezi hmotností a sérovými hladinami rezistinu zjištěny nebyly (Lee 2003; Housova 2005a).

V poslední době je rezistin spojován především se zánětlivým stavem organismu (Lehrke 2004; Reilly 2005). Bylo zjištěno, že prozánětlivé cytokiny jako TNF- α a IL-6 zvyšují expresi rezistinu v cirkulujících monocitech u lidí, a naopak, rezistin stimuluje produkci TNF- α a IL-6 v tukové tkáni a monocitech v periferní krvi (Kaser 2003; Rabe

2008). Sérové hladiny rezistinu korelují s mnoha prozánětlivými markery včetně CRP a výsledky dalších studií svědčí pro účast rezistinu v etiopatogeneze zánětlivých onemocnění, septického stavu, ischemické choroby srdce nebo dokonce revmatoidní artritidy (Rabe 2008).

Přestože účinky adipocytárních hormonů adiponektinu a rezistinu zatím nebyly do detailů objasněny, výsledky studií nasvědčují tomu, že jsou přímo nebo nepřímo zapojené i v etiopatogeneze aterosklerózy (Kawanami 2004; Shimada 2004; Pischon 2005).

1.3 Mechanismus zvýšeného rizika kardiovaskulárních onemocnění u obezity, subklinický zánět

Intervence rizikových faktorů, tedy primární a sekundární prevence kardiovaskulárních onemocnění, vede k významnému snížení počtu úmrtí na tato onemocnění (Fox 2004). V posledních letech však došlo k výraznému zpomalení tohoto příznivého trendu a to současně se zvyšováním prevalence nadváhy a obezity (Hu 2000).

Kardiovaskulární onemocnění jsou spojena s vyšší hladinou cirkulujících markerů systémového zánětu, jako je např. C-reaktivní protein a proteiny koagulační kaskády (Danesh 2000; Berg and Scherer 2005). Zvýšené hladiny prozánětlivých proteinů se vyskytují i u osob s rizikovými faktory kardiovaskulárních onemocnění, anginou pectoris, obezitou, diabetes mellitus (Ridker 2000; Pradhan 2001).

Tuková tkáň kromě adipocytů obsahuje fibroblasty, preadipocyty, makrofágy a cévní struktury. Podobně jako makrofágy, i adipocyty jsou ovlivněny signály z okolního prostředí a mají schopnost reagovat na cytokiny zprostředkovanou zánětlivou reakcí nebo přítomnost infekčního agens. Prostřednictvím membránových receptorů jsou v adipocytech aktivovány intracelulární signální kaskády, které vedou ke zvýšené produkci a sekreci prozánětlivých cytokinů a reaktantů akutní fáze (Berg and Scherer 2005).

Na lidských tkáňových kulturách *in vitro* bylo prokázáno, že TNF- α ovlivňuje adipocyty vazbou na jejich TNF receptory TNFR1 a TNFR2, s následnou signální transdukcí prostřednictvím rodiny signálních proteinů MAP-kinázy (mitogen-activated protein kinases MAPK), např. p44/42 (extracellular signal-regulated kinase, ERK 1/2)

nebo JNK (c-Jun-NH₂-terminal kinases) (Ryden 2002). Podobně byla zkoumána odpověď adipocytů na řadu prozánětlivých působků jako IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-11, interferon γ (INF- γ) a dalších, které mají schopnost aktivovat tyto i jiné signální kaskády (Lin 2000; Rajala and Scherer 2003). Odpovědí adipocytů na působení prozánětlivých faktorů je pak zvýšená produkce prozánětlivých faktorů, mediátorů a reaktantů akutní fáze (TNF- α , plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, leukemia inhibitory factor, haptoglobin, macrophage migration inhibitory factor, serum amyloid A – SAA3, faktory komplementu B, D, C3, prostaglandin E2, cytoadhezivní molekuly a další potenciální modulátory zánětlivého procesu leptin, adiponektin a rezistin) (Shimomura 1996; Kern 2001; Fain 2004).

Reaktivita tukových buněk a spektrum vznikajících proteinů se mění v průběhu diferenciaci z preadipocytu ke zralému adipocytu a přesné mechanismy a vazby v současné době nejsou známy. Některé z uvedených látek působí autokrinně, jiné parakrinně, přibývají však důkazy, že řada z nich významně přispívá k systémovému subklinickému zánětu (Berg and Scherer 2005). Za normálních podmínek tvoří makrofágy přibližně 5 – 10 % buněčné populace tukové tkáně, v důsledku zvýšení hmotnosti u obezity se však může jejich počet několikanásobně zvýšit (Weisberg 2003). Adipocyty a makrofágy v tukové tkáni se vzájemně ovlivňují a zejména v případě obezity pak dochází k potenciaci zánětlivé odpovědi a výslednému synergickému působení (Berg 2004; Berg and Scherer 2005). Celá řada studií prokázala pozitivní korelaci mezi vyšším BMI a zvýšenou hladinou cirkulujících prozánětlivých proteinů jako CRP, PAI-1, cytoadhezivních molekul VCAM-1, E-selektin a dalších (Leinonen 2003; Cottam 2004; Miller and Cappuccio 2006).

Tuková tkáň tak má nepochybně významný podíl na systémovém subklinickém zánětu, prozánětlivé faktory však vznikají i v dalších tkáních. Jedním z důležitých markerů systémového zánětu v organismu je C-reaktivní protein, který vzniká v játrech a jeho produkce je významně ovlivněna interleukinem 6. Viscerální tuková tkáň obézních jedinců uvolňující IL-6 přímo do portálního oběhu působí v játrech zvýšenou produkci CRP, která typicky provází obezitu (Yudkin 2000a). Svůj podíl na výsledné hladině cirkulujícího CRP má zřejmě i jeho přímá produkce tukovou tkání (Ouchi 2003).

1.4 Kardiovaskulární riziko a katecholaminy: vztah k tukové tkáni

V rámci širokého spektra endokrinopatií, od asymptomatických forem až ke klinicky vyjádřeným formám, byl u řady z nich popsán zvýšený výskyt rizikových faktorů aterosklerózy a kardiovaskulárních onemocnění. Časně asymptomatické postižení koronárních tepen aterosklerózou bylo například popsáno u mladých obézních žen se syndromem polycystických ovárií ve srovnání s obézní kontrolní skupinou (Shroff 2007), nebo u pacientů se subklinickým Cushingovým syndromem (Tauchmanova 2002). U pacientů s feochromocytomem jsou kardiovaskulární příhody dokonce nejčastější příčinou úmrtí (Khorram-Manesh 2005; Daub 2007) a akutní koronární příhoda může být vzácně i první manifestací onemocnění (Boulkina 2007).

Feochromocytom, katecholaminy produkující tumor vycházející z chromafinních buněk dřeně nadledvin, se vyznačuje velkou variabilitou klinických příznaků, od lehké hypertenze přes typické záchvatovité příznaky: vzestup krevního tlaku, tachykardie, bolest hlavy, pocení a zčervenání, až po závažný stav hypertenzní krize (Zelinka and Widimsky 2003). Přesný podklad a mechanismy akcelerované aterosklerózy u těchto pacientů zatím nejsou známy. Je zřejmé, že zahrnují mimo jiné zvýšený krevní tlak, jeho výraznější kolísání a poruchy diurnální variability, poruchy glukózového metabolismu a pravděpodobně i další faktory, jako zvýšené prozánětlivé markery ve srovnání s pacienty s primárním hyperaldosteronismem nebo zdravými kontrolami (Zelinka 2004; Zelinka 2007).

Experimentální studie prokázaly, že nadbytek katecholaminů může významně ovlivnit endokrinní funkci tukové tkáně (Bottner 2000; Cong 2007). Inhibiční efekt katecholaminů na produkci leptinu byl potvrzen jak v experimentálních, tak i klinických studiích (Kosaki 1996; Trayhurn 1996; Wocial 2002; Goossens 2008). Katecholaminy se vážou na β - a α -adrenergní receptory adipocytů (subtypy β_{1-3} a $\alpha_{1,2}$); přes β -adrenergní receptory a aktivaci adenylátcyklázy pak dochází ke zvýšení množství cAMP a aktivací dalších kináz k fosforylaci hormon-senzitivní lipázy (Jocken and Blaak 2008). Naopak, prostřednictvím vazby na α_2 -receptory je lipolýza inhibována. Vazbou na β -adrenergní receptory ovlivňují katecholaminy vychytávání glukózy (Nonogaki 2000), a pravděpodobně i řadu dalších, dosud neobjasněných dějů. Případný nadbytek katecholaminů nebo naopak změny počtu a funkce adrenergních receptorů na povrchu adipocytů vedoucí k rezistenci na katecholaminy, mohou negativně ovlivnit celé spektrum metabolických procesů (Arner 1999; Bottner 1999).

1.5 Cytoadhezivní molekuly a jejich význam v procesu aterosklerózy

1.5.1 Endotelová dysfunkce a etiopatogeneze aterosklerózy

Ateroskleróza je v současné době vnímána jako zánětlivý (resp. reparativní) proces, který je odpovědí na poškození intimy cévní stěny. Klíčovou úlohu sehrává sekrečně aktivní endotelová buňka, která produkuje vazodilatační, vazokonstrikční, růstové a další faktory. Různé mechanické, chemické, degenerativní nebo metabolické vlivy mohou ovlivnit její funkci a rovnováhu a vést k tzv. endotelové dysfunkci, která je předpokladem resp. prvním stádiem vzniku aterosklerózy (Češka 2005). Endotelová dysfunkce, subendoteliální zánět, reparativní imunologické procesy a jejich příčiny jsou v posledních letech předmětem intenzivního výzkumu (Mahmoudi 2007).

Přestože považujeme aterosklerózu za systémové onemocnění, aterosklerotické léze se vyskytují zejména v predilekčních místech velkých a středních arterií. Nejčastěji jsou postiženy koronární arterie, hrudní aorta, arteria poplitea, vnitřní karotické arterie a tepny Willisova okruhu (Češka 2005). S uvedenou lokalizací změn souvisí klinická manifestace progredujících aterosklerotických lézí, která se nejčastěji projeví jako angina pectoris, infarkt myokardu, ischemická cévní mozková příhoda nebo ischemická choroba dolních končetin.

V iniciálních stádiích aterosklerózy dochází k vycestování monocytů z cévního řečiště do intimy, kde se transformují v makrofágy a v důsledku akumulace lipidů z nich vznikají pěnové buňky. Pěnové buňky jsou základními buněčnými elementy tukových proužků, které představují nejčasnější, ještě reverzibilní, formu aterosklerózy. Jsou prokazatelné v aortě již u malých dětí a adolescentů, dle některých studií dokonce i u kojenců (Holman 1958). Početnější zastoupení pěnových a imunokompetentních buněk (monocytů, makrofágů, lymfocytů) v různém stadiu transformace najdeme pak v dalším stadiu ve fibrózních plátech (ateromech) prominujících do lumina arterií. Buňky jsou obklopeny mezibuněčnou hmotou tvořenou kolagenní matrix, volnými depozity lipidů, cholesterolovými krystaly a nekrotickými částmi, případně i kalcifikacemi. Z fibrózních plátů vznikají zvětšováním, kalcifikací a degenerativními změnami komplikované léze. V místě ruptury plátu a porušení endotelového krytu dochází k adhezenci trombocytů a následná akumulace trombocytů a erytrocytů může vést k akutnímu uzávěru tepny trombem (Ross 1993; Češka 2005).

1.5.2 Cytoadhezivní molekuly

Jak již bylo zmíněno, aktivovaný endotel patří k hlavním aktérům při vzniku aterosklerotického plátu v intimě cévní stěny. Proto byly podrobněji studovány cytoadhezivní molekuly na povrchu endotelových buněk a jejich úloha v procesu aterosklerózy (Duplaa 1996).

Cytoadhezivní molekuly (CAM) jsou transmembránové proteiny, které umožňují vzájemné interakce mezi buňkami a buňkou a extracelulární matrix, a jsou exprimovány různými buňkami organismu (fibroblasty, dendritické buňky, buňky hladkého svalu cévní stěny, leukocyty, trombocyty, a pod.) (Hope and Meredith 2003). Některé interakce jsou stabilní, jiné se uplatňují pouze krátkodobě v dynamických procesech. CAM sdílejí společnou základní strukturu – extracelulární část s vazebnou doménou, hydrofobní transmembránovou část a cytoplazmatickou část, která interaguje s cytoskeletem nebo zprostředkuje přenos signálu k intracelulárním signálním kaskádám (Price and Loscalzo 1999).

Dle struktury a funkce můžeme cytoadhezivní molekuly rozdělit do několika skupin nebo tzv. rodin: integrinovou, selektinovou a imunoglobulinovou rodinu. Dále se budeme zabývat pouze vybranými cytoadhezivními molekulami, které se účastní v procesu aterosklerózy, konkrétně ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1), VCAM-1 (vascular adhesion molecule 1) a E-selektinem.

1.5.2.1 Cytoadhezivní molekuly – experimentální studie

Na aktivaci endotelových buněk působí prozánětlivé faktory (např. IL-1, TNF- α) produkované mimo jiné makrofágy, T-lymfocyty a aktivovanými buňkami hladkého svalu cévní stěny (Duplaa 1996). Endotel reaguje na působení prozánětlivých cytokinů *de novo* syntézou cytoadhezivních molekul a to mechanismem zvýšené genové transkripce prostřednictvím NF- κ B (nuclear factor – κ B) signální kaskády. Přestože existuje určitá bazální neboli konstitutivní exprese CAM na povrchu buněk, mediátory vyvolaná zvýšená produkce se projeví již za několik hodin, pro E-selektin se udává doba přibližně 4 – 6 hodin (Meager 1999; Price and Loscalzo 1999). Cytoadhezivní molekuly umožní zpomalení a rolování cirkulujících monocytů po povrchu cévní stěny, jejich adhezi na endotel a posléze migraci mezi endotelovými buňkami do intimy (Ross 1993; Hope and Meredith 2003).

V experimentálních studiích bylo prokázáno zvýšené množství cytoadhezivních molekul E-selektinu, ICAM-1 a VCAM-1 na povrchu endotelu v oblasti nad aterosklerotickými pláty u lidí. Existuje určitá časová závislost, kdy několikanásobné zvýšení množství exprimovaných CAM přímo souvisí s převahou ještě nediferencovaných monocytů v cévní stěně. Naopak, nad pláty s převahou diferencovaných makrofágů byla zjištěna pouze mírně zvýšená exprese VCAM-1 (Duplaa 1996).

Určité protektivní působení bylo pozorováno u vazodilatačně působícího faktoru oxidu dusnatého (NO), který *in vitro* a ve studiích na zvířecím modelu působí snížení exprese cytoadhezivních molekul. Jeho produkce je však v iniciálních stádiích endotelové dysfunkce snižena a to napomáhá zvýšené produkci cytoadhezivních molekul a progresi aterosklerotických lézí (Hope and Meredith 2003).

V cirkulaci byly prokázány solubilní formy cytoadhezivních molekul ICAM-1, VCAM-1 a E-selektinu. Přestože jejich původ a patofyziologické působení zatím nebylo zcela objasněno, řada experimentálních studií prokázala uvolňování jejich membránově vázaných forem z povrchu endotelu do cirkulace proteolýzou. Kromě toho je zvýšená produkce solubilních CAM připisována i zvýšené genové transkripci, změnám stability mRNA, změnám v translaci a vzniku odlišně formovaných molekul (Blankenberg 2003).

V *in vitro* studiích koreluje koncentrace solubilních ICAM-1 a E-selektinu s jejich expresí na povrchu lidských umbilikálních endotelových buněk (HUVEC) po inkubaci s prozánětlivě působícími cytokiny (Leeuwenberg 1992). Také Swerlick zjistil zvýšenou produkci CAM v kultuře lidských endotelových buněk pocházejících z mikrocirkulace kůže (HDMEC – human dermal microvascular endothelial cells) a endotelu z lidské pupeční žíly (HUVEC – human umbilical vein endothelial cells) po podání prozánětlivých faktorů. TNF- α zvyšuje genovou expresi a množství proteinu pro VCAM-1, podání dalšího z faktorů, IL-1, zvyšuje obojí pro VCAM-1 i ICAM-1 na povrchu endotelu a to v závislosti na čase a podané dávce (Swerlick 1992). Navíc, *in vitro* byla prokázána korelace mezi schopností vazby monocytů v kultuře endotelových buněk a hladinami solubilního E-selektinu a VCAM-1 (Chen 1999). Tyto výsledky by svědčily pro jednotnou regulaci produkce cytoadhezivních molekul a to jak formy membránově-vázané tak i solubilní.

Pro významnou úlohu cytoadhezivních molekul v patogenezi aterosklerózy svědčí i výsledky studií s knock-out zvířecími (myšími) modely, u kterých vyřazení

příslušných genů působí protektivně proti akcelerovanému rozvoji aterosklerózy (Dong 1998; Bourdillon 2000; Collins 2000).

1.5.2.2 Cytoadhezivní molekuly – klinické studie

Jak již bylo uvedeno, zánět sehrává důležitou roli ve všech stádiích rozvoje aterosklerózy. Je proto logické, že byly hledány proteinové faktory cirkulující v krvi, které by byly použitelné jako indikátory akcelerované aterosklerózy u klinicky zdravé populace. Z tohoto hlediska se řada studií zabývala i významem cytoadhezivních molekul (Blankenberg 2003).

Hladiny solubilních cytoadhezivních molekul ve studiích korelují s řadou rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění jako kouření, hypertenze, dyslipidémie. Korelace hladin ICAM-1 a VCAM-1 s lipidy jsou přítomny již v mladém věku (Ohta 1999; Blankenberg 2003). V dalších studiích byly zjištěny zvýšené hladiny solubilních cytoadhezivních molekul u pacientů s aterosklerózou, diabetes mellitus 2. typu nebo obezitou (Ceriello 1998; Price and Loscalzo 1999; Leinonen 2003; Pontiroli 2004). Někteří autoři sledovali změny hladin cytoadhezivních molekul po zlepšení kompenzace diabetu nebo po redukci hmotnosti například po bariatrickém výkonu (Yudkin 2000b; Pontiroli 2004).

Studie přinášejí i protichůdné a někdy obtížně interpretovatelné závěry, ne vždy jsou ovlivněny všechny uvedené cytoadhezivní molekuly. Například ve studii ARIC (The Atherosclerosis Risk In Communities) představovala solubilní ICAM-1 významný prediktivní faktor vzniku ischemické choroby srdeční v budoucnu. Naopak, vztah solubilního E-selektinu k rozvoji ICHS po adjustaci na další rizikové faktory nebyl signifikantní (Hwang 1997; Blankenberg 2003).

1.5.2.3 Tuková tkáň jako potenciální producent cytoadhezivních molekul

Tuková tkáň produkcí množství prozánětlivých faktorů a cytokinů přímo i nepřímo přispívá k celkovému subklinickému zánětu provázejícímu obezitu, diabetes nebo aterosklerózu. Dosavadní studie nasvědčují tomu, že produkce některých látek tukovou tkání – zejména faktorů prozánětlivých a metabolicky škodlivých – je u obézních jedinců zvýšená (Trayhurn 2005). Přestože patofyziologické mechanismy ještě zdaleka nejsou objasněny, je známo, že některé faktory se podílejí na rozvoji

aterosklerózy (např. MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), ICAM-1, VCAM-1, E-selektin). Jejich hladiny mohou být u obézních jedinců zvýšené, podíl produkce tukové tkáně na sérových hladinách zatím není znám (Berg and Scherer 2005; Fain and Madan 2005; Trayhurn 2005).

1.5.3 Možnosti snížení kardiovaskulárního rizika – vliv redukce hmotnosti

Asociaci mezi zvýšenou akumulací tělesného tuku a prozánětlivým stavem organismu potvrzují i výsledky studií zaměřených na vliv redukce hmotnosti. Snížení hmotnosti po bariatrickém výkonu, dietní intervenci nebo dietou spolu s pohybovou aktivitou vede k poklesu cirkulujících prozánětlivých faktorů (IL-6, CRP, PAI-1, TNF- α , ICAM-1, VCAM-1 a dalších) (Heilbronn 2001; Kopp 2003; Nicoletti 2003).

Zajímavé, avšak ne jednoznačné výsledky přinesly některé další studie. Liposukce a s ní spojené snížení hmotnosti a snížení množství tukové tkáně vedla k poklesu např. CRP, IL-6 a jiných faktorů, a zlepšila inzulinovou rezistenci (Giugliano 2004). Naproti tomu v podobné studii liposukce tyto parametry neovlivnila (Klein 2004). Můžeme předpokládat, že odstranění části podkožní tukové tkáně při liposukci nemá tak zásadní efekt, který by byl srovnatelný s odstraněním viscerální tukové tkáně, jak nasvědčují experimentální studie na myším modelu (Gabriely 2002). Snížení celkového množství tukové tkáně však může přispívat ke snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění (Esposito 2006).

