

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno  
Farmaceutická fakulta  
Ústav humánní farmakologie a toxikologie

**Nové proteiny tukové tkáně, metabolický  
syndrom**  
Diplomová práce

**Vedoucí diplomové práce:**  
PharmDr. Bc. Hana Kotlová

**Autor:**  
Lenka Přikrylová

Brno, duben 2011



# Abstrakt

## Nové proteiny tukové tkáně a metabolický syndrom

V teoretické části bylo pojednáno o metabolickém syndromu, jeho historii, klasifikaci, jednotlivých složkách a terapii. V druhé polovině teoretické části jsou shrnuty základní fyziologické a morfologické poznatky o tukové tkáni se zaměřením na její sekreční funkci. Proteiny, které produkuje, jsou rozděleny na ty, které působí jako inzulín a na ty, které působí proti němu.

V praktické části se věnují experimentu, jenž proběhl na Ústavu humánní farmakologie a toxikologie Veterinární a farmaceutické univerzity Brno. Skupině 40 inbredních myší kmene C57Bl/6J SPF byly podány potenciální  $\beta$ 3-adrenergní agonisté charakteru aryloxyaminopropanolů, konkrétně C468 a A482A. V práci jsou zhodnoceny výsledky biochemického vyšetření krve (hladiny celkového cholesteolu, LDL cholesterolu, HDL cholesterolu, glukózy a adiponektinu). Výsledky naznačují, že látky C468 a A482A  $\beta$ 3-adrenergní receptory ovlivňují, zvyšují hladiny HDL cholesterolu a pozitivně působí na hladiny adiponektinu.

**Klíčová slova:** adipokiny,  $\beta$ 3-adrenergní agonisté, inzulínorezistence, metabolický syndrom, tuková tkáň,

# Abstract

## New proteins of adipose tissue and metabolic syndrome

In theoretical part metabolic syndrome, history, classification, parts of metabolic syndrome and therapy was discussed. In second part of the theoretical section are summarized the basic physiological and morphological findings on the adipose tissue, focusing on the secretory function. Proteins of adipose tissue are divided into those that act as insulin and those who act against him.

The practical part is devoted to the experiment, which was held at the Institute of Human Pharmacology and Toxicology Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno. Group 40 inbred mouse strains C57Bl/6J SPF were made possible  $\beta$ 3-adrenergic agonists character aryloxyaminopropanols (C468 and A482A). The result from later work are assessed biochemical blood tests (serum total cholesteolu, LDL cholesterol, HDL cholesterol, glucose, and adiponectin). The results suggest that substances C468 and A482A influence the  $\beta$ 3-receptors.

**Key words:** adipose tissue, adipokines  $\beta$ 3-adrenergic agonists, metabolic syndrome, resistance to insulin, adipokines

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením paní PharmDr. Bc. Hany Kotolové, Ph. D. a uvedla v seznamu všechny použité literární a odborné zdroje.

V Brně dne:..... Podpis autora: .....

Tímto děkuji paní PharmDr. Bc. Haně Kotolové, Ph. D. a PharmDr. Zuzaně Piekutowské za cenné připomínky a pomoc při psaní této diplomové práce a za pomoc se statistickým vyhodnocením výsledků experimentu. Lenka Přikrylová, studující 5. ročníku

# Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	8
<b>2. Teoretická část</b> .....	9
2.1. Metabolický syndrom.....	10
2.1.1. Patogeneze MS.....	10
2.1.2. Kriteria metabolického syndromu.....	12
2.1.3. Problémy MS.....	14
2.1.4. Jednotlivé složky metabolického syndromu.....	15
a možnosti jejich terapie	
2.1.4.1 Dyslipidemie.....	15
2.1.4.2. Obezita a nadváha.....	18
2.1.4.2.1. Redukční strava.....	19
2.1.4.2.2. Pohybová aktivita.....	20
2.1.4.2.3. Kognitivně-behaviorální terapie.....	21
2.1.4.2.4. Farmakoterapie.....	21
2.1.4.2.5. Bariatrické operační výkony.....	22
2.1.4.3. Hyperglykemie.....	24
2.1.4.3.4. Diagnostika.....	24
2.1.4.3.5. Patofyziologie.....	25
2.1.4.3.6. Terapie.....	26
2.1.4.4. Hypertenze.....	28
2.1.4.4.1. Terapie.....	28
2.2.1. Tuková tkáň.....	30
2.2.2. Distribuce tukové tkáně.....	31
2.2.3. Morfolgie a rozvoj tukové tkáně.....	32
2.2.4. Metabolismus.....	33
2.2.4.1. Lipogeneze.....	33
2.2.4.2. Lipolýza.....	33
2.2.5. Sekreční funkce tukové tkáně.....	34
2.2.6. Adipocitokiny.....	35
2.2.7. Adipocytokiny podporující činnost inzulínu.....	35
2.2.7.1. Leptin.....	35
2.2.7.2. Adiponectin.....	39
2.2.7.3. Visfatin/PBEF/NAMPT.....	41
2.2.7.4. Omentin.....	42
2.2.7.5. Protein stimulující acylaci.....	43
2.2.7.6. Vaspin/SerpinA12.....	44

2.2.8. Adipokiny potlačující působení inzulínu.....	44
2.2.8.1. Rezistin.....	44
2.2.8.2. Protein vázající mastné kyseliny.....	45
2.2.8.3. Protein vázající retinol 4.....	48
2.2.8.4. Další nové proteiny tukové tkáně.....	48
2.2.9. Rozdíly v produkci proteinů v tukové tkáni.....	49
obézních a neobézních	
<b>3. Experimentální část</b>	
3. 1. Testované látky.....	51
3. 2. Cíl práce.....	52
3. 3. Materiál a metodika.....	52
3. 3. 1. Zvířata.....	52
3. 3. 2. Instrumentální vybavení.....	52
3. 3. 3 Vlastní experiment – preanalytická fáze.....	53
3. 3. 4. Analytická fáze; biochemická stanovení .....	54
3. 3. 4. 1. Stanovení koncentrace celkového cholesterolu.....	54
3. 3. 4. 2. Stanovení koncentrace HDL cholesterolu v séru.....	54
3. 3. 4. 3. Stanovení sérové koncentrace LDL cholesterolu.....	54
3. 3. 4. 4. Stanovení sérové koncentrace TAG.....	55
3. 3. 2. 5. Stanovení koncentrace adiponectinu v séru.....	55
3. 3. 5. Statistické vyhodnocení experimentu.....	55
3. 4. Výsledky.....	56
3. 4. 1. Celkový cholesterol.....	56
3. 4. 2. HDL-cholesterol.....	57
3. 4. 3. LDL-cholesterol.....	58
3. 4. 4. Triacylglyceroly.....	59
3. 4. 5. Adiponectin.....	60
3. 4. 6. Glukóza.....	61
<b>4. Diskuze</b> .....	62
4. 1. Syntéza a testování látek s potenciálním $\beta$ 3-adrenergním působením na Ústavu humánní farmakologie a toxikologie VFU62.....	62
4. 2. Vlastní experiment.....	63
4. 2. 1. Celkový cholesterol, HDL a LDL cholesterol.....	63
4. 2. 2. Triacylglyceroly.....	63
4. 2. 3. Adiponectin.....	64
4. 2. 4. Glukóza.....	64
<b>5. Závěr</b> .....	65
<b>6. Seznam použitých zkratk</b> .....	66
<b>7. Seznam použitých zdrojů</b> .....	68

# 1. Úvod

Metabolický syndrom je souborem příznaků plynoucích především z moderního životního stylu. Je pro něj typická obezita, ke které jsou přidruženy další odchylky, jako je vysoký krevní tlak, porušená hladina krevního cukru až diabetes, dyslipidemie, endotelální dysfunkce a různé další. Ve vyspělých zemích je enormně rozšířený a představuje velké kardiovaskulární riziko. Ve svých důsledcích (aterosklérosa vedoucí i infarktu či mrtvici) je nejčastější příčinou úmrtí.

Ve druhé polovině teoretické části se budu věnovat metabolismu tukové tkáně a látkám, které produkuje. Tuková tkáň má vedle svých známých funkcí, jakými je tepelná izolace, mechanická ochrana a akumulace energie, také schopnost produkovat hormony a další látky. Je dosud velmi málo prozkoumaným endokrinním orgánem, ovlivňujícím většinu systémů v těle, má přímou spojitost s energetickým metabolismem, ale také třeba imunitním systémem. Mnohé její produkty ovlivňují i psychiku a chování.

Z terapeutického hlediska je nejnárodnější léčbou metabolického syndromu zdravá životospráva, což je pro většinu lidí velmi obtížné. Proto je metabolický syndrom předmětem intenzivního farmaceutického výzkumu. Zatím se farmakoterapie zaměřuje na léčbu jednotlivých složek a zkoumají se léčiva s komplexnějším charakterem. Právě takovýmito léčivům, konkrétně látkám ze skupiny potenciálních  $\beta$ 3-adrenergických agonistů se věnuje i Veterinární a Farmaceutická univerzita v Brně. Na Ústavu chemických léčiv jsou syntetizovány látky charakteru aryloxyaminopropanolů a podrobují se preklinickému hodnocení na Ústavu humánní farmakologie a toxikologie. V experimentální části je zhodnocen metabolický profil (hladiny celkového cholesteolu, LDL cholesterolu, HDL cholesterolu, glukózy, adiponektinu a leptinu) po podání látek C511 a A525 inbredním myším C57B1/6N, které byly krmeny vysoce energetickou dietou.



## 2. Teoretická část

## **2. 1. Metabolický syndrom**

Metabolický syndrom inzulinové rezistence (MS) je v současné době středem zájmu řady medicínských oborů, jako je endokrinologie, diabetologie, obezitologie, preventivní kardiologie aj.<sup>(1)</sup> Často je označován jako jeden z nejdůležitějších zdravotnických problémů 21. Století. Tento názor není nijak přehnaný, mnohé epidemiologické studie ukazují, že MS dosahuje rozměrů pandemie a postihuje 1/4 až 1/3 populace.<sup>(2)</sup>

Vzájemná souvislost chorobných stavů (dnes řazených pod pojem MS) je známa již dlouhou dobu. V r. 1923 publikoval E. Kylin první práci upozorňující na častý společný výskyt hypertenze, hyperglykemie a hyperurikemie. O 25 let později přidal Jean Vague k předchozím faktorům centrální adipozitu (ve své práci studoval rozdíly mezi mužskou a ženskou tukovou tkání) a diabetes. Obezita přibyla o dalších 20 let později, do kriterií MS ji zařadil Avogaro. Současný výskyt těchto faktorů byvá nazýván různými synonymy, např. syndrom X, hyperplastický syndrom, civilizační syndrom, hypertonicko-metabolický syndrom, smrtící kvartet, syndrom inzulinové rezistence, aj. Pod všemi těmito označeními se skrývaly soubory rizikových faktorů, které se často vyskytovaly společně a které vedly k předčasnému rozvoji aterosklerózy a diabetu 2. typu (DM2).

Základem pro současnou klinickou definici MS je práce Geralda M. Reavena z roku 1988, která popsala vliv inzulinové rezistence (IR) na poruchy lidského zdraví, zejména hypertenzi, DM2, hladiny volných mastných kyselin (VMA) a poruchy glukózové tolerance (IGT).<sup>(3)</sup> Norman Kaplan o rok později popsal základní triádu faktorů, jež tvoří vyšší krevní tlak (TK), vyšší hladina triglyceridů (TAG) a nižší hladina HDL-cholesterolu v lačné plazmě.<sup>(4)</sup> Později byla u těchto jedinců zjištěna přítomnost malých denzních LDL částic, jež vznikají lipidovou kaskádou z jaterních VLDL částic. Tyto LDL částice jsou vysoce aterogenní a odpovídají za akcelerovanou aterogenezi u osob s MS. S MS souvisejí také další rizikové faktory aterosklerózy (AS), jimiž jsou hyperurikemie, abdominální obezita, mikroalbuminurie, vyšší hladina inhibitoru 1 plazminogenového aktivátoru (PAI-1) a IGT. Dalším výzkumem bylo zjištěno, že soubor rizikových faktorů zvaný MS, představuje významný prozánětlivý, prokoagulační a proaterogenní stav. Riziko kardiovaskulárních onemocnění (KVO) je u pacientů s MS výrazně vyšší než v běžné populaci.<sup>(5)</sup>

### **2. 1. 1. Patogeneze MS**

Na patogenezi MS má významný podíl IR, metabolismus glukózy a kompenzatorní hyperinzulinemie.