Cílené farmakologické ovlivnění hladin prozánětlivých faktorů v současné době není možné. Vzhledem k pozitivnímu vlivu statinů na snížení kardiovaskulárního rizika se v poslední době objevují experimentální studie zkoumající jiné účinky a mechanismy působení statinů. Zdá se, že statiny snižují prozánětlivou aktivaci makrofágů, pozitivně ovlivňují endotel a zvyšují hladiny adiponektinu (Martin-Ventura 2005). U obézních myší bylo zjištěno částečné protizánětlivé působení přímo v tukové tkáni (Abe 2008). K objasnění všech mechanismů působení statinů na kardiovaskulární riziko bude však nepochybně nutný další výzkum.

2. CÍL PRÁCE

Tuková tkáň produkcí řady prozánětlivých faktorů a cytokinů přímo i nepřímo přispívá k celkovému subklinickému zánětu provázejícímu obezitou, diabetes mellitus 2. typu nebo aterosklerózu. Přestože patofyziologické mechanismy ještě zdaleka nejsou objasněny, řada studií nasvědčuje tomu, že porucha endokrinní funkce tukové tkáně se přímo podílí na vzniku endoteliální dysfunkce a rozvoji aterosklerózy. Časná progresse aterosklerózy a klinicky manifestní postižení kardiovaskulárního systému v současné době již zdaleka nejsou onemocněními vyššího věku, ale jejich incidence se přesouvá i do nižších věkových kategorií zejména u rizikových skupin nemocných.

Bližší poznání mechanismu humorálního působení tukové tkáně může přispět k identifikaci vhodných diagnostických markerů časných stádií endoteliální dysfunkce a aterosklerózy a umožnit tak cílenou primární prevenci u rizikových osob. Pochopení složitých regulačních procesů může vést k identifikaci cílových míst pro preventivní nebo časnou terapeutickou intervenci, což by přineslo přímý prospěch pro řadu nemocných s vysokým rizikem kardiovaskulárních onemocnění.

Cílem práce byl proto výzkum endokrinní funkce tukové tkáně u osob se zvýšeným rizikem rozvoje aterosklerózy, jako jsou pacienti s obezitou, se sekundární hypertenzí při feochromocytomu nebo malnutricí při chronické drogové závislosti. Kromě sérových koncentrací hormonů a cytoadhezivních molekul vznikajících v tukové tkáni jsme u vybrané skupiny pacientů sledovali i exprese relevantních genů v podkožní resp. viscerální tukové tkáni. U části pacientů jsme zjišťovali výskyt polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin a jejich vliv na metabolické parametry. U podskupin pacientů s nadprodukcí katecholaminů a chronickou drogovou závislostí jsme sledovali některé parametry subklinického zánětu, který se významně podílí na iniciaci procesu aterosklerózy.

Konkrétním cílem práce bylo odpovědět na následující otázky:

- Je tuková tkáň místem produkce cytoadhezivních molekul? Pokud ano, liší se jejich produkce mezi subkutánní a viscerální tukovou tkání, která je považována za více škodlivou? V jakém vztahu jsou cirkulující hladiny solubilních cytoadhezivních molekul a jejich lokální produkce v tukové tkáni?

- Jaká je frekvence jednonukleotidových polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin u pacientek s obezitou, s mentální anorexií a u kontrolních zdravých žen? Jak se projeví přítomnost polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin u jedinců s rozdílným BMI, ovlivní genotyp sérové hladiny adiponektinu a rezistinu nebo jiné metabolické parametry?
- Jakou úlohu sehrává endokrinní aktivita tukové tkáně při změnách metabolického profilu a prozánětlivého stavu u pacientů s nadprodukcí katecholaminů a po jejich normalizaci?
- Podílí se porucha endokrinní funkce na chronickém subklinickém zánětu a předčasném rozvoji endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu? Budou tyto metabolické parametry a cirkulující faktory endoteliální dysfunkce ovlivněny roční odvykací léčbou s podáváním metadonu?

3. SOUBORY VYŠETŘOVANÝCH OSOB A METODIKA

3.1 Soubory vyšetřovaných osob

3.1.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně

Do studie bylo zařazeno 25 obézních žen a 14 štíhlých žen (průměrný index tělesné hmotnosti – BMI: $23,8 \pm 0,6 \text{ kg/m}^2$). Obézní pacientky byly dle BMI rozděleny do dvou skupin: skupina 1 s BMI 30 – 40 kg/m^2 (průměr BMI: $35,7 \pm 0,9 \text{ kg/m}^2$) a skupina 2 s BMI nad 40 kg/m^2 (průměr BMI: $46,2 \pm 0,8 \text{ kg/m}^2$).

Ze studie byly vyloučeny pacientky s některou z následujících komorbidit: závažné kardiovaskulární onemocnění, renální nebo jaterní selhání, akutní infekční onemocnění nebo nádorové onemocnění. Hmotnost obézních pacientek i zdravých subjektů byla stabilní v posledních 3 měsících před zařazením do studie a ženy neužívaly léky ovlivňující váhu. Soubor je podrobně popsán v příložených publikacích (viz Příloha od str. 86).

U všech účastníků studie bylo provedeno antropometrické měření a vypočítán index tělesné hmotnosti. Krevní odběry byly provedeny ráno nalačno v den plánovaného chirurgického výkonu před zahájením anestezie ke stanovení základních biochemických a dalších sledovaných parametrů. Vzorky séra byly uchovány v -70°C do dalšího zpracování.

Vzorky subkutánní a viscerální tukové tkáně byly odebrány na začátku plánovaného chirurgického výkonu (bandáž žaludku resp. cholecystektomie) z míst, která nebyla traumatizována, abychom předešli vlivu lokálního poškození tkáně na studované parametry. Vzorky pro stanovení exprese mRNA byly uloženy ve stabilizačním roztoku (RNA later, Qiagen GmbH, SRN, kat. č. 76106) a následně zmrazeny a uchovány v -70°C do dalšího zpracování.

3.1.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou a jejich vliv na metabolický fenotyp

Do studie bylo zařazeno 77 obézních žen (BMI $43,5 \pm 1,1 \text{ kg/m}^2$), 28 žen s mentální anorexií (BMI $15,7 \pm 0,4 \text{ kg/m}^2$) a 38 zdravých štíhlých žen (BMI $22,3 \pm 0,4 \text{ kg/m}^2$). U žen kontrolní skupiny nebyl zaznamenán rodinný výskyt diabetes mellitus 2. typu nebo obezity. Diagnóza poruchy příjmu potravy anorexia nervosa byla stanovena použitím Diagnostického a statistického manuálu duševních poruch (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-IV) dle Americké psychiatrické asociace.

U všech účastníků studie bylo provedeno antropometrické měření a byl vypočítán BMI. Krevní odběry byly provedeny ráno nalačno za bazálních podmínek ke stanovení základních biochemických a hormonálních parametrů a sledovaných polymorfizmů.

3.1.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem

Do studie bylo zařazeno 18 pacientů, 11 mužů a 7 žen, s nově diagnostikovaným feochromocytomem. Diagnóza byla stanovena dle standardního diagnostického postupu na základě zvýšených hladin katecholaminů a jejich metabolitů ve 24-hodinovém sběru moči (analýza použitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie na přístroji Agilent 1100, Agilent Technologies, Santa Clara, USA), a pomocí zobrazovacích metod. Všichni pacienti podstoupili chirurgické odstranění feochromocytomu a diagnóza byla verifikována pooperačně histologicky. V rámci této studie byli pacienti vyšetřeni vstupně při stanovení diagnózy feochromocytomu a dále 6 měsíců po chirurgickém odstranění tumoru, přičemž v době druhého vyšetření u nich nebyly známky recidivy onemocnění. Podrobná charakteristika skupiny je uvedena v příložené publikaci (viz Příloha od str. 86).

Vstupně a 6 měsíců po odstranění tumoru byly u pacientů změřeny antropometrické parametry a provedeno 24-hodinové monitorování krevního tlaku přístrojem SpaceLabs 90207 (SpaceLabs Medical, Richmond, Washington, USA). Ráno nalačno za bazálních podmínek byl proveden odběr krve ke stanovení biochemických parametrů, C-reaktivního proteinu (CRP) a adipokinů. Vzorky séra byly uchovány v -70°C do dalšího zpracování.

3.1.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem

Do této studie bylo zařazeno 16 pacientů (9 mužů a 7 žen) chronicky závislých na heroinu (průměrný věk $27,1 \pm 2,2$ let, průměrná délka drogové závislosti $9 \pm 0,5$ let). Jako kontrolní skupina bylo do studie zařazeno 16 zdravých jedinců (9 mužů, 7 žen) odpovídajícího věku (prům. $25,9 \pm 1,4$ let). U zdravých jedinců nebyly prokázány známky akutního nebo chronického infekčního onemocnění, zatímco u 60 % drogově závislých jedinců byla zjištěna pozitivita hepatitidy B a/nebo C. Ani v jednom případě se nevyskytla pozitivita HIV.

U všech pacientů bylo provedeno antropometrické měření a krevní odběr ráno nalačno ke stanovení biochemických a dalších sledovaných parametrů. Vzorky séra byly uchovány v -70°C do dalšího zpracování. U 9 pacientů závislých na heroinu bylo provedeno ještě kontrolní vyšetření po 1 roce substituční léčby metadonem. Průměrná dávka metadonu byla 90 ± 5 mg/den.

Vyšetřované osoby byly sledovány a vyšetřovány na 3. interní klinice – klinice endokrinologie a metabolismu, 1. chirurgické klinice – břišní, hrudní a úrazové chirurgie a Psychiatrické klinice 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Všechny osoby zařazené do studií byly informovány o účelu vyšetření a poskytly svůj informovaný souhlas. Studie byly provedeny v souladu s Helsinskou deklarací a se souhlasem Etické komise Všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

3.2 Měření sledovaných parametrů

3.2.1 Stanovení hormonálních a biochemických parametrů

Sérové koncentrace solubilních cytoadhezivních molekul ICAM-1, VCAM-1 a E-selektinu byly stanoveny multiplexovou imunoanalýzou kitem HumanCardiovascularDisease LINCOplex Kit na přístroji Luminex®200 (LINCO Research, USA). Senzitivita měření byla 9 pg/ml pro ICAM-1, 16 pg/ml pro VCAM-1 a 79 pg/ml pro E-selektin. Intra- a interassay variabilita byla $< 12,0$ % resp. $< 16,0$ %.

Sérové hladiny leptinu a rezistinu byly stanoveny komerčním ELISA kitem (Bio Vendor, Brno, ČR). Senzitivita měření pro leptin byla 0,12 ng/ml. Intra- a interassay variabilita byla 1,7 % resp. 8,0 %. Senzitivita měření pro rezistin byla 0,2 ng/ml, intra- a interassay variabilita 3,1 % resp. 6,5 %. Sérové hladiny adiponektinu byly měřeny komerčním RIA kitem (Linco Research, Inc., USA). Senzitivita měření byla 1,0 ng/ml, intra- a interassay variabilita byla < 5,0 % resp. < 10,0 %.

Sérové hladiny inzulínu byly měřeny komerčním RIA kitem (Cis Bio International, Francie). Senzitivita měření byla 2,0 μ IU/ml, intra- a interassay variabilita byla 4,2 % a 8,8 %.

Sérové hladiny adiponektinu a rezistinu ve studii se stanovením polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin u obézních žen a žen s mentální anorexií byly měřeny komerčním ELISA kitem (Linco Research, Inc., USA). Analytické parametry souprav jsou uvedeny výše. Hladiny inzulínu byly měřeny RIA kitem (Immunotech, CR). Citlivost měření byla 5,0 μ IU/ml, intra- a interassay variabilita byla < 5,0 % resp. < 10,0 %. Sérové koncentrace TNF- α byly měřeny ELISA kitem (R&D Systems, USA). Citlivost měření byla 0,18 pg/ml, intra- a interassay variabilita byla < 8,0 % resp. < 12,0 %. Hladiny glykovaného hemoglobinu byly měřeny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie v Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

Sérové koncentrace myeloperoxidázy (MPO, myeloperoxidase) a metaloproteinázy 9 (MMP-9, metalloproteinase 9) byly stanoveny multiplexovou imunoanalýzou kitem HumanCardiovascularDisease LINCOPlex Kit na přístroji Luminex®200 (LINCO Research, USA). Senzitivita měření byla 9 pg/ml pro MPO a 7 pg/ml pro MMP-9. Intra- a interassay variabilita byla 8,5-16,3 % resp. 4,5-12,3 %.

V podstudii s pacienty závislými na heroinu byly hladiny C-reaktivního proteinu (CRP) měřeny pomocí standardních metod Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Pro další studie bylo zavedeno měření CRP v naší Laboratoři endokrinologie a metabolismu na 3. interní klinice a hladiny CRP byly stanoveny použitím Ultra-Sensitive CRP ELISA kitu (Diagnostic Systems Laboratories, Inc., USA). Senzitivita měření byla 1,6 ng/ml, intra- a interassay variabilita < 5,0 %, resp. < 9,0 %.

Biochemické parametry v krvi a v moči byly stanoveny pomocí standardních laboratorních metod v Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

Index inzulinové rezistence, tzv. HOMA-R (homeostasis model assessment of insulin resistance) index byl vypočítán pomocí následující rovnice: sérová koncentrace inzulinu nalačno (mIU/l) x sérová koncentrace glukózy nalačno (mmol/l) / 22,5 (Matthews 1985).

3.2.2 Stanovení exprese mRNA a obsahu proteinů pro cytoadhezivní molekuly a další sledované molekuly v tukové tkáni

3.2.2.1 Stanovení mRNA exprese

Celková RNA byla získána ze 60 – 100 mg subkutánní nebo viscerální tukové tkáně homogenizací použitím přístroje MagNA Lyser Instrument (Roche Diagnostic, GmbH, Mannheim, Německo) a následnou izolací RNA na přístroji MagNA Pure Compact použitím kitu MagNA Pure Compact RNA Isolation Kit (Roche Diagnostics, GmbH, Německo). Podrobněji viz práce Lacinové a kol. (Lacinova 2008).

Koncentrace a čistota RNA byla měřena spektrofotometricky (BioPhotometr Eppendorf AG, Hamburg, Německo). Průměrná koncentrace RNA byla $58,1 \pm 15,2$ ug/ml, poměr R260 / 280 nm byl $1,88 \pm 0,08$. Integrita vláknů RNA byla hodnocena vizualizací 18S a 28S RNA proužků na 1 % agarózovém gelu s přidavkem ethidium bromidu.

0,1 – 1 µg celkové RNA bylo použito k reverzní transkripci a vytvoření prvního vláknů cDNA použitím oligo(dT) primerů, dle instrukcí výrobce kitu Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas Life Science, Vilnius, Litva).

cDNA byla použita k měření genové exprese E-selektinu, ICAM-1, VCAM-1, MCP-1, markeru monocytů/makrofágů CD68 a 18S RNA metodou real-time PCR na přístroji ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) s použitím TaqMan[®] Universal PCR Master Mix, No AmpErase[®] UNG a specifické hydrolyzační sondy TaqMan[®] Gene Expression Assays.

Polymerázové řetězové reakce pro jednotlivé geny probíhaly jednotlivě a s dvojitou kontrolou. S každou reakcí byla současně prováděna slepá kontrola bez přidání cDNA. Zvýšení fluorescence bylo měřeno v reálném čase a byla stanovena tzv. C_T hodnota – počet cyklů, ve kterých fluorescence dosáhne prahové hodnoty (threshold cycle).

Ke kompenzaci variability použitého množství RNA a rozdílů ve výtěžnosti reverzní transkripce byla jako vnitřní kontrola použita 18S RNA. Zjištěné výsledky byly normalizovány k expresi RNA pro 18S. Relativní genová exprese byla určena dle následující rovnice: $2^{-\Delta\Delta(\text{CT cytokine} - \text{CT 18S RNA})}$.

3.2.2.2 Stanovení obsahu proteinů

Přibližně 100 – 200 mg tukové tkáně (vzorek subkutánního nebo viscerálního tuku) bylo homogenizováno ve 250 μl ledového homogenizačního pufru se složením: 10 % glycerol, 150 mmol/l NaCl, 2 mmol/l EDTA, 1 mmol/l PMSF, 25 mmol/l benzamidinu, 10 $\mu\text{mol/l}$ leupeptinu, 2,5 $\mu\text{mol/l}$ pepstatinu A a 50 U/ml aprotininu v 10 mmol/l Tris-HCl (pH 7,0) (Wu 2001). Homogenát byl centrifugován rychlostí 3000 x g 15 minut při teplotě 4°C, byla odstraněna tuková vrstva a homogenát byl opět centrifugován rychlostí 14000 x g po dobu 20 minut při teplotě 4°C. Po centrifugaci byly vzorky supernatantu uchovány v – 70°C do dalšího zpracování.

Obsah proteinu cytoadhezivních molekul v homogenátu tukové tkáně byl stanoven pomocí kitu HumanCardiovascularDisease LINCOPlex Kit na přístroji Luminex®200 (LINCO Research, USA). Výsledky byly normalizovány k celkovému obsahu proteinu. Celková koncentrace proteinů ve vzorku byla určena po přidání barevného činidla dle protokolu výrobce (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA).

3.2.3 Stanovení polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou

DNA byla izolována z 500 μl nesrážlivé krve (odběry nejčastěji do K₃EDTA) použitím kitu MagNA Pure Nucleid Acid Isolation Kit na přístroji MagNA Pure Compact (obojí Roche Diagnostic, GmbH, Mannheim, Německo). Průměrná koncentrace DNA ($127,5 \pm 5,05 \mu\text{g/ml}$) byla stanovena při absorbanci 260 nm (BioPhotometr Eppendorf AG, Hamburg, Německo), poměr absorbance R₂₆₀ / 280 nm jednotlivých vzorků byl mezi 1,6 a 1,8. K hodnocení integrity vlákna DNA byla použita elektroforéza na 0,8 % agarózovém gelu s přídatkem ethidium bromidu.

Izolovaná DNA byla použita k měření dvou vybraných jednonukleotidových polymorfizmů genu pro adiponektin (45 T>G, 276 G>T) a dvou jednonukleotidových polymorfizmů genu pro rezistin (62 G>A, -180 C>G).

Uvedené jednonukleotidové polymorfizmy (single nucleotide polymorphisms, SNPs) pak byly vyhledávány použitím polymerázové řetězové reakce (polymerase chain reaction, PCR) na přístroji MyCycler™ Thermo Cycler Instrument (Bio-Rad, USA) a následnou restriční analýzou (RFLP).

Směs pro jednotlivé reakce (PCRs) obsahovala 2x PPP Master Mix (Top-Bio s.r.o., ČR), primery (tzv. forward a reverse primer), PCR H₂O (Top-Bio s.r.o., ČR) a 150 ng DNA. Sekvence primerů a podmínky PCR a RFLP viz Tabulka 2 a 3.

Produkty PCR a RFLP byly detekovány elektroforeticky na 2 % agarózovém gelu s přídavkem 1 % ethidium bromidu a verifikovány sekvenací, tzv. sequence-based typing, na přístroji ABI PRISM 310 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Tabulka 2. Stanovení jednonukleotidového polymorfizmu genu pro adiponektin 45 T>G a 276 G>T.

	45 T>G	276 G>T
Forward primer *	5' – GAA GTA GAC TCT GCT GAG ATG G – 3'	5' – GGC CTC TTT CAT CAC AGA CC – 3'
Reverse primer *	5' – TAT CAG TGT AGG AGG TCT GTG ATG – 3'	5' – AGA TGC AGC AAA GCC AAA GT – 3'
PCR postup	95°C / 5 min 1x 95°C / 60 s 35x 58°C / 45 s 35x 72°C / 45 s 35x 72°C / 5 min 1x	95°C / 5 min 1x 95°C / 60 s 35x 58°C / 45 s 35x 72°C / 45 s 35x 72°C / 5 min 1x
Délka produktů PCR	372 bp	196 bp
Restriční enzym	Sma I [°]	Mva 1269 I [°]
RFLP postup	30°C / 24 hod	37°C / 24 hod
Délka produktů RFLP	V přítomnosti G alely: 219 bp a 153 bp V přítomnosti T alely: 372 bp	V přítomnosti G alely: 148 bp a 48 bp V přítomnosti T alely: 196 bp

* sekvence primerů dle Xita a kol. (Xita 2004)

° Fermentas Life Sciences, Litva

Tabulka 3. Stanovení jednonukleotidového polymorfizmu genu pro rezistin 62 G>A a -180 C>G.