Z pohledu evoluce je genotyp se sklonem k metabolickému syndromu inzulinové rezistence pro člověka protektivní a má význam při druhové selekci. Tato hypotéza o šetřícího (thrifty) genotypu byla vyslovena v roce 1962 J. Neelem. Podle jeho revidované teorie je diabetický genotyp „úspěšný“ ve smyslu vysoké efektivity ukládání energie z dodané potravy. Odlišnou hypotézu vyslovil Cahill (1966) - zde je základní myšlenkou konzervace svalového proteinu. Člověk se podle Cahila adaptoval tak, že v době hladovění může využít ketolátky jako zdroj energie. Obě tyto teorie později spojil

Reaven do své teorie a jako spojovací článek označil inzulinorezistenci, která je vlastně schopností šetřit svalovou hmotu v době energetického nedostatku. Novější teorií je alternativní hypotéza genetického imprintingu, dle které se základ pro pozdější akumulaci a rozložení tělesného tuku podmiňuje již při nitroděložním vývoji.<sup>(2)</sup>

Inzulínová rezistence je stavem buňky (tkáň, organismu), při kterém je k vyvolání normální odpovědi třeba vyšší dávky inzulínu. Je pozorovatelná i na subcelulární úrovni, kdy je postižena metabolická dráha. U MS je zasažena biochemickou dráhou PI3-kinázová větev signalizační kaskády (Obr.1). Manifestace jednotlivých symptomů MS je výrazem kombinace dysregulace ostatních účinků inzulínu a genetického podkladu. Nezanedbatelný podíl má i nevhodný životní styl: energetický příjem převyšující výdej, nedostatek pohybové aktivity. Méně známým činitelem zhoršujícím IR je kouření, které tak přispívá k častějšímu rozvoji DM2. S věkem se akumuluje tuková tkáň v břišní dutině u mužů a po menopauze i u žen, snižuje se počet receptorů pro inzulín, a tak se zhoršuje inzulinová rezistence; při vyčerpání schopnosti pankreatu produkovat inzulín vzniká DM 2.<sup>(1)</sup>

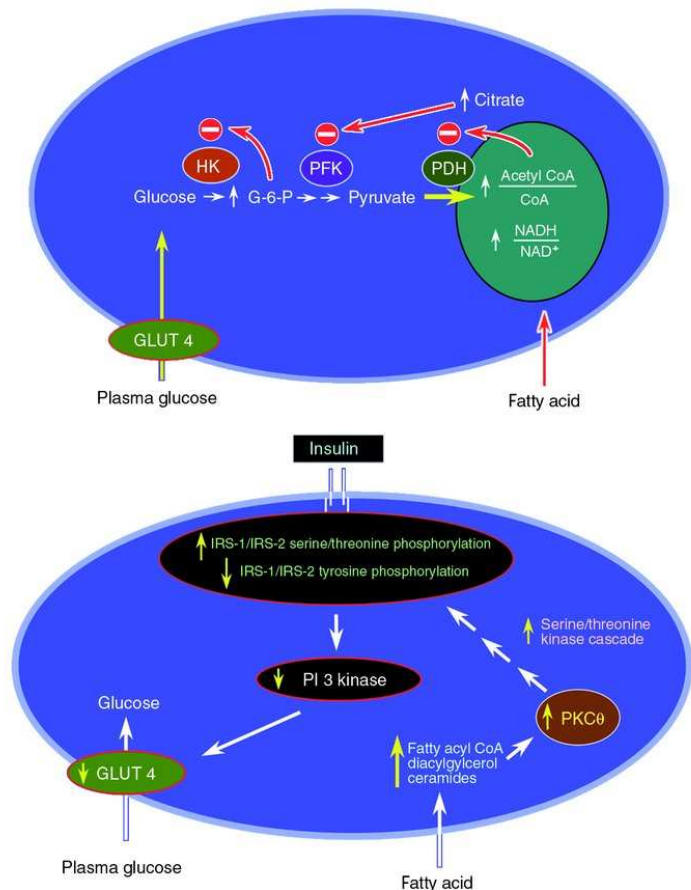
Obr.1: Mechanismus působení VMA na IR<sup>(6)</sup>