	62 G>A	-180 C>G
Forward primer *	5' – GCC GAG ACC ACA TGT CAC T – 3'	5' – TTT TGT CAT GTT TGC ATC AGC – 3'
Reverse primer *	5' – CCT CCG GGC CTA CTA AAG AA – 3'	5' – AGA TGC AGC AAA GCC AAA GT – 3'
PCR postup	96°C / 2 min 1x 94°C / 30 s 35x 54,3°C / 30 s 35x 72°C / 30 s 35x 72°C / 5 min 1x	96°C / 2 min 1x 94°C / 30 s 35x 58,2°C / 30 s 35x 72°C / 30 s 35x 72°C / 5 min 1x
Délka produktů PCR	233 bp	330 bp
Restrikční enzym	BseR I °°	Bpi I °
RFLP postup	37°C / 24 hod	37°C / 24 hod
Délka produktů RFLP	V přítomnosti A alely: 151 bp a 82 bp V přítomnosti T alely: 233 bp	V přítomnosti C alely: 202 bp a 128 bp V přítomnosti G alely: 330 bp

* sekvence primerů dle prací Tan a kol., resp. Smith a kol. (Smith 2003; Tan 2003)

° Fermentas Life Sciences, Litva; °° New England Biolabs, USA

Vysvětlivky: PCR = polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction); RFLP = polymorfismus délky restrikčních fragmentů (restriction fragment length polymorphism)

3.3 Statistické zpracování

Ke statistické analýze dat byl použit statistický program SigmaStat (SSPS, Jandel Scientific, USA). Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SEM (standard error of means), pokud není uvedeno jinak. K vyhodnocení dat byly dle typu dat v jednotlivých podstudíích použity následující metody a testy: párový a nepárový *t*-test resp. Mann-Whitney Rank Sum Test, jednocestná analýza rozptylu (One-Way ANOVA), korelační testy Pearson a Spearman. K hodnocení rozdílů ve frekvenci výskytu polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin byla použita frekvenční analýza, Fisherův faktoriálový test (Fisher Exact Test) a Chí-kvadrát test (Chi-Square Test). Za statisticky významnou byla považována hladina $p < 0,05$.

4. VÝSLEDKY

4.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně

4.1.1 Charakteristika pacientů

Do studie bylo zařazeno 25 obézních žen a 14 kontrolních štíhlých žen (BMI $23,8 \pm 0,6 \text{ kg/m}^2$). Obézní pacientky byly dle BMI rozděleny do dvou skupin: skupina 1 s BMI 30 – 40 kg/m^2 (průměr BMI: $35,7 \pm 0,9 \text{ kg/m}^2$) a skupina 2 s BMI nad 40 kg/m^2 (průměr BMI: $46,2 \pm 0,8 \text{ kg/m}^2$). Antropometrické a biochemické parametry obézních pacientek a kontrolních štíhlých žen jsou uvedeny v tabulce 4. Pacientky obézní skupiny 2 s BMI nad 40 byly v průměru o 6 let mladší než pacientky kontrolní skupiny, tento rozdíl však nebyl statisticky významný. U obézních žen jsme zaznamenali podle očekávání signifikantně vyšší BMI, vyšší hladiny CRP a glykémie a snížené hladiny HDL-cholesterolu ve srovnání s kontrolní skupinou. Glykovaný hemoglobin, LDL-cholesterol, systolický ani diastolický krevní tlak se mezi skupinami nelišily. Hladina celkového cholesterolu byla snižena u obézní skupiny 2 proti kontrolní skupině, naproti tomu hladina triglyceridů byla zvýšená jen u obézní skupiny 1 pacientek s BMI 30 – 40 ve srovnání s kontrolami. Sérové hladiny inzulinu a HOMA index byly významně zvýšeny u obou obézních skupin ve srovnání s kontrolní skupinou.

4.1.2 Sérové koncentrace solubilních cytoadhezivních molekul

Sérové koncentrace E-selektinu a ICAM-1 byly signifikantně vyšší u obézní skupiny 2 s BMI nad 40 kg/m^2 oproti kontrolní skupině. Sérové koncentrace solubilní VCAM-1 se mezi srovnávanými skupinami pacientek nelišily. Výsledky viz tabulka 4.

Tabulka 4. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry obézních pacientek a kontrolních štíhlých žen

	Kontrolní skupina (n = 14)	Obézní skupina 1 BMI 30-40 (n = 12)	Obézní skupina 2 BMI > 40 (n = 13)
Věk (roky)	49,9 ± 2,9	48,7 ± 2,4	43,5 ± 2,3
BMI (kg/m ²)	23,8 ± 0,6	35,7 ± 0,9 **	46,2 ± 0,8 ** °°
C-reaktivní protein (mg/l)	3,0 ± 0,7	23,3 ± 6,3 *	20,2 ± 3,4 **
Glykémie (mmol/l)	4,1 ± 0,25	5,6 ± 0,2 **	6,6 ± 0,9 *
Glykovaný hemoglobin HbA1c (dle IFCC) (%)	3,8 ± 0,06	3,8 ± 0,15	4,7 ± 0,4
Celk. cholesterol (mmol/l)	5,1 ± 0,3	4,7 ± 0,15	4,4 ± 0,2 *
LDL-cholesterol (mmol/l)	3,4 ± 0,2	2,9 ± 0,16	2,8 ± 0,2
Triglyceridy (mmol/l)	1,1 ± 0,15	1,8 ± 0,2 *	1,5 ± 0,14
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,2 ± 0,06	0,9 ± 0,05 **	0,9 ± 0,08 *
Inzulín (mIU/l)	8,6 ± 1,2	20,8 ± 3,5 *	21,6 ± 5,9 *
HOMA index	1,4 ± 0,2	4,7 ± 1,2 *	4,9 ± 1,4 *
Systolický krevní tlak (mmHg)	121 ± 3,5	129 ± 3,6	130 ± 4,4
Diastolický krevní tlak (mmHg)	74 ± 2,4	82 ± 2,2	82 ± 3,6
Solubilní E-selektin (ng/ml)	14,7 ± 1,4	16,4 ± 1,7	25,1 ± 3,2 *
Solubilní ICAM-1 (ng/ml)	147,1 ± 9,5	155,1 ± 10,9	194,4 ± 17,6 *
Solubilní VCAM-1 (ng/ml)	891,2 ± 78,2	908,1 ± 36,3	965,5 ± 70,3

* p < 0,05 obézní vs. kontrolní skupina, ** p < 0,001 obézní vs. kontrolní skupina;

°° p < 0,001 obézní skupina 2 (BMI > 40 kg/m²) vs. obézní skupina 1 (BMI 30 – 40 kg/m²)

Vysvětlivky: BMI = body mass index; IFCC = Světová federace klinické chemie a laboratorní medicíny (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine); LDL = lipoproteiny s nízkou hustotou (low density lipoprotein); HDL = lipoproteiny s vysokou hustotou (high density lipoprotein); HOMA index = index inzulínové rezistence (homeostasis model assessment of insulin resistance); ICAM-1 = intercelulární cytoadhezivní molekula 1; VCAM-1 = vaskulární cytoadhezivní molekula 1.

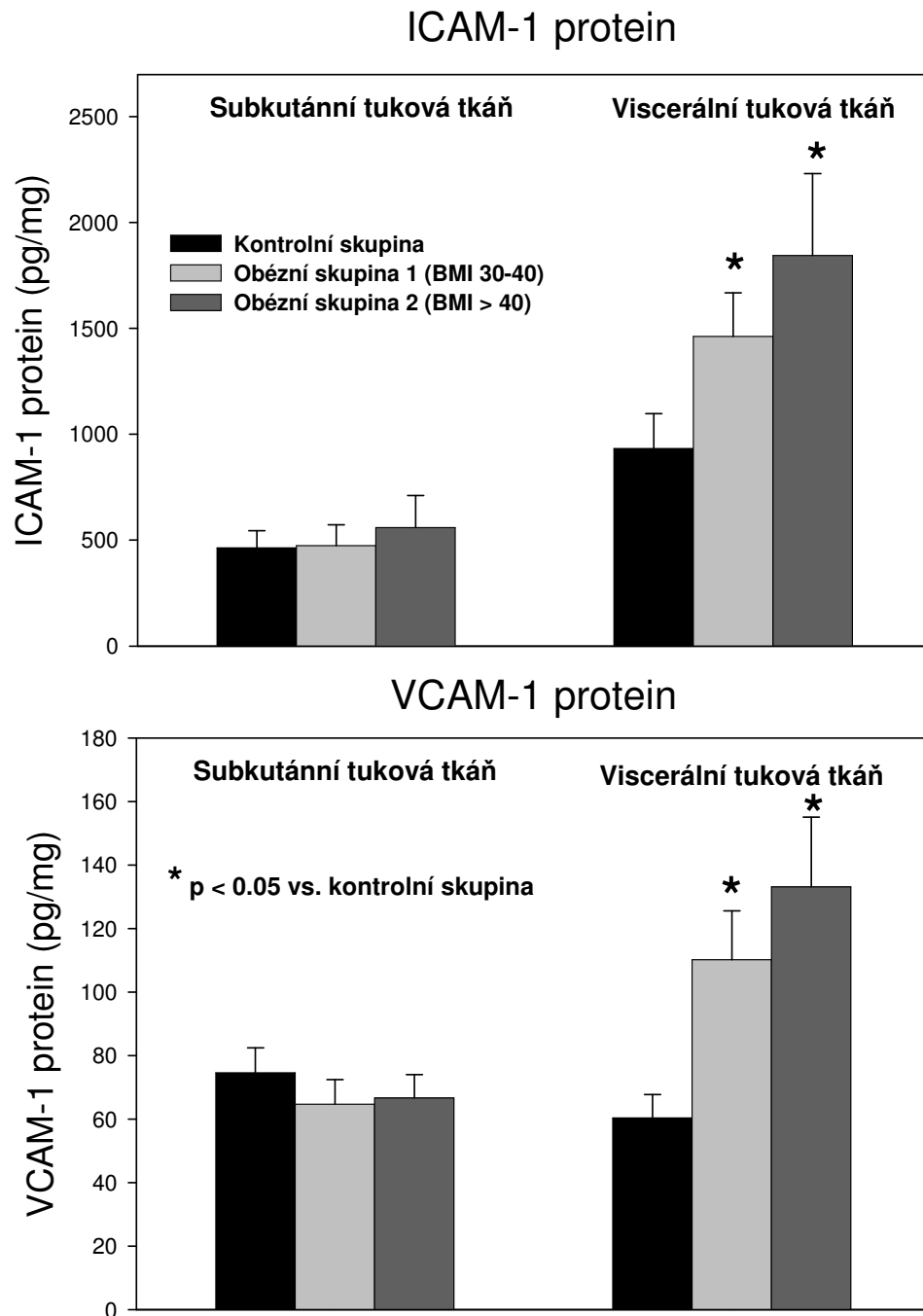
4.1.3 Exprese mRNA a obsah proteinu cytoadhezivních molekul v subkutánní a viscerální tukové tkáni

V subkutánní tukové tkáni nebyly zaznamenány rozdíly v expresích mRNA jednotlivých cytoadhezivních molekul E-selektinu, ICAM-1 a VCAM-1 mezi skupinami obézních a štíhlých žen (Obrázek 2). Podobně, množství proteinu ICAM-1 a VCAM-1 se v subkutánním tuku mezi skupinami nelišilo (Obrázek 1).

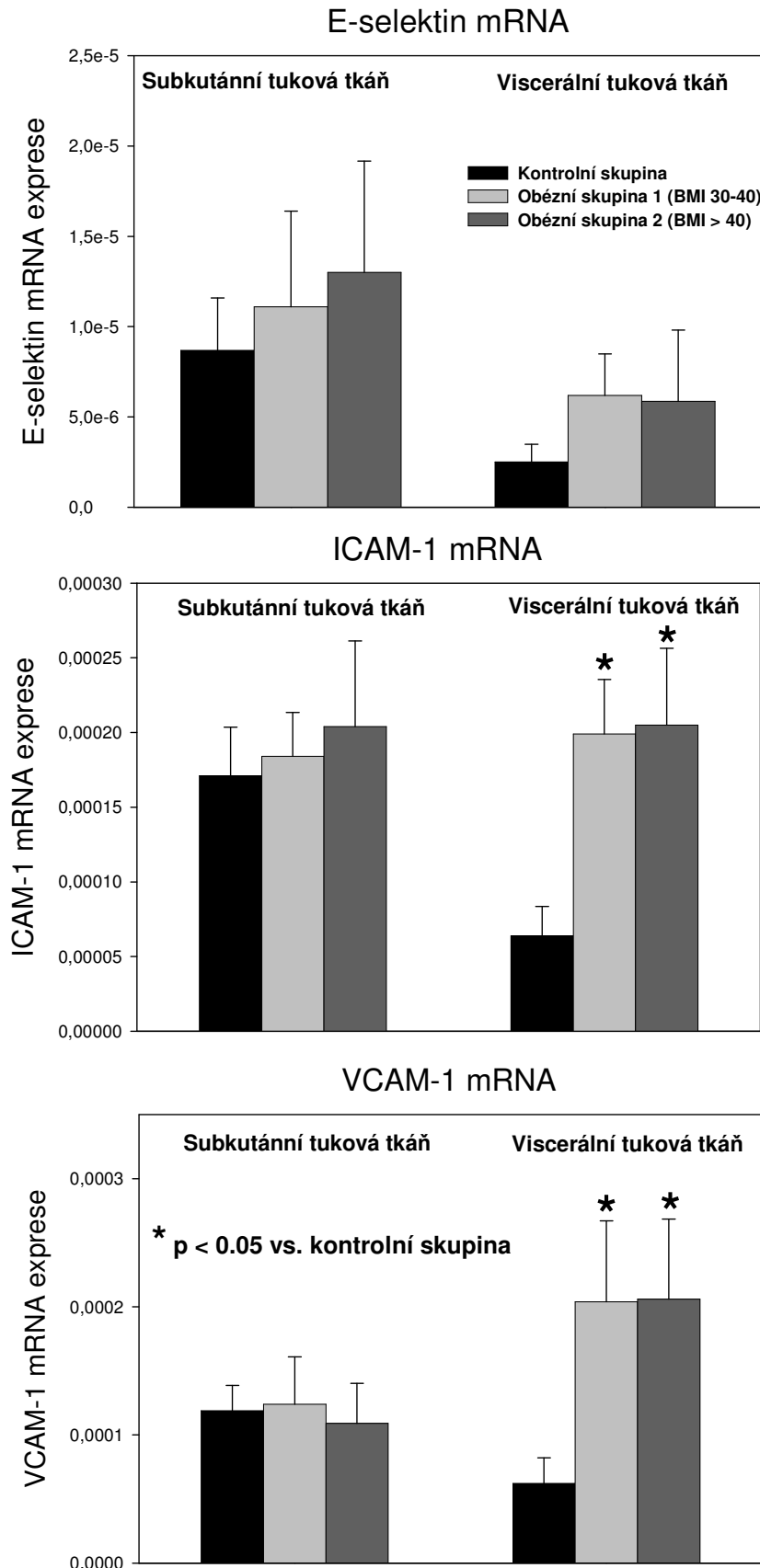
Ve viscerální tukové tkáni byla naopak exprese mRNA i množství proteinu pro ICAM-1 a VCAM-1 významně zvýšená v obou skupinách obézních žen ve srovnání s kontrolní skupinou. Exprese E-selektinu ve viscerálním tuku byla u obézních žen vyšší, výsledky však nedosáhly statistické významnosti. Viz obrázky 1 a 2.

Exprese CD68 byla u obézních pacientek signifikantně zvýšená ve viscerální, nikoliv však v subkutánní tukové tkáni. Exprese mRNA pro MCP-1 se mezi skupinami v jednotlivých typech tukové tkáně nelišila (Obrázek 3).

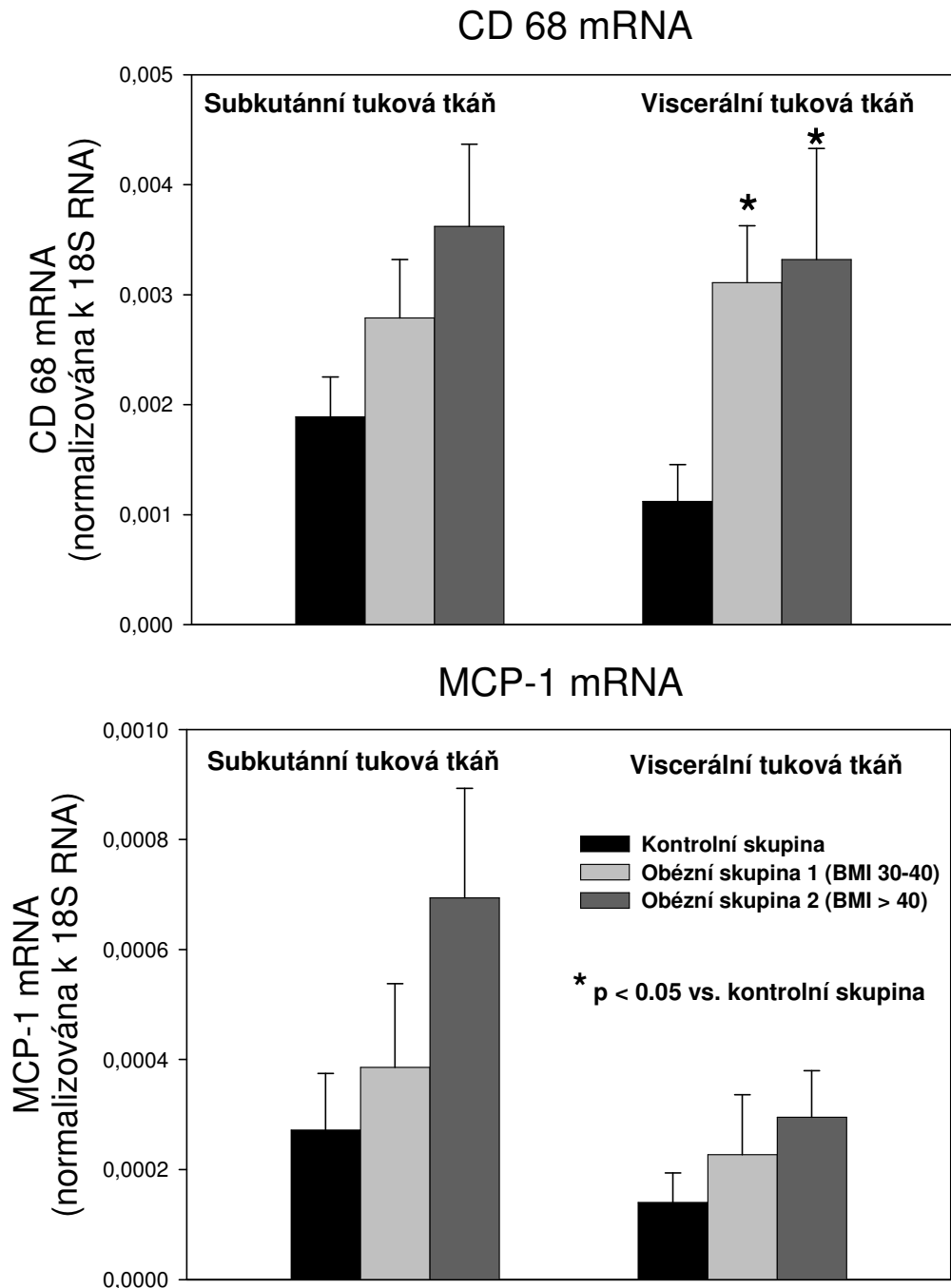
Obrázek 1. Množství proteinu intercelulární cytoadhezivní molekuly 1 (ICAM-1) (a) a vaskulární cytoadhezivní molekuly 1 (VCAM-1) (b) v subkutánní a viscerální tukové tkáni u kontrolní skupiny štíhlých žen (n = 14), obézní skupiny 1 s BMI 30-40 (n = 12) a obézní skupiny 2 s BMI nad 40 kg/m² (n = 13).



Obrázek 2. mRNA exprese E-selektinu (a), intercelulární cytoadhezivní molekuly 1 (ICAM-1) (b), a vaskulární cytoadhezivní molekuly 1 (VCAM-1) (c) v subkutánní a viscerální tukové tkáni u kontrolní skupiny štíhlých žen (n = 14), obézní skupiny 1 s BMI 30-40 kg/m² (n = 12) a obézní skupiny 2 s BMI nad 40 kg/m² (n = 13).