Horní polovina obrázku - mechanismus vzniku IR indukované VMA: Zvýšené hladiny VMA vedou ke zvýšení mitochondriálního acetylCoA a NADH/NAD<sup>+</sup> se subsekvencí v inaktivaci pyruvátdehydrogenázy. To způsobí vzestup koncentrací citrátů, jež vedou k inhibici fosfofruktokinázy. Současně vzestup intracelulární koncentrace glukóza-6-fosfátu inhibuje aktivitu hexokinázy II, jejímž důsledkem je zvýšení hladiny glukózy v buňce a snížení vychytávání krevní glukózy svalovou tkání.

Dolní polovina-alternativní mechanismus VMA indukované IR v svalové buňce: Při nadbytku VMA v krvi se tyto látky a jejich metabolity (diacylglycerol, VMA-acylCoA, dále ceramidy) v buňce hromadí a aktivují serin/threonin-kinázovou kaskádu vedoucí k fosforylaci serinu/threoninu

na inzulínových receptorech (IRS-1 a IRS-2), to vede k poklesu schopnosti receptoru aktivovat PI3-kinázu. Aktivita glukózového transportu tak klesá a receptory se zanořují do membrány.

Zkratky: HK, hexokináza II; PFK, fosfofruktokiáza; PDH, pyruvát dehydrogenáza



Dalším často skloňovaným činitelem MS je sympato-adrenální systém. Mnozí autoři jej považují za spojovací článek mezi IR a rozvojem typických rizikových faktorů. Sympato-adrenální systém je tvořen sympatickým nervovým systémem a dřeně nadledvin, které jsou anatomicky i funkčně spojenými systémy. U MS je činnost systémů protichůdná, aktivita sympatiku je zvýšená a aktivita dřeně nadledvin snižena. Snižovaný metabolismus glukózy během lačnění vede k poklesu aktivity centrálního sympatiku (sídlí ve ventrálním hypotalamu a částečně v prodloužené míše). Pokles hladiny glykemie stimuluje aktivitu dřeně nadledvin, která vede kromě jiného ke stimulaci lipolýzy v tukových buňkách. Postprandiálně se činnosti systémů obrací. U osob s IR se funkční stav systémů na lačno podobá stavu systémů u zdravých osob po jídle, tj. aktivita centrálního sympatiku zůstává trvale zvýšená. Nositelé MS musí ovlivnit oba mechanismy, což v praxi znamená zavedení zdravého životního stylu a indikaci postupů včetně farmakoterapie, snižující zvýšený tonus sympatiku a IR. Přestože řada léků, především antihypertenziv, dokáže účinně zlepšit rizikové faktory u MS či dokonce oddálit vznik DM2, zatím neexistuje žádný specifický lék, který by dokázal ovlivnit podstatu MS a následně všechny rizikové faktory související s tímto syndromem.<sup>(1),(5)</sup>

Na patogenezi MS, DM2 a jeho mikro- i makrovaskulárních komplikací se podílí také endoteliální dysfunkce (ED). ED bývá definována jako částečná nebo úplná ztráta rovnováhy mezi vazokonstrikčními a vazodilatačními, proaterogenními a antiaterogenními ději.<sup>(2)</sup>

Nezastupitelné místo má i dědičnost, která je u MS polygenní. Konkrétních genů, podílejících se na vzniku MS, není známo mnoho, v této souvislosti jsou nejčastěji zmiňovány geny pro inzulínovou senzitivitu, ovlivňující metabolismus lipidů, VMK, geny související se zánětem, vedoucí k obezitě a geny pro nukleární receptory PPAR $\gamma$ . Genetická predispozice je zjištělná z rodinné anamnézy: KV příhoda (srdeční infarkt [IM] nebo cévní mozková příhoda [CMP] nebo jiné projevy AS) rodičů v časném věku (otec do 55 let a matka do 65 let) anebo alespoň jeden z rodičů hypertonik nebo diabetik 2. typu.<sup>(1),(2)</sup>

Dalším, silně predisponujícím faktorem je obezita centrálního typu, která je úzce asociovaná jak s IR, tak i s dyslipidemií.

## 2. 1. 2. Kritéria metabolického syndromu

V úvodu je nutno podotknout, že MS není absolutním ukazatelem rizika, jelikož v něm nejsou obsaženy faktory určující absolutní riziko, jako je věk, pohlaví, kouření, avšak u pacientů s MS je riziko KV příhod dvojnásobné, oproti jedincům bez MS. Riziko DM2 je dokonce 5-ti násobné. Proto není neopodstatněné tyto pacienty s MS objektivně vyhledávat a rizika snižovat.<sup>(7)</sup>

Zatímco základní složení skupiny patologických stavů se od svého zařazení do metabolického syndromu příliš nezměnilo, tak přesné hodnoty a postupy jak pacienty diagnostikovat, prodělaly a stále prodělávají mnoho změn. Z toho také pramení nejasnosti v epidemiologických studiích o výskytu MS. Zpřísnění kritérií vede k rapidnímu vzestupu počtu pacientů s MS.<sup>(8)</sup>

Kritéria se dlouhou dobu vyvíjela. Jedněmi z prvních ucelenějších byla kritéria dle WHO z roku 1998. WHO je založila na přítomnosti IR nebo porušené homeostázy glukózy, plus dalších dvou

rizikových faktorů (např. obezity, hypertenze, atd.). Stanovení IR bylo hlavním problémem širší využitelnosti tohoto systému v praxi, protože předpokládalo použití složitých clampových metodik.

V roce 2001 byla v rámci National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III (NCEP ATPIII) vytvořena výstižnější kritéria pro rozpoznání MS (zpočátku nemusí být spojen s porušeným metabolismem glukózy). Tuto definici preferují především kardiologové a lipidologové, a to hlavně u osob v primární prevenci kardiovaskulárních nemocí a DM2.

MS je klasifikován při přítomnosti tří a více z pěti uvedených rizikových faktorů:

- abdominální obezita: obvod pasu u mužů nad 102 cm, u žen nad 88 cm
- hladina TG nalačno nad 1,7 mmol/l
- HDL-cholesterol pod 1,0 mmol/l u mužů a pod 1,3 mmol/l u žen
- glykemie nad 6,0 mmol/l
- TK 130/85 mm Hg a více

Mezinárodní diabetologická společnost (International Diabetes Federation, IDF) a American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute (AHA/NHLBI) v roce 2005 kritéria opět pozměnily. IDF zmírnila důležitost vyšetřování IR, oproti tomu zavedla jako základní kritérium abdominální obezitu (kvantifikována obvodem pasu). Zbývající kritéria byla v podstatě totožná s panelem ATPIII. Abdominální obezita zůstala dlouho nejednotně definována. IDF uváděla jako kritérium obvod pasu 94 u mužů a 80 u žen, AHA/NHLBI doporučila hranici zvýšit na 104cm pro muže a 88cm pro ženy. IDF rovněž zdůraznila, že je nutné přijmout různé hodnoty obvodu pasu u různých etnik.

V roce 2009 se zástupci 5 významných společností dohodli na harmonizaci kritérií. Všech pět kritérií bylo postaveno zpět na stejnou úroveň, přičemž obvod pasu je specificky definován pro různé populace a země. Pod tuto definici se podepsali i zástupci Americké kardiologické společnosti (American Heart Association – AHA) a Světové kardiologické federace (World Heart Federation), Mezinárodní společnosti pro aterosklerózu (International Artherosclerosis Society – IAS), Mezinárodní asociace pro výzkum obezity (International Association for the Study of Obesity) a WHO.