Obrázek 3. mRNA exprese markeru monocytů/makrofágů CD 68 (a) a monocytárního chemoatraktivního proteinu 1 (MCP-1) (b) v subkutánní a viscerální tukové tkáni u kontrolní skupiny štíhlých žen (n = 14), obézní skupiny 1 s BMI 30-40 kg/m² (n = 12) a obézní skupiny 2 s BMI nad 40 kg/m² (n = 13).



4.1.4 Korelace mezi cytoadhezivními molekulami a dalšími sledovanými parametry

Korelace mezi jednotlivými sledovanými parametry byly hodnoceny v kombinované populaci všech skupin. Hladiny solubilního E-selektinu pozitivně korelovaly s BMI, glykemií, HOMA indexem, hladinami ICAM-1 a VCAM-1 a systolickým krevním tlakem. Hladiny solubilní ICAM-1 pozitivně korelovaly s glykovaným hemoglobinem, systolickým krevním tlakem a hladinou VCAM-1. Hladiny VCAM-1 pozitivně korelovaly s HDL-cholesterolem (data neuvedena).

V subkutánní tukové tkáni hladina proteinu ICAM-1 významně korelovala s hladinou solubilní ICAM-1. Expresí mRNA pro ICAM-1 a VCAM-1 v subkutánním tuku signifikantně pozitivně korelovaly s expresí CD68. Expresí VCAM-1 a E-selektinu v subkutánním tuku pozitivně korelovaly s hladinou inzulínu (Tabulka 5).

Ve viscerálním tuku pozitivně korelovaly expresí mRNA i množství proteinu pro ICAM-1 a VCAM-1 s BMI. Expresí mRNA pro E-selektin a ICAM-1 pozitivně korelovaly s hladinou glykovaného hemoglobinu a expresí mRNA pro MCP-1. Ve viscerální tukové tkáni byly dále zjištěny pozitivní korelace expresí mRNA všech cytoadhezivních molekul s expresí mRNA pro CD68. Hladiny proteinu ICAM-1 ve viscerálním tuku pozitivně korelovaly se sérovými triglyceridy a glykemií. Expresí CD68 pozitivně korelovala s BMI v subkutánní i ve viscerální tukové tkáni (Tabulka 5).

Tabulka 5. Korelace mezi expresí mRNA a hladinami proteinů pro cytoadhezivní molekuly v tukové tkáni a dalšími sledovanými parametry u obézních a štíhlých žen; hodnoceno v kombinované populaci všech skupin (n = 39) použitím Pearsonova resp. Spearmanova korelačního testu.

	BMI	Subkutánní tuková tkáň					Viscerální tuková tkáň				
		ICAM-1 protein	VCA M-1 protein	E-selektin mRNA	ICAM-1 mRNA	VCA M-1 mRNA	ICAM-1 protein	VCAM-1 protein	E-selektin mRNA	ICAM-1 mRNA	VCAM-1 mRNA
BMI	-	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0,35 p = 0,04	r = 0,39 p = 0,01	NS	r = 0,41 p = 0,01	r = 0,38 p = 0,03
Solubilní E-selektin	r = 0,43 p = 0,006	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0,36 p = 0,04	NS
Solubilní ICAM-1	NS	r = 0,36 p = 0,02	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Solubilní VCAM-1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Triglyceridy	NS	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0,36 p = 0,04	NS	NS	NS	NS
Glykémie	r = 0,52 p = 0,001	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0,53 p = 0,002	NS	NS	NS	NS
Glykovaný hemoglobin	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0,52 p = 0,009	r = 0,36 p = 0,04	NS
Inzulín	r = 0,54 p = 0,008	NS	NS	r = 0,71 p < 0,001	NS	r = 0,53 p = 0,02	NS	NS	NS	NS	NS
CD68 mRNA s.c.	r = 0,43 p = 0,02	NS	NS	NS	r = 0,43 p = 0,03	r = 0,44 p = 0,03	NS	NS	NS	NS	NS
CD68 mRNA visc.	r = 0,45 p = 0,007	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0,54 p = 0,008	r = 0,79 p < 0,001	r = 0,73 p < 0,001
MCP-1 mRNA visc.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0,49 p = 0,03	r = 0,46 p = 0,01	NS

Vysvětlivky: BMI = body mass index; ICAM-1 = intercelulární cytoadhezivní molekula 1; VCAM-1 = vaskulární cytoadhezivní molekula 1; CD68 = marker monocytů/makrofágů; MCP-1 = monocytární chemoatraktivní protein 1 (monocyte chemoattractant protein-1), s.c. = subkutánní, visc. = viscerální, NS = nesignifikantní.

4.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou a jejich vliv na metabolický fenotyp

4.2.1 Charakteristika pacientů

Charakteristiky pacientů jsou uvedeny v tabulce 6. BMI byl podle očekávání významně vyšší u obézních pacientek a nižší u pacientek s mentální anorexií ve srovnání s kontrolní skupinou. Glykémie, hladina inzulínu a HOMA index byly signifikantně vyšší ve skupině obézních žen ve srovnání s kontrolní skupinou i skupinou s mentální anorexií. Hladina glykovaného hemoglobinu byla zvýšená u obézních žen proti kontrolní skupině, naproti tomu snižena u pacientek s mentální anorexií ve srovnání s oběma dalšími skupinami. Hladina cholesterolu se mezi jednotlivými skupinami významně nelišila.

Sérová hladina adiponektinu byla signifikantně snižena u obézních žen ve srovnání s kontrolní skupinou, u žen s mentální anorexií byla naopak zvýšená proti kontrolám. Sérová hladina rezistinu byla zvýšená u obézní skupiny ve srovnání s kontrolami a snižena u žen s mentální anorexií ve srovnání s kontrolní skupinou. Sérová hladina TNF- α se mezi skupinami významně nelišila.

Tabulka 6. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry obézních pacientek, pacientek s mentální anorexií a kontrolních štíhlých žen

	Kontrolní skupina (n = 38)	Pacientky s mentální anorexií (n = 28)	Obézní pacientky (n = 77)
BMI (kg/m ²)	22,3 ± 0,4	15,7 ± 0,4 ** ++	43,5 ± 1,1 ** °°
Glykémie (mmol/l)	4,1 ± 0,2	3,9 ± 0,05 ++	5,6 ± 0,2 ** °°
Inzulín (mIU/l)	15,5 ± 1,9	11,5 ± 1,1 ++	32,6 ± 2,6 ** °°
HOMA index	3,0 ± 0,4	2,0 ± 0,2 ++	8,65 ± 0,8 ** °°
Glykovaný hemoglobin HbA _{1c} (dle IFCC) (%)	3,7 ± 0,07	3,4 ± 0,1 * ++	4,2 ± 0,1 * °°
Celk. cholesterol (mmol/l)	4,9 ± 0,1	4,8 ± 0,2	4,9 ± 0,1
Adiponektin (µg/ml)	33,2 ± 4,4	58,4 ± 7,2 * ++	17,0 ± 1,2 ** °°
Rezistín (ng/ml)	6,3 ± 0,5	3,9 ± 0,3 * ++	8,1 ± 0,6 * °°
TNF-α (ng/ml)	0,9 ± 0,2	1,4 ± 0,3	2,3 ± 0,9

* p < 0,05 vs. kontrolní skupina;

** p < 0,001 vs. kontrolní skupina

+ p < 0,05 vs. obézní skupina;

++ p < 0,001 vs. obézní skupina

° p < 0,05 vs. skupina s mentální anorexií;

°° p < 0,001 vs. skupina s mentální anorexií

Vysvětlivky: BMI = body mass index; HOMA index = index inzulínové rezistence (homeostasis model assessment of insulin resistance); IFCC = Světová federace klinické chemie a laboratorní medicíny (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine); TNF-α = tumor nekrotizující faktor α.

4.2.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin a jejich vztah k metabolickým parametrům

Frekvence sledovaných genotypů se mezi jednotlivými skupinami nelišila. Celkově se častěji vyskytovaly: alela G v locusu 62, alela C v locusu -180 genu pro rezistin (RETN), alela T v locusu 45 a alela G v locusu 276 genu pro adiponektin (ADP), než alely A, G, G a T v odpovídajících locusech (RETN 62: $p < 0,0001$; RETN -180: $p < 0,0002$; ADP 45: $p < 0,0001$; ADP 276: $p < 0,0001$). Alela G v locusu 62 genu RETN se vyskytovala u 94% subjektů kontrolní skupiny, 100% subjektů s mentální anorexií a 96% subjektů s obezitou. Frekvence alely C v locusu -180 RETN byla 81% u kontrol, 65% u žen s mentální anorexií, 65% u obézních žen. T alela v pozici 45 genu ADP byla přítomna u 95% kontrol, 100% žen s mentální anorexií, 94% obézních žen. G alela v pozici 276 genu ADP byla přítomna u 83% kontrol, 71% žen s mentální anorexií a 72% obézních žen (Tabulka 7).

Pro další analýzu byla každá skupina dle genotypu rozdělena na podskupiny. U pacientek s mentální anorexií a nositelek minoritní alely T v pozici 276 genu ADP byly zjištěny vyšší sérové hladiny celkového cholesterolu ve srovnání s nositelkami G/G genotypu ($5,8 \pm 0,3$ vs. $4,6 \pm 0,2$ mmol/l, $p < 0,05$). Navíc nositelky minoritní alely G v pozici -180 genu pro rezistin měly vyšší BMI ve srovnání s nositelkami C/C genotypu ($16,1 \pm 0,4$ vs. $14,5 \pm 0,6$ kg/m², $p < 0,05$).

U obézních pacientek byla přítomnost minoritní alely T pro ADP 276 spojena s vyšší sérovou hladinou adiponektinu než u obézních G/G homozygotů ($18,9 \pm 1,9$ vs. $14,7 \pm 1,4$ μg/ml, $p < 0,05$). U obézních pacientek s minoritní alelou A v pozici 62 RETN jsme zaznamenali vyšší hladiny cholesterolu ve srovnání s nositelkami G/G genotypu ($6,15 \pm 0,5$ vs. $4,8 \pm 0,4$ mmol/l, $p < 0,001$).

V kontrolní skupině byly u nositelek minoritní alely T genu ADP 276 zaznamenány nižší hladiny glykovaného hemoglobinu ve srovnání s G/G genotypem v kontrolní skupině ($3,6 \pm 0,1$ vs. $3,8 \pm 0,06$ %, $p < 0,05$). Podobně, přítomnost minoritní alely A v pozici 62 RETN byla také spojena s nižší hladinou glykovaného hemoglobinu ve srovnání s genotypem G/G ($3,3 \pm 0,13$ vs. $3,8 \pm 0,05$ %, $p < 0,001$).

Tabulka 7. Frekvence alel sledovaných jednonukleotidových polymorfizmů u pacientek s obezitou, s mentální anorexií a kontrolní skupiny štíhlých žen

		Kontrolní skupina (n = 38)	Pacientky s mentální anorexií (n = 28)	Obézní pacientky (n = 77)
RETN 62	Alela G	94 %	100 %	96 %
	Alela A	6 %	0 %	4 %
RETN -180	Alela C	81 %	65 %	65 %
	Alela G	19 %	35 %	35 %
ADP 45	Alela T	95 %	100 %	94 %
	Alela G	5 %	0 %	6 %
ADP 276	Alela G	83 %	71 %	72 %
	Alela T	17 %	29 %	28 %

Vysvětlivky: RETN = gen pro rezistin; ADP = gen pro adiponektin.

4.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem

4.3.1 Charakteristika pacientů s feochromocytomem před a po léčbě

Charakteristiky pacientů vstupní při diagnóze feochromocytomu a 6 měsíců po operační léčbě jsou uvedeny v tabulce 8. Vstupně byly systolický a diastolický krevní tlak, celkový cholesterol, hladina lačné glykémie a glykovaného hemoglobinu u skupiny pacientů s feochromocytomem vyšší než normální rozmezí naší laboratoře. Odstranění feochromocytomu vedlo po 6 měsících k signifikantnímu vzestupu BMI, k poklesu průměrných hodnot systolického a diastolického krevního tlaku zjištěných 24 – hodinovým monitorováním a ke snížení hladin lačné glykémie a glykovaného hemoglobinu. Hodnoty celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu a triglyceridů a hladin inzulínu se po léčbě významně nezměnily.

Tabulka 8. Charakteristiky pacientů s feochromocytomem před a po léčbě

	Před léčbou (n = 18)	Po léčbě (n = 18)	
Pohlaví (ženy/muži)	7/11	7/11	
Věk (roky)	45,7 ± 2,9	46,5 ± 2,7	
BMI (kg/m ²)	24,3 ± 0,8	25,5 ± 0,9 **	** p < 0,001
Systolický krevní tlak (mmHg)	137 ± 4	126 ± 3 *	* p < 0,05
Diastolický krevní tlak (mmHg)	84 ± 4	82 ± 2	NS
Průměrný systolický krevní tlak dle 24-hodinového monitorování (mmHg)	134 ± 4	118 ± 2 **	** p < 0,001
Průměrný diastolický krevní tlak dle 24-hodinového monitorování (mmHg)	83 ± 3	74 ± 1 *	* p < 0,01
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,7 ± 0,3	5,5 ± 0,3	NS
Triglyceridy (mmol/l)	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,2	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	1,6 ± 0,06	1,4 ± 0,06	NS
Glykémie (mmol/l)	7,0 ± 0,4	4,7 ± 0,1 **	** p < 0,001
Glykovaný hemoglobin (dle IFCC) (%)	4,5 ± 0,3	3,8 ± 0,2 *	* p = 0,01
Hladiny inzulínu (μIU/ml)	19,2 ± 2,1	15,5 ± 1,5	NS
Hladiny adrenalinu v moči (nmol/g kreat)	377,9 ± 155	19,1 ± 2,8 *	* p < 0,05
Hladiny noradrenalinu v moči (nmol/g kreat)	2676 ± 438	176,9 ± 15,3 **	** p < 0,001

Vysvětlivky: BMI = body mass index; IFCC = Světová federace klinické chemie a laboratorní medicíny (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine); HDL = lipoproteiny s vysokou hustotou (high density lipoprotein); NS = nesignifikantní.

4.3.2 Sérové hladiny CRP, leptinu, adiponektinu a rezistinu u pacientů s feochromocytomem před a po léčbě

U pacientů s feochromocytomem došlo 6 měsíců po chirurgickém odstranění tumoru k významnému poklesu C-reaktivního proteinu. Naproti tomu po léčbě u pacientů nebyly zaznamenány signifikantní změny sérových hladin leptinu, adiponektinu nebo rezistinu a to i přes to, že po léčbě došlo u pacientů k statisticky významnému zvýšení BMI (Tabulka 9).

Při srovnání hladin leptinu u pacientů podle pohlaví byly zjištěny vyšší hladiny leptinu u žen než u mužů ($12,4 \pm 3,6$ vs. $3,2 \pm 0,8$ ng/ml, $p = 0,046$), před léčbou. U jiných parametrů nebyly zaznamenány významné rozdíly v závislosti na pohlaví.

Tabulka 9. Hladiny C-reaktivního proteinu a adipokinů u pacientů s feochromocytomem před a po léčbě

	Před léčbou (n = 18)	Po léčbě (n = 18)	
CRP (mg/l)	$0,492 \pm 0,123$	$0,235 \pm 0,051$ *	* $p < 0,05$
Leptin (ng/ml)	$6,76 \pm 1,78$	$8,79 \pm 2,86$	NS
Adiponektin (μ g/ml)	$20,01 \pm 2,49$	$18,34 \pm 2,49$	NS
Rezistin (ng/ml)	$5,34 \pm 0,5$	$5,56 \pm 0,55$	NS

Vysvětlivky: CRP = C-reaktivní protein, NS = nesignifikantní.

4.3.3 Korelace mezi hladinami adipokinů, antropometrickými parametry, krevním tlakem, CRP a biochemickými parametry

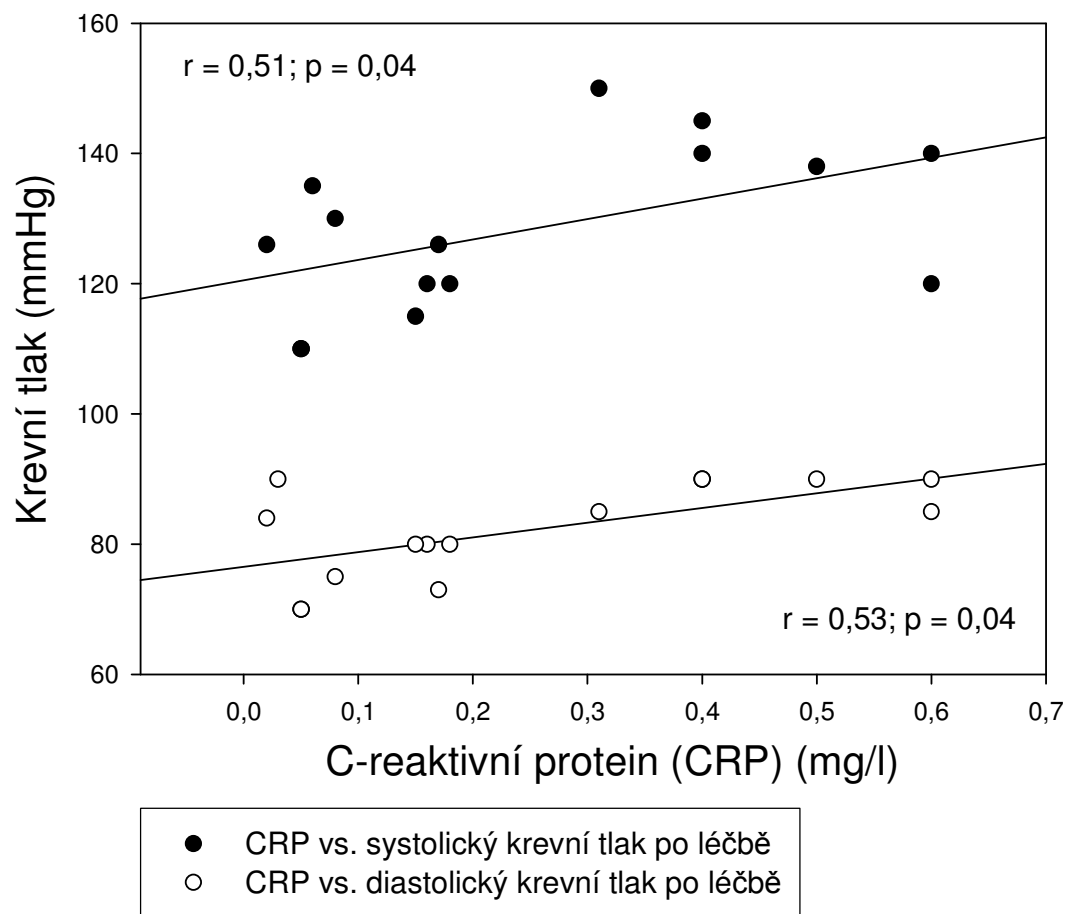
U pacientů před léčbou byla zjištěna pozitivní korelace sérových hladin leptinu s věkem ($r = 0,7$, $p = 0,001$), BMI ($r = 0,50$, $p = 0,01$), s triglyceridy ($r = 0,59$, $p = 0,01$) a hladinami inzulinu ($r = 0,54$, $p = 0,02$), a negativní korelace s průměrným diastolickým tlakem za 24 hodin ($r = - 0,59$, $p = 0,011$). Po odstranění feochromocytomu korelovaly hladiny leptinu s věkem ($r = 0,67$, $p = 0,02$), BMI ($r = 0,60$, $p = 0,01$) a triglyceridy ($r = 0,5$, $p = 0,04$). Nebyly zjištěny jiné statisticky významné korelace sérových hladin leptinu s jinými parametry, např. ani s hladinami adrenalinu a noradrenalinu v moči.

Sérové hladiny rezistinu pozitivně korelovaly s hladinou celkového cholesterolu po léčbě ($r = 0,61$, $p = 0,007$).

Mezi hladinami CRP a adipokiny nebyly zjištěny významné korelace. Hladina CRP pozitivně korelovala se systolickým a diastolickým krevním tlakem ($r = 0,51$, $p = 0,04$; resp. $r = 0,53$, $p = 0,04$) (Obrázek 4), s celkovým cholesterolem ($r = 0,65$, $p = 0,01$), triglyceridy ($r = 0,55$, $p = 0,03$) a hladinami adrenalinu ve sběru moči za 24 hodin ($r = 0,56$, $p = 0,02$) u pacientů po chirurgické léčbě. Nebyly zjištěny další statisticky významné korelace mezi CRP, adipokiny, katecholaminy a dalšími sledovanými parametry.