Pro dg MS musí být splněny tři z pěti kritérií:

- Zvětšený obvod pasu (definice podle populace a země) – evropská a kavkazská populace  $\geq 80$  pro ženy a  $\geq 94$ cm pro muže
- triacylglyceroly  $\geq 1,7$  mmol/l nebo medikamentózní léčba hypertriglyceridemie
- HDL-cholesterol  $< 1,0$  pro muže a  $1,3$  mmol/l pro ženy nebo medikamentózní léčba nízkého HDL-cholesterolu
- TK syst.  $\geq 130$  mmHg a/nebo TK diastol.  $\geq 85$  mmHg nebo antihypertenzní léčba již diagnostikované hypertenze
- glykemie nalačno  $\geq 5,6$  mmol/l nebo léčba hyperglykemie

Český institut metabolického syndromu vytvořil definici pro přítomnost MS na základě obou uvedených definic:

- abdominální obezita - pas:
  - muži  $\geq 102$  cm
  - ženy  $\geq 88$  cm
- TG  $\geq 1,7$  mmol/l nebo hypolipidemická terapie
- HDL-cholesterol: muži  $< 1,0$  mmol/l, ženy  $< 1,3$  mmol/l nebo hypolipidemická terapie
- TK  $\geq 130/ \geq 85$  mm Hg nebo antihypertenzní terapie
- glykemie nalačno  $\geq 5,6$  mmol/l nebo porušená glukózová tolerance nebo diabetes 2. typu

V literatuře není zatím mnoho údajů o prevalenci MS. Z provedených studií, které používaly kritéria NCEP ATP III, se pohybuje výskyt MS v průměru u 24 % severoamerické populace, přičemž prevalence stoupá s věkem (7 % u 20-ti letých osob a 40 % u osob starších 60 let). V naší populaci ve věku 24 - 65 let byla zjištěna prevalence MS u 32 % mužů a u 24 % žen. Ve věku 65 let a více by byla prevalence MS ještě vyšší. Výskyt MS se liší v různých etnických skupinách a předpokládá se, že jeho výskyt bude stoupat v rozvinutých i rozvíjejících se zemích světa. Na základě toho lze předpokládat nárůst DM2, a tím i nárůst nejčastějších komplikací aterosklerózy, tj. kardiovaskulárních a cerebrovaskulárních aterosklerotických příhod. Ve stáří vlastní MS nepřináší již tak velké aterogenní riziko, ale je velmi výrazným prediktorem vzniku DM.<sup>(9)</sup>

### 2. 1. 3. Problémy MS

Navzdory obrovskému rozšíření MS v populaci se však kolem jeho definice i samotné existence neustále diskutuje a v poslední době se opět rozpoutala živá polemika.<sup>(1),(2)</sup> Odpůrci teorie tvrdí, že MS je zastřešením pro běžně se vyskytující onemocnění, a popírá jejich souběh jako samostatnou nozologickou jednotku. Tento názor ale není zcestý, obzvláště z pohledu terapie. Léčba diabetu, hypertenze ani dyslipidemie se stejně neřídí podle toho, zda se vyskytnou souběžně nebo samostatně. Navíc, skupiny léků, které jsou doporučována pro pacienty s MS, jsou většinou přínosnější než jiné léky i pro pacienty neobézní. Kupříkladu ACE inhibitory a sartany k terapii hypertenze, nebo metformin, který se projevil jako antidiabetikum s lepšími vlastnostmi než deriváty sulfonylurey. Znalost společného výskytu prognosticky i zdravotně-ekonomicky velmi významných nemocí na druhou stranu může vést lékaře k tomu, aby zcela automaticky uvažovali o přítomnosti dalších odchylek a přiměřeným způsobem po nich pátrali, což může zlepšit vyhlídky mnoha pacientů na delší život bez hrozby invalidity a předčasné smrti.<sup>(10)</sup>

Krátce po harmonizaci kritérií vydala začátkem roku v časopise Diabetologia 2010 WHO expertní konzultace. Konzultanti WHO zhodnotili současný stav názorů na MS, vzali v úvahu stanoviska odpůrců i zastánců a shrnuli otázky MS:

- ? Mechanismus shlukování rizikových faktorů, což samo o sobě MS zpochybňuje. Nejčastěji se za spojovací mechanismus pokládá IR, ale tato teorie není plně potvrzena.