Obrázek 4.

Korelace mezi průměrným systolickým a diastolickým krevním tlakem a hladinou CRP u pacientů po chirurgickém odstranění feochromocytomu ($n = 18$).



4.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem

4.4.1 Charakteristika pacientů a zdravých kontrolních subjektů

BMI pacientů s chronickou závislostí na heroinu se významně nelišil od zdravých kontrolních jedinců. Naproti tomu byly u pacientů závislých na heroinu zjištěny 4-násobně vyšší hladiny C-reaktivního proteinu ve srovnání s kontrolní skupinou (Tabulka 10).

Roční substituční léčba s podáváním metadonu vedla u pacientů závislých na heroinu k signifikantnímu zvýšení hladin celkové bílkoviny. Naproti tomu, po roce této léčby nebyly u závislých pacientů zaznamenány signifikantní změny BMI nebo CRP (Tabulka 11).

4.4.2 Markery endoteliální dysfunkce a adipokiny

Sérové hladiny solubilních cytoadhezivních molekul E-selektin, ICAM-1 a VCAM-1 byly u jedinců závislých na heroinu významně zvýšeny proti kontrolní skupině. Sérové koncentrace myeloperoxidázy (MPO) a metaloproteinázy 9 (MMP-9) byly vstupně u závislých jedinců ve srovnání s kontrolami signifikantně vyšší (Tabulka 10). Po roční odvykací léčbě s podáváním metadonu významně klesla hladina MMP-9, pokles hladin MPO po léčbě nedosáhl statistické významnosti ($p = 0,069$). Naopak, odvykací léčba nevedla ke změnám koncentrací cytoadhezivních molekul (Tabulka 11).

Sérové hladiny adiponektinu byly vstupně u pacientů závislých na heroinu významně snižené ve srovnání s kontrolní skupinou. Sérové hladiny rezistinu byly naopak u závislých jedinců 2-násobně zvýšené (Tabulka 10). Roční léčba metadonem neovlivnila signifikantně hladiny adiponektinu ani rezistinu (Tabulka 11).

Mezi cirkulujícími hladinami adiponektinu a rezistinu a hladinami cytoadhezivních molekul, myeloperoxidázy nebo metaloproteinázy nebyly zjištěny signifikantní korelace.

Tabulka 10. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientů s chronickou závislostí na heroinu a kontrolní skupiny

	Kontrolní skupina (n = 16)	Pacienti závislí na heroinu (n = 16)
BMI (kg/m ²)	22,1 ± 0,8	21,9 ± 0,6
Celková bílkovina (g/l)	78,9 ± 2,2	75,1 ± 2,1
C-reaktivní protein (mg/l)	2,9 ± 0,9	12,8 ± 2,9 *
Adiponektin (ug/ml)	26,1 ± 3,2	17,8 ± 2,1 *
Rezistin (ng/ml)	4,6 ± 0,5	8,4 ± 0,9 *
ICAM-1 (ng/ml)	111,4 ± 6,6	228,3 ± 30,5 *
VCAM-1 (ng/ml)	926,7 ± 55,9	1364 ± 135,5 *
E-selektin (ng/ml)	11,2 ± 1,0	24,0 ± 2,3 *
MPO (ng/ml)	37,6 ± 7,0	126,1 ± 21,7 *
MMP-9 (ng/ml)	149,7 ± 16,0	265,3 ± 36,1 *

* p < 0,05 vs. kontrolní skupina

Vysvětlivky: BMI = body mass index; ICAM-1 = intercelulární cytoadhezivní molekula 1; VCAM-1 = vaskulární cytoadhezivní molekula 1; MPO = myeloperoxidáza (myeloperoxidase); MMP-9 = metaloproteináza 9 (metalloproteinase 9).

Tabulka 11. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry pacientů s chronickou závislostí na heroinu před léčbou a po 1 roce užívání metadonu

	Pacienti závislí na heroinu před léčbou (n = 9)	Pacienti závislí na heroinu po léčbě (n = 9)
BMI (kg/m ²)	21,8 ± 1,0	22,2 ± 1,2
Celková bílkovina (g/l)	12,1 ± 2,3	11,0 ± 2,2
C-reaktivní protein (mg/l)	75,1 ± 3,3	79,2 ± 4,2 °
Adiponektin (ug/ml)	16,5 ± 3,0	17,0 ± 3,3
Rezistin (ng/ml)	8,8 ± 1,0	8,6 ± 1,0
ICAM-1 (ng/ml)	188,7 ± 20,4	219,5 ± 44,1
VCAM-1 (ng/ml)	1260 ± 109	1238 ± 135
E-selektin (ng/ml)	30,1 ± 3,1	25,7 ± 4,0
MPO (ng/ml)	123,2 ± 32	77,9 ± 20,9
MMP-9 (ng/ml)	235,9 ± 33,3	155,6 ± 17,1 °

° p < 0,05 vs. pacienti před léčbou

Vysvětlivky: BMI = body mass index; ICAM-1 = intercelulární cytoadhezivní molekula 1; VCAM-1 = vaskulární cytoadhezivní molekula 1; MPO = myeloperoxidáza (myeloperoxidase); MMP-9 = metaloproteináza 9 (metalloproteinase 9).

5. DISKUZE

5.1 Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně

Nejvýznamnějším výsledkem této studie je přímý průkaz rozdílů v produkci cytoadhezivních molekul (CAM) v tukové tkáni mezi obézními a štíhlými ženami. Expres mRNA a množství proteinu pro ICAM-1 a VCAM-1 byly signifikantně vyšší ve viscerální, nikoliv však v subkutánní tukové tkáni obézních žen, zatímco exprese mRNA pro E-selektin a MCP-1 se mezi skupinami nelišily. Je zajímavé, že ve viscerální tukové tkáni pozitivně korelovala mRNA exprese sledovaných cytoadhezivních molekul s expresí markeru imunokompetentních buněk CD68. Expres mRNA pro ICAM-1 a VCAM-1 ve viscerálním tuku současně korelovaly i s BMI.

Cirkulující hladiny cytoadhezivních molekul představují markery aktivace endotelu (Pigott 1992) a jejich zvýšené hladiny byly popsány u obézních jedinců ve většině (Ferri 1999; Pontiroli 2004; Hatunic 2007), ne však ve všech publikovaných pracích (Matsumoto 2002). V naší studii jsme zaznamenali zvýšenou hladinu solubilního E-selektinu a ICAM-1 u obézních žen s BMI nad 40 kg/m² ve srovnání s kontrolní skupinou. Pro skupinu obézních žen s BMI 30 – 40 kg/m² rozdíly proti kontrolám nebyly signifikantní, což může souviset s relativně menším rozdílem BMI mezi skupinami (Ferri 1999; Troseid 2005), případně s antihypertenzní medikací u obézních jedinců (Boulbou 2005).

Tuková tkáň exprimuje cytoadhezivní molekuly (Champagne 1998; Robledo 2003; Tsakadze 2004; Brake 2006), což potvrzují i naše výsledky; u obézních jedinců by tak výrazně zvýšené množství tukové tkáně mohlo být potenciálně významným zdrojem solubilních CAM. Přestože jsme zjistili pouze korelaci množství proteinu ICAM-1 s hladinou solubilní formy, lze předpokládat, že hladina cirkulujících CAM odráží intenzitu jejich produkce řadou různých buněk tukové tkáně a současně endotelovými a imunokompetentními buňkami mimo tukovou tkáň. Jednotlivé cytoadhezivní molekuly mohou v rámci procesu adheze zastávat specifické funkce a také se lišit predominantním místem svého vzniku (Chia 1998; Miller and Cappuccio 2006).

Předchozí studie prokázaly vztah mezi množstvím viscerální tukové tkáně (vesměs měřeným pouze jako obvod pasu) a hladinou solubilní ICAM-1, což opět naznačuje přímou souvislost viscerálního tuku s endoteliální dysfunkcí a prozánětlivým stavem organismu (Marchesi 2007). Kromě toho, že se viscerální tuková tkáň může podílet na cirkulujících hladinách CAM, patofyziologicky důležitá může být i parakrinní funkce těchto molekul v tukové tkáni. Parakrinním působením mohou cytoadhezivní molekuly vznikající v tukové tkáni ovlivňovat regulaci zánětlivých procesů a přispívat k migraci a aktivaci makrofágů v tukové tkáni obézních jedinců (Brake 2006). V naší studii jsme prokázali pozitivní korelaci mezi expresí cytoadhezivních molekul ve viscerální tukové tkáni a BMI a CD68, což je v souladu s předpokládaným vztahem mezi abdominální obezitou, infiltrací tukové tkáně makrofágy a endoteliální dysfunkcí. Z našich výsledků tak nepřímo vyplývá, že významnými producenty CAM v rámci tukové tkáně jsou zde přítomné aktivované imunokompetentní buňky.

Endoteliální dysfunkce na úrovni mikrocirkulace tkání je jedním z klíčových procesů při vzniku inzulinové rezistence v tkáních (Serne 2002; Clark 2003). Zvýšení exprese ICAM-1 a VCAM-1 ve viscerálním tuku u obézních jedinců tak může souviset s rozvojem komplikací, např. diabetu nebo aterosklerózy, u kterých sehrává důležitou úlohu subklinický zánět. Naše výsledky přímo potvrzují tezi, že viscerální tuková tkáň se účastní v patofyziologických procesech souvisejících s obezitou. Přispívají tak k bližšímu vysvětlení vztahů a mechanismů vzniku kardiovaskulárních onemocnění u jedinců s abdominální obezitou (Eckel and Krauss 1998).

Dle našich předchozích výsledků je zřejmé, že exprese mRNA pro cytoadhezivní molekuly je regulována odlišně v subkutánní než ve viscerální tukové tkáni (Bošanská 2008). Exprese mRNA pro ICAM-1, VCAM-1 a E-selektin byla v podkožní tukové tkáni žen s obezitou 2. a 3. stupně ve srovnání s kontrolní skupinou štíhlých žen snižena. Snižování hmotnosti po 3-týdenní redukční dietě s velmi nízkým obsahem kalorií (VLCD) vedlo k signifikantnímu zvýšení exprese mRNA pro ICAM-1 a VCAM-1 v subkutánním tuku obézních žen. Výsledky této práce tak nesvědčí pro přímý vliv produkce CAM v podkožní tukové tkáni na rozvoj endoteliální dysfunkce u obézních jedinců. Je však nutno vzít v úvahu relativně nízký počet pacientů v jednotlivých skupinách a také měření pouze mRNA a nikoliv přímo proteinu pro CAM, což mohlo částečně ovlivnit výsledky studie.

Monocytární chemoatraktivní protein 1 (MCP-1) významně působí na chemotaxi monocytů a je také markerem zánětu u pacientů se zvýšeným rizikem koronární příhody a dalších kardiovaskulárních onemocnění na podkladě aterosklerózy (Rollins 1997; Martinovic 2005). V naší studii jsme nezaznamenali významné rozdíly mRNA exprese MCP-1 mezi obézními a štíhlými ženami v žádném ze zkoumaných typů tukové tkáně. To nasvědčuje tomu, že ne přímo MCP-1, ale spíše jiný faktor (samotné cytoadhezivní molekuly?) sehrává u obezity klíčovou roli při indukci infiltrace tukové tkáně imunokompetentními buňkami.

Zvýšená exprese markeru imunokompetentních buněk CD68 potvrzuje zvýšenou infiltraci viscerální tukové tkáně obézních osob monocyty/makrofágy ve srovnání s kontrolními neobézními osobami. Předchozí studie prokázaly proporcionální zvýšení CD68 u obézních jedinců (Weisberg 2003), což je v souladu s pozitivní korelací CD68 a BMI v naší studii. Otevřenou otázkou zatím zůstává, zda hlavním zdrojem cytoadhezivních molekul ve viscerálním tuku obézních jedinců jsou adipocyty a nebo spíše imunokompetentní buňky osídlující tukovou tkáň. Dle našich předchozích výsledků jsou přímými producenty cytoadhezivních molekul jak izolované adipocyty tak i tzv. stromovaskulární (neadipocytární) frakce tukové tkáně (Dolinkova 2008 a nepublikované výsledky). Ve viscerálních adipocytech jsme zaznamenali 5 krát nižší expresi VCAM-1 ve srovnání s celkovou viscerální tukovou tkání, zatímco exprese E-selektinu byla v izolovaných adipocytech 8 krát vyšší než v celkové tkáni (Dolinkova 2008). Proto významnější produkce cytoadhezivních molekul (např. VCAM-1) ve viscerální tukové tkáni může být podmíněna jejich produkcí adipocyty a současně i jinými buňkami přítomnými v tukové tkáni jako jsou makrofágy nebo jiné imunokompetentní buňky (Fain 2007).

Celkově jsme v této části studie prokázali souvislost obezity a zvýšených expresí mRNA i produkce proteinu ICAM-1 a VCAM-1 ve viscerální, ne však v subkutánní tukové tkáni. Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni pozitivně koreluje s BMI a stupněm tkáňové infiltrace imunokompetentními buňkami. Naše výsledky částečně vysvětlují mechanismus těsného vztahu viscerální obezity a kardiovaskulárních komplikací.

5.2 Polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin u pacientů s mentální anorexií a s obezitou a jejich vliv na metabolický fenotyp

Cílem studie bylo určit frekvenci polymorfizmů 45 T>G a 276 G>T genu pro adiponektin a 62 G>A a -180 C>G genu pro rezistin u pacientek s obezitou, s mentální anorexií a u kontrolních zdravých žen s normální hmotností. Sledovali jsme vliv jednotlivých genotypů na sérové hladiny adiponektinu a rezistinu, jako i další parametry, inzulinovou rezistenci vyjádřenou HOMA indexem, apod.

Přítomnost minoritní alely T v pozici 276 genu pro adiponektin zvýšila hladinu adiponektinu v séru obézních pacientek a snížila hladinu glykovaného hemoglobinu u kontrolní skupiny. Tyto výsledky jsou v souladu s dříve publikovanými studiemi, které prokázaly, že jedinci s genotypem G/G v pozici 276 genu pro adiponektin mají snížené sérové hladiny adiponektinu a poruchu glukózové tolerance (Hara 2002; Gonzalez-Sanchez 2005). U nositelů minoritní alely T v pozici 276 genu pro adiponektin byla popsána zvýšená mRNA exprese pro adiponektin ve viscerální tukové tkáni, která korelovala se sérovou hladinou adiponektinu (Fredriksson 2006). Naproti tomu, přítomnost této minoritní alely T v pozici 276 genu pro adiponektin byla u pacientek s mentální anorexií provázena zvýšenou hladinou cholesterolu, zatímco nebyl pozorován vliv na sérovou hladinu glykovaného hemoglobinu nebo cirkulujícího adiponektinu u této skupiny pacientek. Lze tak předpokládat, že vliv přítomné minoritní alely T genu ADP 276 je významně modifikován aktuálním nutričním stavem organismu, který může mít větší vliv na hladiny cirkulujícího adiponektinu než sledovaný polymorfizmus.

Dalším sledovaným polymorfizmem byl polymorfizmus 62 G>A genu pro rezistin. Nositelství minoritní alely A v pozici 62 genu pro rezistin bylo spojeno se zvýšenou hladinou cholesterolu u obézních pacientek ve srovnání s G/G homozygoty, naopak u zdravých osob vedla přítomnost minoritní alely A ke snížení hladin glykovaného hemoglobinu. Ve studii Tana a kol. byla prokázána nižší frekvence výskytu alely A v tomto polymorfizmu u pacientů s diabetes mellitus 2. typu ve srovnání s jedinci bez diabetu (Tan 2003).

Asociace mezi přítomností minoritní alely G v pozici -180 genu pro rezistin a vyšším BMI u pacientek s mentální anorexií dosud popsána nebyla. Lze předpokládat, že tento polymorfizmus, podobně jako i nositelství minoritní alely T v pozici 276 genu

pro adiponektin by mohly představovat protektivní faktory některých metabolických abnormalit.

Kromě výše uvedené asociace mezi polymorfizmem 276 G>T genu pro adiponektin a sérovou hladinou adiponektinu jsme nezjistili další významné vztahy mezi studovanými polymorfizmy a hladinami adiponektinu a rezistinu. Vzhledem k relativně malému počtu subjektů však nelze vyloučit existenci dalších vztahů mezi genotypem a změnami metabolických parametrů, které v naší studii nebyly zjištěny pro nízkou statistickou sílu.

Výsledky této studie, v souladu s výsledky dříve publikovaných studií, nasvědčují tomu, že polymorfizmy genů pro adiponektin a rezistin mohou významně ovlivnit metabolický fenotyp pacientů s obezitou nebo mentální anorexií. Manifestace určitého genotypu se pravděpodobně liší u pacientů s rozdílným nutričním stavem organismu.

5.3 Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem

Úspěšná chirurgická léčba feochromocytomu vedla u pacientů k signifikantnímu váhovému přírůstku a současně k poklesu glykémie, glykovaného hemoglobinu a dokonce i ke snížení míry subklinického zánětu v organismu, vyjádřené hladinou C-reaktivního proteinu (CRP). Nejvýznamnějším výsledkem naší studie je tedy disociace mezi chronickým prozánětlivým stavem, zvýšením hmotnosti a endokrinní funkcí tukové tkáně u pacientů s feochromocytomem po chirurgickém odstranění tumoru. Z literatury je známo, že nadprodukce katecholaminů u pacientů s feochromocytomem podmiňuje zvýšený bazální metabolismus (Gifford 1964). Odstranění katecholaminy produkujícího tumoru vede k porušení rovnováhy mezi příjmem a výdejem energie, a v konečném důsledku ke zvýšení množství tělesného tuku a tak i k nárůstu hmotnosti. V naší studii byl vzestup hmotnosti provázen snížením prozánětlivého stavu, což vyjadřuje pokles hladin CRP. Tento výsledek je vcelku překvapivý vzhledem k řadě studií prokazujících pozitivní korelaci zvýšených hladin CRP se zvýšeným BMI u obezity (Haffner 2003a; Haffner 2003b; Stoll and Bendszus 2006). Na druhém konci spektra BMI, např. u jedinců malnutricí při mentální anorexii, byly naopak popsány

nižší hladiny CRP než u jedinců s BMI v normálním rozmezí (Dolezalova 2007). Na základě předchozích studií by se dalo očekávat, že zvýšení hmotnosti povede v tukové tkáni ke zvýšení produkce prozánětlivých faktorů (Canello 2005; Anderlova 2006). Na druhou stranu, u našich pacientů došlo jen k mírnému zvýšení hmotnosti a výsledný BMI byl nadále v normálním rozmezí nebo v pásmu mírné nadváhy. Pravděpodobně proto nedošlo k výraznějšímu negativnímu ovlivnění subklinického zánětu. Možným vysvětlením disociace mezi změnou hmotnosti a hladin CRP může být převaha přímého působení nadprodukce katecholaminů na hladiny CRP a/nebo jejich ovlivnění vyšším krevním tlakem. Pro přímý vliv katecholaminů na CRP svědčí i pozitivní korelace mezi hladinou CRP a množstvím adrenalinu v moči za 24 hodin u našich pacientů po léčbě.

Pro hodnocení změn endokrinní funkce tukové tkáně jsme použili sérové hladiny hormonů vznikajících v tukové tkáni, leptinu, adiponektinu a rezistinu, měřené u pacientů před léčbou a 6 měsíců po chirurgickém odstranění feochromocytomu. Hladiny těchto adipokinů se mění v závislosti na změnách hmotnosti a souvisí také s mírou systémového zánětu. Snížené hladiny adiponektinu byly popsány u pacientů se zvýšeným rizikem inzulinové rezistence a aterosklerózy (Yang 2001; Yamauchi 2003b; Shimada 2004), zatímco opak platí pro cirkulující hladiny rezistinu (Ukkola 2002; Degawa-Yamauchi 2003; Yamauchi 2003b; Pischon 2005; Reilly 2005). S množstvím tělesného tuku nejlépe korelují hladiny leptinu, opakovaně byly prokázány jeho zvýšené hladiny u obézních jedinců ve srovnání se štíhlými osobami (Maffei 1995; Anderlova 2006; Patel 2008). Poněkud překvapivě nebyly hladiny žádného ze sledovaných hormonů vznikajících v tukové tkáni odstraněním feochromocytomu ovlivněny. Tyto výsledky tak nepotvrzují hypotézu, že se hormony tukové tkáně přímo účastní v potlačení systémového prozánětlivého stavu u pacientů s feochromocytomem.

V rozporu s výsledky předchozích publikovaných experimentálních i klinických studií (Kosaki 1996; Trayhurn 1996; Wocial 2002), které popsaly inhibiční působení katecholaminů na produkci leptinu, jsme v naší studii nepozorovali významnou změnu hladin leptinu po odstranění katecholaminy produkujícího tumoru. Chybění očekávaného efektu může souviset s down-regulací příslušných adrenergických receptorů a vznikem určité rezistence tukové tkáně na účinky katecholaminů (Bottner 1999), přesný mechanismus těchto změn však není jasný.

V této studii bylo zvýšení hmotnosti u pacientů po chirurgickém odstranění feochromocytomu provázeno signifikantním poklesem hladin C-reaktivního

proteinu, markeru systémového zánětu. Snížení CRP je pravděpodobně projevem přerušení působení zvýšených hladin katecholaminů na produkci CRP a může být známkou pozitivního efektu léčby feochromocytomu na progresi aterosklerózy a na kardiovaskulární riziko. Naše výsledky nesvědčí pro přímý vliv adipocytárních hormonů leptinu, adiponektinu a rezistinu na změny subklinického zánětu u pacientů s feochromocytomem.

5.4 Endoteliální dysfunkce u pacientů chronicky závislých na heroinu: vliv substituční léčby metadonem

Nejdůležitějším zjištěním této studie je skutečnost, že pacienti chronicky závislí na heroinu, jako další riziková skupina pro vznik aterosklerózy a kardiovaskulárních onemocnění, mají signifikantně zvýšené cirkulující hladiny solubilních cytoadhezivních molekul. Navíc jsme u těchto jedinců zjistili zvýšenou hladinu myeloperoxidázy (MPO), enzymu produkujícího škodlivé volné kyslíkové radikály, a zvýšenou hladinu metaloproteinázy 9 (MMP-9), enzymu podílejícího se na destabilizaci aterosklerotických plátů (Nabata 2008).

Výsledky dříve publikovaných experimentálních i klinických studií nasvědčují tomu, že porucha endokrinní funkce tukové tkáně významně přispívá k rozvoji endoteliální dysfunkce a aterosklerózy (Berg and Scherer 2005; Hauner 2005). V této studii jsme potvrdili naše předchozí výsledky, že hladiny rezistinu jsou u osob chronicky závislých na heroinu zvýšené, zatímco hladiny adiponektinu jsou ve srovnání se zdravými kontrolami nižší (Housova 2005b). V experimentální studii prokázal Kawanami a kolektiv proliferální účinky rezistinu na hladké svalové buňky ve stěně cév a indukci exprese cytoadhezivních molekul na povrchu endotelových buněk *in vitro* (Kawanami 2004). V klinických studiích najdeme zvýšené hladiny rezistinu například u pacientů s aterosklerózou koronárních tepen (Ohmori 2005), rezistin je dokonce považován za významný prediktivní faktor koronární aterosklerózy, nezávislý na hladině CRP (Reilly 2005).

Pro účast adiponektinu v etiopatogenezi aterosklerózy existuje ještě více důkazů a jeho protizánětlivé a antiaterogenní účinky jsou v centru pozornosti řady experimentálních i klinických studií (Im 2006; Devaraj 2008; Zhang 2008). Transgenní myší modely s úplným chyběním adiponektinu nebo obézní myši se sníženou hladinou

adiponektinu vykazují významnou akceleraci aterosklerotických změn, které jsou reverzibilní, pokud je podáván adiponektin (Kubota 2002; Maeda 2002; Haluzik 2004a). Mechanismus antiaterogenního působení adiponektinu popsáný v *in vitro* studiích zahrnuje inhibici proliferace a migrace hladkých svalových buněk v cévní stěně (Arita 2002) a inhibici transformace makrofágů na pěnové buňky (Ouchi 2001). Spektrum informací o adiponektinu doplňují výsledky klinických studií, u pacientů s akcelerovanou aterosklerózou byly opakovaně popsány snížené hladiny adiponektinu (Hotta 2000; Haluzik 2004b; Shimada 2004). Podobně jako u jiných pacientů s předčasnou progresí aterosklerózy jsme v naší studii u pacientů chronicky závislých na heroínu zjistili zvýšené hladiny rezistinu a snížené hladiny adiponektinu. Změny hladin hormonů produkovaných tukovou tkání by mohly být v přímé souvislosti s rozvojem endoteliální dysfunkce u této skupiny pacientů.

Při interpretaci výsledků je však nutno zohlednit i skutečnost, že u části chronicky závislých pacientů v naší skupině byla zjištěna pozitivita na hepatitidu B a/nebo C. V literatuře totiž byly u pacientů s hepatitidou popsány zvýšené hladiny některých cytoadhezivních molekul. Například Bruno a kolektiv popsal zvýšené hladiny cirkulujících ICAM-1 a VCAM-1 u pacientů s chronickou aktivní hepatitidou, a to ve srovnání s pacienty s jaterní cirhózou i se zdravými kontrolami (Bruno 2005). Hladiny ICAM-1 v této studii korelovaly s aktivitou zánětu, zatímco hladiny VCAM-1 souvisely spíše s mírou postižení jater. V jiné studii Kaplanski a kol. popsal zvýšené hladiny ICAM-1 a VCAM-1 u pacientů s hepatitis C – asociovanou těžkou vaskulitidou (Kaplanski 2005). V naší studii bylo 10 ze 16 pacientů s chronickou závislostí na heroínu hepatitis B a/nebo C pozitivních, proto jsme zvažovali i možnost vlivu této nemoci na endoteliální funkci. Dle výsledků statistické subanalýzy (přestože počet subjektů je malý) nebyly při srovnání skupiny hepatitis pozitivních pacientů s hepatitis negativní skupinou zjištěny rozdíly v hladinách ICAM-1, VCAM-1 nebo E-selektinu (data nejsou uváděna). Nebyly prokázány ani významné vztahy mezi sledovanými markery endotelové dysfunkce a markerem zánětu C-reaktivním proteinem. U podskupiny pacientů, která podstoupila roční odvykací léčbu s podáváním metadonu, došlo k poklesu metaloproteinázy 9 a tendenci k poklesu měly i hladiny myeloperoxidázy, nedošlo však k významnému ovlivnění hladin solubilních cytoadhezivních molekul a hladin rezistinu nebo adiponektinu.

Pravděpodobné vysvětlení změn hladin cytoadhezivních molekul u jedinců závislých na heroínu tak představuje kombinace chronického systémového zánětu

provázejícího onemocnění hepatitidou nebo jiným zánětlivým onemocněním a poruchu endokrinní funkce tukové tkáně. Otevřenou otázkou zůstává, jestli porucha endokrinní funkce tukové tkáně vzniká v důsledku systémového prozánětlivého stavu a nebo jestli v tomto procesu sehrává kauzální roli.

V experimentálních studiích na myším modelu dokáže podávání adiponektinu zmírnit nealkoholickou steatózu jater i alkoholem podmíněnou jaterní steatózu (Xu 2003), což otvírá případné možnosti intervence a léčby chronického hepatopatie i u lidí, třeba i u drogově závislých pacientů. K ověření přesného mechanismu působení adiponektinu a jeho efektu na jaterní tkáň bude nezbytné provedení dalších cílených studií.

Pacienti chronicky závislí na heroinu měli zvýšené hladiny cirkulujícího rezistinu, cytoadhezivních molekul, myeloperoxidázy a metaloproteinázy 9 a snížené hladiny adiponektinu ve srovnání se zdravými kontrolami. Roční odvykací léčba metadonem signifikantně snížila metaloproteinázu 9, ale neovlivnila další sledované markery endoteliální dysfunkce.

6. ZÁVĚR

Tuková tkáň jako producent řady hormonálních působků je nepochybně významnou součástí regulačních systémů energetického metabolismu a současně i zánětlivých a imunitních procesů. Velké epidemiologické studie opakovaně potvrdily souvislosti mezi dvěma typy onemocnění s vysokou prevalencí a řadou komplikací: obezitou a aterosklerózou resp. kardiovaskulárními chorobami. Jejich klinické důsledky a také předpokládaná podobnost patofyziologických mechanismů v podobě chronického subklinického zánětu byly jedním z podnětů pro současné intenzivní výzkumy poruch endokrinní funkce tukové tkáně a mechanismů endoteliální dysfunkce.

Tato práce byla zaměřena na výzkum endokrinní funkce tukové tkáně u rizikových osob z hlediska rozvoje aterosklerózy, jako jsou pacienti s obezitou, sekundární hypertenzí při feochromocytomu nebo malnutricí při chronické drogové závislosti. Sledovali jsme hladiny cirkulujících adipokinů a cytoadhezivních molekul a stanovením exprese příslušných genů přímo v podkožní resp. viscerální tukové tkáni jsme hodnotili podíl tukové tkáně na jejich celkové produkci. U části pacientů jsme zjišťovali výskyt polymorfizmů genů pro adiponektin a rezistin a jejich vliv na metabolické parametry. U pacientů se sekundární hypertenzí a u chronicky drogově závislých pacientů jsme hledali souvislosti mezi dysfunkcí tukové tkáně a vybranými parametry subklinického zánětu.

Naše výsledky potvrzují, že proaterogenně působící cytoadhezivní molekuly jsou exprimovány jak v subkutánní tak i viscerální tukové tkáni. Ve viscerální tukové tkáni byl potvrzen významný vliv obezity na zvýšenou produkci dvou typů cytoadhezivních molekul, což také souviselo se stupněm její infiltrace imunokompetentními buňkami. Věříme, že tyto výsledky přispívají k částečnému vysvětlení těsného vztahu viscerální obezity a rizika kardiovaskulárních onemocnění. Nejen u obézních, ale i u drogově závislých jedinců jsme zjistili zvýšené markery endoteliální dysfunkce a současně poruchu endokrinní funkce tukové tkáně. Porucha endokrinní funkce tukové tkáně se, kromě jiných faktorů, může částečně podílet na systémovém prozánětlivém stavu. Závažným zjištěním bezesporu je, že ani po roční léčbě u těchto pacientů nedochází k normalizaci zvýšených hladin uvedených faktorů a zvýšené riziko tak přetrvává. Naopak, u pacientů se sekundární hypertenzí bylo zvýšení

hmotnosti po léčbě a normalizaci hladin katecholaminů překvapivě provázeno významným poklesem hladin C-reaktivního proteinu, markeru systémového zánětu. Přímoú účast hormonů tukové tkáně v tomto procesu jsme neprokázali, spíše se jedná o přímé působení katecholaminů.

Výsledky této práce jsou tak další částí složité mozaiky směřující k detailnějšímu vysvětlení všech mechanismů a souvislostí mezi endokrinní funkcí resp. dysfunkcí tukové tkáně a rozvojem aterosklerózy. Konečným cílem těchto výzkumů je co nejlépe porozumět a případně preventivně a/nebo terapeuticky ovlivnit negativní humorální působení tukové tkáně a zlepšit tak prognózu řady nemocných s vysokým rizikem rozvoje kardiovaskulárních onemocnění.

Podporováno IGA 8302-5 a MZO 000064165

7. LITERATURA

1. **Abe M, Matsuda M, Kobayashi H, Miyata Y, Nakayama Y, Komuro R, Fukuhara A, Shimomura I.** Effects of statins on adipose tissue inflammation: their inhibitory effect on MyD88-independent IRF3/IFN-beta pathway in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28 (5): 871-7.
2. **Anderlova K, Kremen J, Dolezalova R, Housova J, Haluzikova D, Kunesova M, Haluzik M.** The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women. *Physiol Res* 2006; 55 (3): 277-83.
3. **Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Kumada M, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Shimomura I, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y.** Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation* 2002; 105 (24): 2893-8.
4. **Arner P.** Catecholamine-induced lipolysis in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23 Suppl 1: 10-3.
5. **Berg AH, Lin Y, Lisanti MP, Scherer PE.** Adipocyte differentiation induces dynamic changes in NF-kappaB expression and activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287 (6): E1178-88.
6. **Berg AH, Scherer PE.** Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005; 96 (9): 939-49.
7. **Blankenberg S, Barboux S, Tiret L.** Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 170 (2): 191-203.
8. **Bošanská L, Lacinová Z, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Doležalová R, Housová J, Křemen J, Haluzíková D, Matoulek M, Haluzík M.** Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních žen. *Čas Lék Česk* 2008; 147 (1): 32-7.
9. **Bottner A, Eisenhofer G, Torpy DJ, Ehrhart-Bornstein M, Keiser HR, Chrousos GP, Bornstein SR.** Lack of leptin suppression in response to hypersecretion of catecholamines in pheochromocytoma patients. *Metabolism* 1999; 48 (5): 543-5.
10. **Bottner A, Haidan A, Eisenhofer G, Kristensen K, Castle AL, Scherbaum WA, Schneider H, Chrousos GP, Bornstein SR.** Increased body fat mass and suppression of circulating leptin levels in response to hypersecretion of epinephrine in phenylethanolamine-N-methyltransferase (PNMT)-overexpressing mice. *Endocrinology* 2000; 141 (11): 4239-46.
11. **Boulbou MS, Koukoulis GN, Makri ED, Petinaki EA, Gourgoulisanis KI, Germenis AE.** Circulating adhesion molecules levels in type 2 diabetes mellitus and hypertension. *Int J Cardiol* 2005; 98 (1): 39-44.
12. **Boulikina LS, Newton CA, Drake AJ, 3rd, Tanenberg RJ.** Acute myocardial infarction attributable to adrenergic crises in a patient with pheochromocytoma and neurofibromatosis 1. *Endocr Pract* 2007; 13 (3): 269-73.
13. **Bourdillon MC, Poston RN, Covacho C, Chignier E, Bricca G, McGregor JL.** ICAM-1 deficiency reduces atherosclerotic lesions in double-knockout mice (ApoE(-)/ICAM-1(-)) fed a fat or a chow diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20 (12): 2630-5.

14. **Brake DK, Smith EO, Mersmann H, Smith CW, Robker RL.** ICAM-1 expression in adipose tissue: effects of diet-induced obesity in mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 291 (6): C1232-9.
15. **Bruno CM, Sciacca C, Cilio D, Bertino G, Marchese AE, Politi G, Chinnici L.** Circulating adhesion molecules in patients with virus-related chronic diseases of the liver. *World J Gastroenterol* 2005; 11 (29): 4566-9.
16. **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 (8): 2277-86.
17. **Cao H, Hegele RA.** Single nucleotide polymorphisms of the resistin (RSTN) gene. *J Hum Genet* 2001; 46 (9): 553-5.
18. **Ceriello A, Falletti E, Motz E, Taboga C, Tonutti L, Ezzol Z, Gonano F, Bartoli E.** Hyperglycemia-induced circulating ICAM-1 increase in diabetes mellitus: the possible role of oxidative stress. *Horm Metab Res* 1998; 30 (3): 146-9.
19. **Češka R.** Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií. Triton, Praha 2005, S. 341.
20. **Champagne B, Tremblay P, Cantin A, St Pierre Y.** Proteolytic cleavage of ICAM-1 by human neutrophil elastase. *J Immunol* 1998; 161 (11): 6398-405.
21. **Chen NG, Holmes M, Reaven GM.** Relationship between insulin resistance, soluble adhesion molecules, and mononuclear cell binding in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84 (10): 3485-9.
22. **Chia MC.** The role of adhesion molecules in atherosclerosis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1998; 35 (6): 573-602.
23. **Clark MG, Wallis MG, Barrett EJ, Vincent MA, Richards SM, Clerk LH, Rattigan S.** Blood flow and muscle metabolism: a focus on insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284 (2): E241-58.
24. **Collins RG, Velji R, Guevara NV, Hicks MJ, Chan L, Beaudet AL.** P-Selectin or intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 deficiency substantially protects against atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J Exp Med* 2000; 191 (1): 189-94.
25. **Cong L, Chen K, Li J, Gao P, Li Q, Mi S, Wu X, Zhao AZ.** Regulation of adiponectin and leptin secretion and expression by insulin through a PI3K-PDE3B dependent mechanism in rat primary adipocytes. *Biochem J* 2007; 403 (3): 519-25.
26. **Coppola A, Marfella R, Coppola L, Tagliamonte E, Fontana D, Liguori E, Cirillo T, Cafiero M, Natale S, Astarita C.** Effect of weight loss on coronary circulation and adiponectin levels in obese women. *Int J Cardiol* 2008.
27. **Cottam DR, Mattar SG, Barinas-Mitchell E, Eid G, Kuller L, Kelley DE, Schauer PR.** The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss. *Obes Surg* 2004; 14 (5): 589-600.
28. **Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, Gallimore JR, Pepys MB.** Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *Bmj* 2000; 321 (7255): 199-204.
29. **Daub KF.** Pheochromocytoma: challenges in diagnosis and nursing care. *Nurs Clin North Am* 2007; 42 (1): 101-11, viii.

30. **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 (11): 5452-5.
31. **Devaraj S, Torok N, Dasu MR, Samols D, Jialal I.** Adiponectin Decreases C-Reactive Protein Synthesis From Endothelial Cells. Evidence for an Adipose Tissue-Vascular Loop. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008.
32. **Dolezalova R, Lacinova Z, Dolinkova M, Kleiblova P, Haluzikova D, Housa D, Papezova H, Haluzik M.** Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: comparison of circulating levels versus subcutaneous mRNA expression. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67 (5): 674-8.
33. **Dolinkova M, Dostalova I, Lacinova Z, Michalsky D, Haluzikova D, Mraz M, Kasalicky M, Haluzik M.** The endocrine profile of subcutaneous and visceral adipose tissue of obese patients. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 291 (1-2): 63-70.
34. **Dong ZM, Chapman SM, Brown AA, Frenette PS, Hynes RO, Wagner DD.** The combined role of P- and E-selectins in atherosclerosis. *J Clin Invest* 1998; 102 (1): 145-52.
35. **Duplala C, Couffignal T, Labat L, Moreau C, Petit-Jean ME, Doutre MS, Lamaziere JM, Bonnet J.** Monocyte/macrophage recruitment and expression of endothelial adhesion proteins in human atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis* 1996; 121 (2): 253-66.
36. **Eckel RH, Krauss RM.** American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee. *Circulation* 1998; 97 (21): 2099-100.
37. **Engert JC, Vohl MC, Williams SM, Lepage P, Loreda-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 (5): 1629-34.
38. **Esposito K, Giugliano G, Scuderi N, Giugliano D.** Role of adipokines in the obesity-inflammation relationship: the effect of fat removal. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118 (4): 1048-57; discussion 58-9.
39. **Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, Giugliano D.** Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *Jama* 2003; 289 (14): 1799-804.
40. **Evans A, Tolonen H, Hense HW, Ferrario M, Sans S, Kuulasmaa K.** Trends in coronary risk factors in the WHO MONICA project. *Int J Epidemiol* 2001; 30 Suppl 1: S35-40.
41. **Fain JN, Madan AK.** Regulation of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) release by explants of human visceral adipose tissue. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29 (11): 1299-307.
42. **Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW.** Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004; 145 (5): 2273-82.
43. **Fain JN, Nesbit AS, Sudlow FF, Cheema P, Peeples JM, Madan AK, Tichansky DS.** Release in vitro of adipsin, vascular cell adhesion molecule 1, angiotensin 1-converting enzyme, and soluble tumor necrosis factor receptor 2 by human omental adipose tissue as well as by the nonfat cells and adipocytes. *Metabolism* 2007; 56 (11): 1583-90.

44. **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 (4 Pt 1): 568-73.
45. **Fox CS, Evans JC, Larson MG, Kannel WB, Levy D.** Temporal trends in coronary heart disease mortality and sudden cardiac death from 1950 to 1999: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2004; 110 (5): 522-7.
46. **Fredriksson J, Carlsson E, Orho-Melander M, Groop L, Ridderstrale M.** A polymorphism in the adiponectin gene influences adiponectin expression levels in visceral fat in obese subjects. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30 (2): 226-32.
47. **Gabriely I, Ma XH, Yang XM, Atzmon G, Rajala MW, Berg AH, Scherer P, Rossetti L, Barzilai N.** Removal of visceral fat prevents insulin resistance and glucose intolerance of aging: an adipokine-mediated process? *Diabetes* 2002; 51 (10): 2951-8.
48. **Gifford RW, Jr., Kvale WF, Maher FT, Roth GM, Priestley JT.** Clinical Features, Diagnosis and Treatment of Pheochromocytoma: a Review of 76 Cases. *Mayo Clin Proc* 1964; 39: 281-302.
49. **Giugliano G, Nicoletti G, Grella E, Giugliano F, Esposito K, Scuderi N, D'Andrea F.** Effect of liposuction on insulin resistance and vascular inflammatory markers in obese women. *Br J Plast Surg* 2004; 57 (3): 190-4.
50. **Gonzalez-Sanchez JL, Zabena CA, Martinez-Larrad MT, Fernandez-Perez C, Perez-Barba M, Laakso M, Serrano-Rios M.** An SNP in the adiponectin gene is associated with decreased serum adiponectin levels and risk for impaired glucose tolerance. *Obes Res* 2005; 13 (5): 807-12.
51. **Goossens GH, Jocken JW, van Baak MA, Jansen EH, Saris WH, Blaak EE.** Short-term beta-adrenergic regulation of leptin, adiponectin and interleukin-6 secretion in vivo in lean and obese subjects. *Diabetes Obes Metab* 2008.
52. **Guerre-Millo M.** Adipose tissue hormones. *J Endocrinol Invest* 2002; 25 (10): 855-61.
53. **Haffner SM.** Insulin resistance, inflammation, and the prediabetic state. *Am J Cardiol* 2003a; 92 (4A): 18J-26J.
54. **Haffner SM.** Pre-diabetes, insulin resistance, inflammation and CVD risk. *Diabetes Res Clin Pract* 2003b; 61 Suppl 1: S9-S18.
55. **Hainer V, Janco A, Kunešová M, Svačina Š.** *Obezita*. Galén, Praha 1997, S. 126.
56. **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 (5223): 543-6.
57. **Haluzik M.** Adiponectin and its potential in the treatment of obesity, diabetes and insulin resistance. *Curr Opin Investig Drugs* 2005; 6 (10): 988-93.
58. **Haluzík M.** *Poruchy výživy a leptin*. Grada Publishing, Praha 2002.
59. **Haluzik M, Colombo C, Gavrilova O, Chua S, Wolf N, Chen M, Stannard B, Dietz KR, Le Roith D, Reitman ML.** Genetic background (C57BL/6J versus FVB/N) strongly influences the severity of diabetes and insulin resistance in ob/ob mice. *Endocrinology* 2004a; 145 (7): 3258-64.
60. **Haluzik M, Fiedler J, Nedvidkova J, Ceska R.** Serum leptin concentrations in patients with combined hyperlipidemia: relationship to serum lipids and lipoproteins. *Physiol Res* 1999a; 48 (5): 363-8.
61. **Haluzik M, Papezova M, Nedvidkova J, Kabrt J.** Serum leptin levels in patients with anorexia nervosa before and after partial refeeding, relationships to serum lipids and biochemical nutritional parameters. *Physiol Res* 1999b; 48 (3): 197-202.

62. **Haluzik M, Parizkova J, Haluzik MM.** Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. *Physiol Res* 2004b; 53 (2): 123-9.
63. **Haluziková D, Roubíček T, Haluzík M.** Adiponektin and ateroskleróza. *Vnitř Lék* 2007; 53 (4): 359-63.
64. **Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki H, Hagura R, Akanuma Y, Yazaki Y, Nagai R, Taniyama M, Matsubara K, Yoda M, Nakano Y, Tomita M, Kimura S, Ito C, Froguel P, Kadowaki T.** Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* 2002; 51 (2): 536-40.
65. **Hartman HB, Hu X, Tyler KX, Dalal CK, Lazar MA.** Mechanisms regulating adipocyte expression of resistin. *J Biol Chem* 2002; 277 (22): 19754-61.
66. **Hatunic M, Finucane F, Burns N, Gasparro D, Nolan JJ.** Vascular inflammatory markers in early-onset obese and type 2 diabetes subjects before and after three months' aerobic exercise training. *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4 (3): 231-4.
67. **Hauner H.** Secretory factors from human adipose tissue and their functional role. *Proc Nutr Soc* 2005; 64 (2): 163-9.
68. **Heilbronn LK, Noakes M, Clifton PM.** Energy restriction and weight loss on very-low-fat diets reduce C-reactive protein concentrations in obese, healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21 (6): 968-70.
69. **Holman RL, Mc GH, Jr., Strong JP, Geer JC.** The natural history of atherosclerosis: the early aortic lesions as seen in New Orleans in the middle of the of the 20th century. *Am J Pathol* 1958; 34 (2): 209-35.
70. **Hope SA, Meredith IT.** Cellular adhesion molecules and cardiovascular disease. Part I. Their expression and role in atherogenesis. *Intern Med J* 2003; 33 (8): 380-6.
71. **Hopkins TA, Ouchi N, Shibata R, Walsh K.** Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 2007; 74 (1): 11-8.
72. **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 (6): 1595-9.
73. **Housova J, Anderlova K, Krizova J, Haluzikova D, Kremen J, Kumstyrova T, Papezova H, Haluzik M.** Serum adiponectin and resistin concentrations in patients with restrictive and binge/purge form of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2005a; 90 (3): 1366-70.
74. **Housova J, Wilczek H, Haluzik MM, Kremen J, Krizova J, Haluzik M.** Adipocyte-derived hormones in heroin addicts: the influence of methadone maintenance treatment. *Physiol Res* 2005b; 54 (1): 73-8.
75. **Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Grodstein F, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC.** Trends in the incidence of coronary heart disease and changes in diet and lifestyle in women. *N Engl J Med* 2000; 343 (8): 530-7.
76. **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 (12): 4219-25.

77. **Im JA, Kim SH, Lee JW, Shim JY, Lee HR, Lee DC.** Association between hypoadiponectinemia and cardiovascular risk factors in nonobese healthy adults. *Metabolism* 2006; 55 (11): 1546-50.
78. **Jocken JW, Blaak EE.** Catecholamine-induced lipolysis in adipose tissue and skeletal muscle in obesity. *Physiol Behav* 2008; 94 (2): 219-30.
79. **Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K.** Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116 (7): 1784-92.
80. **Kannel WB, D'Agostino RB, Cobb JL.** Effect of weight on cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 1996; 63 (3 Suppl): 419S-22S.
81. **Kaplanski G, Maisonobe T, Marin V, Gres S, Robitail S, Farnarier C, Harle JR, Piette JC, Cacoub P.** Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) plays a central role in the pathogenesis of severe forms of vasculitis due to hepatitis C-associated mixed cryoglobulinemia. *J Hepatol* 2005; 42 (3): 334-40.
82. **Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR.** Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309 (2): 286-90.
83. **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 (2): 415-9.
84. **Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G.** Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280 (5): E745-51.
85. **Khorrman-Manesh A, Ahlman H, Nilsson O, Friberg P, Oden A, Stenstrom G, Hansson G, Stenquist O, Wangberg B, Tisell LE, Jansson S.** Long-term outcome of a large series of patients surgically treated for pheochromocytoma. *J Intern Med* 2005; 258 (1): 55-66.
86. **Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, Marks JA, Krakower GR, Jacob HJ, Weber J, Martin L, Blangero J, Comuzzie AG.** Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97 (26): 14478-83.
87. **Klein S, Fontana L, Young VL, Coggan AR, Kilo C, Patterson BW, Mohammed BS.** Absence of an effect of liposuction on insulin action and risk factors for coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004; 350 (25): 2549-57.
88. **Kopelman PG.** Obesity as a medical problem. *Nature* 2000; 404 (6778): 635-43.
89. **Kopp HP, Kopp CW, Festa A, Krzyzanowska K, Kriwanek S, Minar E, Roka R, Schernthaner G.** Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23 (6): 1042-7.
90. **Kosaki A, Yamada K, Kuzuya H.** Reduced expression of the leptin gene (*ob*) by catecholamine through a G(S) protein-coupled pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes* 1996; 45 (12): 1744-9.
91. **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 (29): 25863-6.
92. **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 (1): 85-9.
93. **Kunešová M.** Obezita. Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře. 2005.
94. **Lacinova Z, Dolinkova M, Haluzikova D, Krajickova J, Haluzik M.** Comparison of Manual and Automatic (MagNA Pure) Isolation Methods of Total RNA from Adipose Tissue. *Mol Biotechnol* 2008; 38 (3): 195-201.
95. **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 (10): 4848-56.
96. **Leeuwenberg JF, Smeets EF, Neefjes JJ, Shaffer MA, Cinek T, Jeunhomme TM, Ahern TJ, Buurman WA.** E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 are released by activated human endothelial cells in vitro. *Immunology* 1992; 77 (4): 543-9.
97. **Lehrke M, Reilly MP, Millington SC, Iqbal N, Rader DJ, Lazar MA.** An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans. *PLoS Med* 2004; 1 (2): e45.
98. **Leinonen E, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Hulten LM, Hiukka A, Taskinen MR.** Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2003; 166 (2): 387-94.
99. **Lin Y, Lee H, Berg AH, Lisanti MP, Shapiro L, Scherer PE.** The lipopolysaccharide-activated toll-like receptor (TLR)-4 induces synthesis of the closely related receptor TLR-2 in adipocytes. *J Biol Chem* 2000; 275 (32): 24255-63.
100. **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 (2): 286-9.
101. **Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y.** Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 2002; 8 (7): 731-7.
102. **Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S, et al.** Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995; 1 (11): 1155-61.
103. **Mahmoudi M, Curzen N, Gallagher PJ.** Atherogenesis: the role of inflammation and infection. *Histopathology* 2007; 50 (5): 535-46.
104. **Marchesi S, Vaudo G, Lupattelli G, Lombardini R, Roscini AR, Brozzetti M, Siepi D, Mannarino E.** Fat distribution and endothelial function in normal-overweight menopausal women. *J Clin Pharm Ther* 2007; 32 (5): 477-82.
105. **Martin-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Gomez-Hernandez A, Munoz-Garcia B, Vega M, Serrano J, Ortega L, Hernandez G, Tunon J, Egido J.** Intensive treatment with atorvastatin reduces inflammation in mononuclear cells and human atherosclerotic lesions in one month. *Stroke* 2005; 36 (8): 1796-800.

106. **Martinovic I, Abegunewardene N, Seul M, Vosseler M, Horstick G, Buerke M, Darius H, Lindemann S.** Elevated monocyte chemoattractant protein-1 serum levels in patients at risk for coronary artery disease. *Circ J* 2005; 69 (12): 1484-9.
107. **Matarese G, Moschos S, Mantzoros CS.** Leptin in immunology. *J Immunol* 2005; 174 (6): 3137-42.
108. **Mathers CD, Loncar D.** Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006; 3 (11): e442.
109. **Matsuda M, Shimomura I, Sata M, Arita Y, Nishida M, Maeda N, Kumada M, Okamoto Y, Nagaretani H, Nishizawa H, Kishida K, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Nagai R, Funahashi T, Matsuzawa Y.** Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis. *J Biol Chem* 2002; 277 (40): 37487-91.
110. **Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Tominaga T, Horikami K, Hirao K, Ueki Y, Miyake S.** High serum concentrations of soluble E-selectin correlate with obesity but not fat distribution in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2002; 51 (7): 932-4.
111. **Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC.** Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28 (7): 412-9.
112. **McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S.** Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet* 2002a; 359 (9300): 46-7.
113. **McTernan PG, McTernan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Lauer MN, Crocker J, Barnett AH, Kumar S.** Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 2002b; 87 (5): 2407.
114. **Meager A.** Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev* 1999; 10 (1): 27-39.
115. **Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, Trischitta V, Doria A.** A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 2002; 51 (7): 2306-12.
116. **Miller MA, Cappuccio FP.** Cellular adhesion molecules and their relationship with measures of obesity and metabolic syndrome in a multiethnic population. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30 (8): 1176-82.
117. **Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S.** Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387 (6636): 903-8.
118. **Mori Y, Otabe S, Dina C, Yasuda K, Populaire C, Lecoecur C, Vatin V, Durand E, Hara K, Okada T, Tobe K, Boutin P, Kadowaki T, Froguel P.** Genome-wide search for type 2 diabetes in Japanese affected sib-pairs confirms susceptibility genes on 3q, 15q, and 20q and identifies two new candidate Loci on 7p and 11p. *Diabetes* 2002; 51 (4): 1247-55.
119. **Nabata A, Kuroki M, Ueba H, Hashimoto S, Umemoto T, Wada H, Yasu T, Saito M, Momomura S, Kawakami M.** C-reactive protein induces endothelial cell apoptosis and matrix metalloproteinase-9 production in human mononuclear

- cells: Implications for the destabilization of atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis* 2008; 196 (1): 129-35.
120. **Nakamura Y, Shimada K, Fukuda D, Shimada Y, Ehara S, Hirose M, Kataoka T, Kamimori K, Shimodozono S, Kobayashi Y, Yoshiyama M, Takeuchi K, Yoshikawa J.** Implications of plasma concentrations of adiponectin in patients with coronary artery disease. *Heart* 2004; 90 (5): 528-33.
 121. **Nicoletti G, Giugliano G, Pontillo A, Cioffi M, D'Andrea F, Giugliano D, Esposito K.** Effect of a multidisciplinary program of weight reduction on endothelial functions in obese women. *J Endocrinol Invest* 2003; 26 (3): RC5-8.
 122. **Nonogaki K.** New insights into sympathetic regulation of glucose and fat metabolism. *Diabetologia* 2000; 43 (5): 533-49.
 123. **Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM.** Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *Jama* 2006; 295 (13): 1549-55.
 124. **Ohmori R, Momiyama Y, Kato R, Taniguchi H, Ogura M, Ayaori M, Nakamura H, Ohsuzu F.** Associations between serum resistin levels and insulin resistance, inflammation, and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46 (2): 379-80.
 125. **Ohta T, Saku K, Takata K, Adachi N.** Soluble vascular cell-adhesion molecule-1 and soluble intercellular adhesion molecule-1 correlate with lipid and apolipoprotein risk factors for coronary artery disease in children. *Eur J Pediatr* 1999; 158 (7): 592-8.
 126. **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 (8): 1057-63.
 127. **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* 2003; 107 (5): 671-4.
 128. **Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA, Scherer PE.** Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 2004; 279 (13): 12152-62.
 129. **Patel SB, Reams GP, Spear RM, Freeman RH, Villarreal D.** Leptin: linking obesity, the metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Curr Hypertens Rep* 2008; 10 (2): 131-7.
 130. **Peeters A, Barendregt JJ, Willekens F, Mackenbach JP, Al Mamun A, Bonneux L.** Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Ann Intern Med* 2003; 138 (1): 24-32.
 131. **Pigott R, Dillon LP, Hemingway IH, Gearing AJ.** Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 187 (2): 584-9.
 132. **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 (10): 1764-71.

133. **Pizzuti A, Argiolas A, Di Paola R, Baratta R, Rauseo A, Bozzali M, Vigneri R, Dallapiccola B, Trischitta V, Frittitta L.** An ATG repeat in the 3'-untranslated region of the human resistin gene is associated with a decreased risk of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 (9): 4403-6.
134. **Pontiroli AE, Pizzocri P, Koprivec D, Vedani P, Marchi M, Arcelloni C, Paroni R, Esposito K, Giugliano D.** Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *Eur J Endocrinol* 2004; 150 (2): 195-200.
135. **Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM.** C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama* 2001; 286 (3): 327-34.
136. **Price DT, Loscalzo J.** Cellular adhesion molecules and atherogenesis. *Am J Med* 1999; 107 (1): 85-97.
137. **Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC.** Adipokines and insulin resistance. *Mol Med* 2008; 14 (11-12): 741-51.
138. **Rajala MW, Qi Y, Patel HR, Takahashi N, Banerjee R, Pajvani UB, Sinha MK, Gingerich RL, Scherer PE, Ahima RS.** Regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting. *Diabetes* 2004; 53 (7): 1671-9.
139. **Rajala MW, Scherer PE.** Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 2003; 144 (9): 3765-73.
140. **Rashid MN, Fuentes F, Touchon RC, Wehner PS.** Obesity and the risk for cardiovascular disease. *Prev Cardiol* 2003; 6 (1): 42-7.
141. **Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ.** Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005; 111 (7): 932-9.
142. **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* 2000; 342 (12): 836-43.
143. **Robledo O, Papaioannou A, Ochietti B, Beauchemin C, Legault D, Cantin A, King PD, Daniel C, Alakhov VY, Potworowski EF, St-Pierre Y.** ICAM-1 isoforms: specific activity and sensitivity to cleavage by leukocyte elastase and cathepsin G. *Eur J Immunol* 2003; 33 (5): 1351-60.
144. **Rollins BJ.** Chemokines. *Blood* 1997; 90 (3): 909-28.
145. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362 (6423): 801-9.
146. **Ryden M, Dicker A, van Harmelen V, Hauner H, Brunberg M, Perbeck L, Lonnqvist F, Arner P.** Mapping of early signaling events in tumor necrosis factor-alpha -mediated lipolysis in human fat cells. *J Biol Chem* 2002; 277 (2): 1085-91.
147. **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 (10): 2199-202.
148. **Seidell JC.** Obesity, insulin resistance and diabetes--a worldwide epidemic. *Br J Nutr* 2000; 83 Suppl 1: S5-8.
149. **Serne EH, RG IJ, Gans RO, Nijveldt R, De Vries G, Evertz R, Donker AJ, Stehouwer CD.** Direct evidence for insulin-induced capillary recruitment in

- skin of healthy subjects during physiological hyperinsulinemia. *Diabetes* 2002; 51 (5): 1515-22.
150. **Shimada K, Miyazaki T, Daida H.** Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta* 2004; 344 (1-2): 1-12.
 151. **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 (7): 800-3.
 152. **Shroff R, Kerchner A, Maifeld M, Van Beek EJ, Jagasia D, Dokras A.** Young obese women with polycystic ovary syndrome have evidence of early coronary atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (12): 4609-14.
 153. **Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Lopez-Jimenez F, Gami AS, Sert Kuniyoshi FH, Wolk R, Somers VK.** Relation of increased leptin concentrations to history of myocardial infarction and stroke in the United States population. *Am J Cardiol* 2007; 100 (2): 234-9.
 154. **Singh P, Hoffmann M, Wolk R, Shamsuzzaman AS, Somers VK.** Leptin induces C-reactive protein expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27 (9): e302-7.
 155. **Smith SR, Bai F, Charbonneau C, Janderova L, Argyropoulos G.** A promoter genotype and oxidative stress potentially link resistin to human insulin resistance. *Diabetes* 2003; 52 (7): 1611-8.
 156. **Steiner AA, Romanovsky AA.** Leptin: at the crossroads of energy balance and systemic inflammation. *Prog Lipid Res* 2007; 46 (2): 89-107.
 157. **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 (6818): 307-12.
 158. **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 (2): 502-6.
 159. **Steppan CM, Lazar MA.** Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13 (1): 18-23.
 160. **Steppan CM, Lazar MA.** The current biology of resistin. *J Intern Med* 2004; 255 (4): 439-47.
 161. **Stoll G, Bendszus M.** Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization. *Stroke* 2006; 37 (7): 1923-32.
 162. **Swerlick RA, Lee KH, Li LJ, Sepp NT, Caughman SW, Lawley TJ.** Regulation of vascular cell adhesion molecule 1 on human dermal microvascular endothelial cells. *J Immunol* 1992; 149 (2): 698-705.
 163. **Tan MS, Chang SY, Chang DM, Tsai JC, Lee YJ.** Association of resistin gene 3'-untranslated region +62G-->A polymorphism with type 2 diabetes and hypertension in a Chinese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88 (3): 1258-63.
 164. **Taneli F, Yegane S, Ulman C, Tikiz H, Bilge AR, Ari Z, Uyanik BS.** Increased serum leptin concentrations in patients with chronic stable angina pectoris and ST-elevated myocardial infarction. *Angiology* 2006; 57 (3): 267-72.
 165. **Tauchmanova L, Rossi R, Biondi B, Pulcrano M, Nuzzo V, Palmieri EA, Fazio S, Lombardi G.** Patients with subclinical Cushing's syndrome due to adrenal adenoma have increased cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 (11): 4872-8.

166. **Trayhurn P.** Adipose tissue in obesity--an inflammatory issue. *Endocrinology* 2005; 146 (3): 1003-5.
167. **Trayhurn P, Duncan JS, Rayner DV, Hardie LJ.** Rapid inhibition of ob gene expression and circulating leptin levels in lean mice by the beta 3-adrenoceptor agonists BRL 35135A and ZD2079. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 228 (2): 605-10.
168. **Troscid M, Lappegard KT, Mollnes TE, Arnesen H, Seljeflot I.** Changes in serum levels of E-selectin correlate to improved glycaemic control and reduced obesity in subjects with the metabolic syndrome. *Scand J Clin Lab Invest* 2005; 65 (4): 283-90.
169. **Tsakadze NL, Sen U, Zhao Z, Sithu SD, English WR, D'Souza SE.** Signals mediating cleavage of intercellular adhesion molecule-1. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287 (1): C55-63.
170. **Ukkola O.** Resistin - a mediator of obesity-associated insulin resistance or an innocent bystander? *Eur J Endocrinol* 2002; 147 (5): 571-4.
171. **van Dijk L, Otters HB, Schuit AJ.** Moderately overweight and obese patients in general practice: a population based survey. *BMC Fam Pract* 2006; 7: 43.
172. **Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, Boutin P, Vaxillaire M, Lepretre F, Dupont S, Hara K, Clement K, Bihain B, Kadowaki T, Froguel P.** Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum Mol Genet* 2002; 11 (21): 2607-14.
173. **Wallerstedt SM, Eriksson AL, Niklason A, Ohlsson C, Hedner T.** Serum leptin and myocardial infarction in hypertension. *Blood Press* 2004; 13 (4): 243-6.
174. **Way JM, Gorgun CZ, Tong Q, Uysal KT, Brown KK, Harrington WW, Oliver WR, Jr., Willson TM, Klierer SA, Hotamisligil GS.** Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem* 2001; 276 (28): 25651-3.
175. **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 (12): 1796-808.
176. **Wocial B, Ignatowska-Switalska H, Berent H, Dutkiewicz-Raczkowska M, Kuczynska K, Chodakowska J, Feltynowski T, Januszewicz W, Szostek M, Ciesla W.** Do catecholamines influence the level of plasma leptin in patients with pheochromocytoma? *Br J Biomed Sci* 2002; 59 (3): 141-4.
177. **Wu X, Hoffstedt J, Deeb W, Singh R, Sedkova N, Zilbering A, Zhu L, Park PK, Arner P, Goldstein BJ.** Depot-specific variation in protein-tyrosine phosphatase activities in human omental and subcutaneous adipose tissue: a potential contribution to differential insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 (12): 5973-80.
178. **Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A, Kourtis A, Kukuvtis A, Panidis D.** A polymorphism in the resistin gene promoter is associated with body mass index in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 82 (5): 1466-7.
179. **Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ.** The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003; 112 (1): 91-100.
180. **Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S,**

- Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T.** Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003a; 423 (6941): 762-9.
181. **Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Imai Y, Shimozawa N, Hioki K, Uchida S, Ito Y, Takakuwa K, Matsui J, Takata M, Eto K, Terauchi Y, Komeda K, Tsunoda M, Murakami K, Ohnishi Y, Naitoh T, Yamamura K, Ueyama Y, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T.** Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem* 2003b; 278 (4): 2461-8.
182. **Yan LL, Daviglius ML, Liu K, Stamler J, Wang R, Pirzada A, Garside DB, Dyer AR, Van Horn L, Liao Y, Fries JF, Greenland P.** Midlife body mass index and hospitalization and mortality in older age. *Jama* 2006; 295 (2): 190-8.
183. **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 (8): 3815-9.
184. **Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V.** Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* 2000a; 148 (2): 209-14.
185. **Yudkin JS, Panahloo A, Stehouwer C, Emeis JJ, Bulmer K, Mohamed-Ali V, Denver AE.** The influence of improved glycaemic control with insulin and sulphonylureas on acute phase and endothelial markers in Type II diabetic subjects. *Diabetologia* 2000b; 43 (9): 1099-106.
186. **Zelinka T, Petrak O, Strauch B, Holaj R, Kvasnicka J, Mazoch J, Pacak K, Widimsky J, Jr.** Elevated inflammation markers in pheochromocytoma compared to other forms of hypertension. *Neuroimmunomodulation* 2007; 14 (1): 57-64.
187. **Zelinka T, Strauch B, Pecen L, Widimsky J, Jr.** Diurnal blood pressure variation in pheochromocytoma, primary aldosteronism and Cushing's syndrome. *J Hum Hypertens* 2004; 18 (2): 107-11.
188. **Zelinka T, Widimsky J.** [The most common forms of endocrine-based hypertension]. *Cas Lek Cesk* 2003; 142 (4): 197-201.
189. **Zhang P, Wang Y, Fan Y, Tang Z, Wang N.** Overexpression of Adiponectin Receptors Potentiates the Antiinflammatory Action of Subeffective Dose of Globular Adiponectin in Vascular Endothelial Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008.
190. **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 (6505): 425-32.

8. SEZNAM PUBLIKOVANÝCH ČLÁNKŮ A ABSTRAKT

Publikace v impaktovaných časopisech se vztahem k tématu práce:

Bosanska L, Petrak O, Zelinka T, Mraz M, Widimsky J jr., Haluzik M.
The effect of pheochromocytoma treatment on subclinical inflammation and endocrine function of adipose tissue.
Physiol Res. 2008 Jul 18. [Epub ahead of print]

Bosanska L, Michalsky D, Lacinova Z, Dostalova I, Bartlova M, Haluzikova D, Matoulek M, Kasalicky M, Haluzik M.
The influence of obesity and different fat depots on adipose tissue gene expression and protein levels of cell adhesion molecules.
Physiological Research, v tisku

Krizova J, Dolinkova M, Lacinova Z, Sulek S, Dolezalova R, Housova J, Krajickova J, Haluzikova D, Bosanska L, Papezova H, Haluzik 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. Epub 2007 Jul 26.

Anderlova K, Dolezalova R, Housova J, Bosanska L, Haluzikova D, Kremen J, Skrha J, Haluzik M.
Influence of ppar-alpha 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. Epub 2006 Dec 19.

Dolezalova R, Haluzik M, Bosanska L, Lacinova Z, Stulc T, Haluzik M.
Effect of PPAR-gama agonist treatment on markers of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus.
Physiol Res. 2007; 56(6): 741-8. Epub 2006 Nov 6.

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

Bošanská L, Lacinová Z, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Doležalová R, Housová J, Křemen M, Haluzíková D, Matoulek M, Haluzík M.
Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.
Čas Lék Česk. 2008; 147(1): 32-7.

Dolinková M, Křížová J, Lacinová Z, Doležalová R, Housová J, Krajíčková J, Bošanská L, Papežová H, Haluzík M.
Polymorfismy genů pro adiponectin a rezistin u pacientek s mentální anorexií a obezitou – pilotní studie.
Čas Lék Česk. 2006; 145(7): 562-6.

Přehledné články:

Bošanská L, Haluzík M.

Vliv blokády renin-angiotenzinového systému na inzulinovou rezistenci a incidenci diabetu: přehled současných znalostí.

Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2007, 10(2), p. 68-74.

Další publikace v impaktovaných časopisech:

Kremen J, Dolinkova M, Krajickova J, Blaha J, Anderlova K, Lacinova Z, Haluzikova D, Bosanska L, Vokurka M, Svacina S, Haluzik M.

Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role in postoperative insulin resistance.

J Clin Endocrinol Metab. 2006 Nov; 91(11): 4620-7.

Hovorka R, Kremen J, Blaha J, Matias M, Anderlova K, Bosanska L, Roubicek T, Wilinska ME, Chassin LJ, Svacina S, Haluzik M.

Blood glucose control by a model predictive control algorithm with variable sampling rate vs. a routine glucose management protocol in cardiac surgery patients: a randomized controlled trial.

J Clin Endocrinol Metab. 2007 Aug; 92(8): 2960-4. Epub 2007 Jun 5

Roubicek T, Dolinkova M, Blaha J, Haluzikova D, Bosanska L, Mraz M, Kremen J, Haluzik M.

Increased angiotensinogen production in epicardial adipose tissue during cardiac surgery: possible role in a postoperative insulin resistance.

Physiol Res. 2007 Nov 30; [Epub ahead of print]

Další publikace v časopisech bez impakt faktoru:

Roubíček T, Křemen J, Bošanská L, Svačina Š, Haluzík M.

Hyperglykémie a inzulinorezistence u kriticky nemocných: příčiny, důsledky a možnosti léčebného ovlivnění – review.

Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2007, 10(3): s. 27-33.

Roubíček T, Křemen J, Bláha J, Matias M, Kopecký P, Rulíšek J, Anderlová K, Bošanská L, Mráz M, Chassin LJ, Hovorka R, Svačina Š, Haluzík M.

Pilotní studie pro srovnání počítačového algoritmu s variabilním intervalem měření glykémie a standardního protokolu pro intenzivní inzulinovou terapii v peri- a pooperačním období u kardiochirurgických pacientů.

Čas Lék Česk. 2007;146(11):868-73.

Křemen J, Bláha J, Kopecký P, Bošanská L, Kotrlíková E, Roubíček T, Anderlová K, Svačina Š, Matias M, Rulíšek J, Hovorka R, Haluzík M.

Léčba hyperglykemie u kriticky nemocných pacientů: srovnání standardního protokolu a počítačového algoritmu.

Vnitř Lék. 2007 Dec;53(12):1269-73.

Abstrakta se vztahem k tématu práce:

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, 19.-21.4.2007, Luhačovice

In: Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2007, 10(Supl 1), s. 39.

Bošanská L, Lacinová Z, Doležalová R, Dolinková M, Mráz M, Roubíček T, Křemen J, Haluzíková D, Matoulek M, Haluzík M.

Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.

8. Studentská vědecká konference 1. LF UK, 22.5.2007, Praha

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 of European Federation of Internal Medicine (EFIM) 23.-26.5.2007, Lisabon, Portugalsko

Bošanská L, Lacinová Z, Doležalová R, Jahodová J, Pavlovičová R, Čechová M, Haluzík M.

Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.

XXVI. Dny mladých internistů, 31.5.-1.6.2007, Olomouc

In: Vnitř Lék. 2007 May; 53(5): s. 602.

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-resistance women.

The European Association for the Study of Diabetes 43rd Annual Meeting, 18.-21.9.2007, Amsterdam, Holandsko

Haluzík M, Michalský D, Haluzíková D, Kasalický M, Lacinová Z, Dolinková M, Kaválková P, Bošanská L, Roubíček T, Matoulek M.

Tuková tkáň jako zdroj cytoadhezivních molekul: vliv obezity a typu tukové tkáně.

84. Fyziologické dny, 2/2008, Martin, Slovensko

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Jahodová J, Pavlovičová R, Matoulek M, Lacinová Z, Haluzík M.

Zvýšená produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně.

44. Diabetologické dny, 17.-19.4.2008 Luhačovice.

In: Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2008, 11(Supl 1), p.21.

Bošanská L, Petrák O, Zelinka T, Mráz M, Widimský J jr, Haluzík M.

The effect of pheochromocytoma treatment on subclinical inflammation and endocrine function of adipose tissue.

7th Congress of European Federation of Internal Medicine (EFIM) 7.-10.5.2008, Řím, Itálie. In: European Journal of Internal Medicine 2008 May; 19(Supl 1): S46.

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Matoulek M, Lacinová Z, Haluzík M.

Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně.

9. Studentská vědecká konference 1. LF UK, 21.5.2008, Praha

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Jahodová J, Pavlovičová R, Matoulek M, Lacinová Z, Haluzík M.

Zvýšená produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně.

XXVII. Dny mladých internistů, 22.-23.5.2008, Martin, Slovensko

In: Vnitř Lék. 2008 May; 54(5): 542-43.

Bošanská L, Petrák O, Zelinka T, Mráz M, Widimský J jr, Haluzík M.

Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem.

XV. Kongres České internistické společnosti ČLS JEP, 24.-27.9.2008, Brno

In: Vnitř Lék. 2008 Sept; 54(9): 884-85.

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Mráz M, Bártlová M, Matoulek M, Dostálová I, Lacinová Z, Haluzík M.

Adipose tissue as a producer of cell adhesion molecules in obesity: comparison of different fat depots.

19th European Students' Conference, 29.9.-3.10.2008, Berlín, Německo

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Mráz M, Bártlová M, Dostálová I, Lacinová Z, Haluzík M.

Adipose tissue as a producer of cell adhesion molecules in obesity: comparison of different fat depots.

5th International Conference of Postgraduate Medical Students, 27.-29.11.2008, Hradec Králové

Další abstrakta:

Anderlová K, Doležalová R, Housová J, Bošanská L, Jahodová J, Pavlovičová R, Houdek Z, Škrha J, Haluzík M. Vliv PPAR- α agonistů na inzulinovou senzitivitu.

42. Diabetologické dny, 20.-22.4.2006, Luhačovice

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, 20.-22.4.2006, Luhačovice

Bošanská L, Anderlová K, Doležalová R, Housová J, Jahodová J, Pavlovičová R, Škrha J, Haluzík M. Vliv PPAR- α agonistů na inzulinovou senzitivitu. 7. Studentská vědecká konference 1. LF UK, 22.-23.5.2006, Praha

Bošanská L, Anderlová K, Doležalová R, Housová J, Jahodová J, Pavlovičová R, Škrha J, Haluzík M. Vliv PPAR- α agonistů na inzulinovou senzitivitu. XXV. Dny mladých internistů, 25.-26.5.2006, Martin, Slovensko

Křemen J, Bláha J, Matias M, Anderlová K, Bošanská L, Svačina Š, Hovorka R, Haluzík M. Comparison of computer algorithm with variable sampling rate and standard protocol for intensive insulin therapy in critically ill patients. Congress of the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), 19.-22.10.2006, Istanbul, Turecko

Bošanská L, Anderlová K, Doležalová R, Housová J, Kaválková P, Škrha J, Haluzík M. Vliv aktivace PPAR- α podáváním fibrátu na inzulinovou senzitivitu a endokrinní funkci tukové tkáně u obézních pacientek s diabetes mellitus 2. typu. Obezitologie 2006, 9.-11.11.2006, Brno

Křemen J, Bláha J, Matias M, Kopecký P, Rulíšek J, Mráz M, Kotrlíková E, Roubíček T, Bošanská L, Svačina Š, Hovorka R, Haluzík M. Srovnání počítačového algoritmu s variabilním intervalem pro měření glykémie a standardního protokolu pro intenzivní inzulinovou terapii u kriticky nemocných pacientů. Žaludovy dny, 7.-8.3.2007, Ústí nad Labem

Křemen J, Bláha J, Lindner J, Kopecký P, Bošanská L, Kotrlíková E, Jiskra J, Doležalová R, Svačina Š, Haluzík M. Srovnání arteriálních a intersticiálních koncentrací glukózy u pacientů v kritickém stavu. Kongres Společnosti klinické výživy a intenzivní metabolické péče (SKVIMP), 3/2007, Hradec Králové

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

Roubíček T, Křemen J, Bláha J, Dolinková M, Bošanská L, Svačina Š, Haluzík M. Zvýšená produkce angiotensinogenu v epikardiální tukové tkáni při kardiochirurgickém zákroku: možný vliv na pooperační inzulinovou rezistenci. 8. Studentská vědecká konference 1. LF UK, 22.5.2007, Praha

Mráz M, Křemen J, Bláha J, Matias M, Kopecký P, Rulíšek J, Kotrlíková E, Roubíček T, Bošanská L, Svačina Š, Hovorka R, Haluzík M. Srovnání počítačového algoritmu s

variabilním intervalem pro měření glykémie a standardního protokolu pro intenzivní inzulínovou terapii u kriticky nemocných pacientů.

8. Studentská vědecká konference 1. LF UK, 22.5.2007, Praha

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

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

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

Křemen J, Bláha J, Matias M, Bošanská L, Roubíček T, Kotrlíková E, Svačina Š, Hovorka R, Haluzík M. Comparison of arterial and interstitial glucose concentrations in critically ill patients. Congress of the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), 8.-11.9.2007, Praha

Lacinová Z, Michalský D, Bošanská L, Kasalický M, Švestka T, Krechler T, Haluzík M. Možná úloha resistinu při vzniku kolorektálního karcinomu u pacientů s obezitou. VIII. Celostátní sjezd České společnosti klinické biochemie s mezinárodní účastí, 25.9.2007, České Budějovice

Křemen J, Bláha J, Matias M, Mráz M, Bošanská L, Roubíček T, Chassin L, Hovorka R, Svačina Š, Haluzík M. Randomized controlled trial comparing blood glucose control using model predictive control algorithm with variable sampling rate (EMPC) vs. standard glucose management protocol in cardiac surgery patients during peri- and post-operative period. European society of intensive care medicine, 7.-10.10.2007, Berlin, Germany. In: Intensive Care Medicine 2007; 33 (Suppl. 2): s52.

Mráz M, Kopecký P, Bláha J, Bártlová M, Křemen J, Bošanská L, Roubíček T, Svačina Š, Haluzík M. První zkušenosti s využitím kontinuální monitorace glykémie na jednotce intenzivní péče. 44. Diabetologické dny, 17.-19.4.2008, Luhačovice
In: Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2008, 11 (Suppl. 1), s. 44.

Roubíček T, Křemen J, Bláha J, Bártlová M, Bošanská L, Svačina Š, Haluzík M. Zvýšená produkce angiotensinogenu v epikardiální tukové tkáni při kardiochirurgickém zákroku: možný vliv na pooperační inzulínovou rezistenci. 44. Diabetologické dny, 17.-19.4.2008, Luhačovice. In: DMEV 2008, 11 (Suppl. 1), s. 36.

Mráz M, Kopecký P, Bláha J, Křemen J, Bošanská L, Roubíček T, Svačina Š, Haluzík M. Prvé skúsenosti s využitím kontinuálneho monitoringu glykémie na jednotke intenzívnej starostlivosti. XXVII. Dny mladých internistů, 22.-23.5.2008, Martin, Slovensko. In: Vnitř Lék. 2008 May; 54(5): 567-68.

Mráz M, Kopecký P, Bláha J, Bártlová M, Křemen J, Bošanská L, Roubíček T, Svačina Š, Haluzík M. Preliminary experience with continuous glucose monitoring in the ICU: a feasibility study.
19th European Students' Conference, 29.9.-3.10.2008, Berlín, Německo

9. PŘÍLOHA

9.1 Publikace se vztahem k tématu práce:

Bosanska L, Petrak O, Zelinka T, Mraz M, Widimsky J jr., Haluzik M.
The effect of pheochromocytoma treatment on subclinical inflammation and endocrine function of adipose tissue.
Physiol Res. 2008 Jul 18. [Epub ahead of print]

Bosanska L, Michalsky D, Lacinova Z, Dostalova I, Bartlova M, Haluzikova D, Matoulek M, Kasalicky M, Haluzik M.
The influence of obesity and different fat depots on adipose tissue gene expression and protein levels of cell adhesion molecules.
Physiological Research, v tisku

Krizova J, Dolinkova M, Lacinova Z, Sulek S, Dolezalova R, Housova J, Krajickova J, Haluzikova D, Bosanska L, Papezova H, Haluzik 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. Epub 2007 Jul 26.

Bošanská L, Lacinová Z, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Doležalová R, Housová J, Křemen M, Haluzíková D, Matoulek M, Haluzík M.
Vliv nízkokalorické diety na sérové koncentrace a expresi cytoadhezivních molekul v tukové tkáni u obézních žen.
Čas Lék Česk. 2008; 147(1): 32-7.

9.2 Abstrakta se vztahem k tématu práce:

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, 19.-21.4.2007, Luhačovice
In: Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2007, 10(Supl 1), s. 39.

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 of European Federation of Internal Medicine (EFIM) 23.-26.5.2007, Lisabon, Portugalsko

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-resistance women.

The European Association for the Study of Diabetes 43rd Annual Meeting, 18.-21.9.2007, Amsterdam, Holandsko

Bošanská L, Petrák O, Zelinka T, Mráz M, Widimský J jr, Haluzík M.

The effect of pheochromocytoma treatment on subclinical inflammation and endocrine function of adipose tissue.

7th Congress of European Federation of Internal Medicine (EFIM) 7.-10.5.2008, Řím, Itálie. In: European Journal of Internal Medicine 2008 May; 19(Supl 1): S46.

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Roubíček T, Mráz M, Bártlová M, Matoulek M, Lacinová Z, Haluzík M.

Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně.

9. Studentská vědecká konference 1. LF UK, 21.5.2008, Praha

Bošanská L, Petrák O, Zelinka T, Mráz M, Widimský J jr, Haluzík M.

Endokrinní funkce tukové tkáně a subklinický zánět: vliv léčby u pacientů s feochromocytomem.

XV. Kongres České internistické společnosti ČLS JEP, 24.-27.9.2008, Brno
In: Vnitř Lék. 2008 Sept; 54(9): 884-85.

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Mráz M, Bártlová M, Matoulek M, Dostálová I, Lacinová Z, Haluzík M.

Adipose tissue as a producer of cell adhesion molecules in obesity: comparison of different fat depots.

19th European Students' Conference, 29.9.-3.10.2008, Berlín, Německo

Bošanská L, Michalský D, Kasalický M, Haluzíková D, Mráz M, Bártlová M, Dostálová I, Lacinová Z, Haluzík M.

Adipose tissue as a producer of cell adhesion molecules in obesity: comparison of different fat depots.

5th International Conference of Postgraduate Medical Students, 27.-29.11.2008, Hradec Králové