- ? Predikce morbidity a mortality KVO. Vědci z WHO pochybují, že je riziko MS větší než u jeho jednotlivých složek. Framingham risc score, má podle nich větší predikční hodnotu. Podle autorů jiných studií však riziko s MS narůstá dokonce geometricky.<sup>(11)</sup> MS nepopisuje absolutní riziko. Navíc se riziko mění u různých kombinací složek MS.
- ? Neexistence společné terapie všech složek.
- ? Heterogenita mezi jedinci s MS. Existuje totiž mnoho způsobů jak MS diagnostikovat.
- ? Mnoho definic za krátký časový úsek a jejich rozdíly pro různé populace.
- ? Definice obezity. Obvod pasu je sice už sjednocen pro stejné populace, ale vědci z WHO by raději měřili BMI.

MS není obecně přijat národními směrnicemi pro predikci rizika KVO a DM, diagnóza MS se v klinické praxi téměř nepoužívá, nevyžaduje specifickou léčbu, a je spíše předchorobným stavem, proto by z něj měli být vyloučeni pacienti s DM nebo s KVO, kteří již nemocní jsou.

MS tedy není brán jako samostatná nozologická jednotka, ale i tak stále zůstává důrazným upozorněním na vysoce rizikový kardiometabolický profil takovýchto nemocných.<sup>(2),(12)</sup>

## 2. 1. 4. Jednotlivé složky metabolického syndromu a možnosti jejich terapie

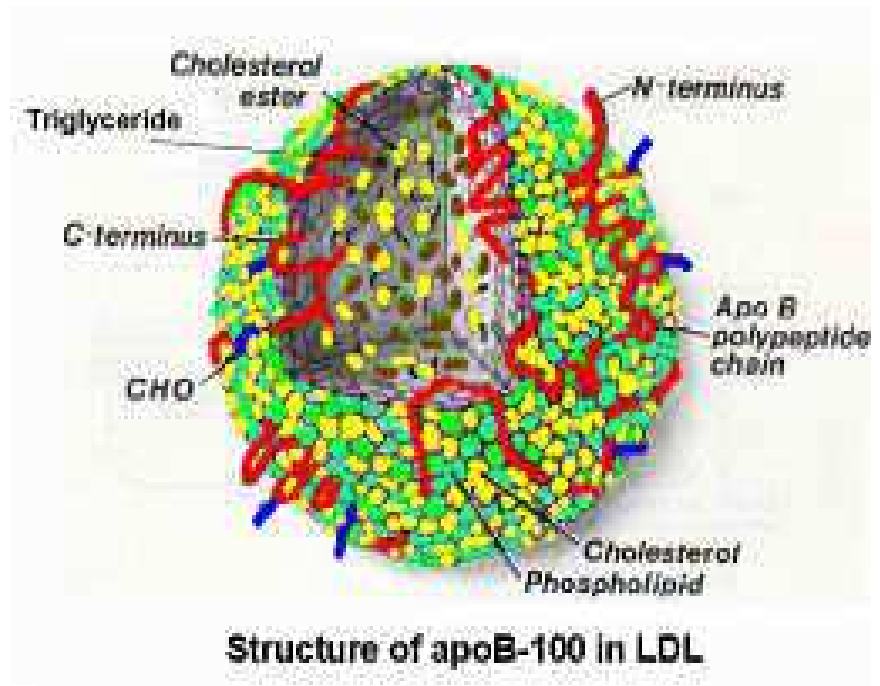
### 2. 1. 4. 1. Dyslipidemie

Dyslipidemie (DLP) se u nemocných s MS manifestuje zvýšením triacylglycerolů (>1,7 mmol/l), snížením HDL-cholesterolu (< 1,0 mmol/l u mužů a < 1,3 mmol/l u žen) a přítomností zvýšené koncentrace aterogenní frakce tzv. malých denzních LDL (LDL<sub>3</sub>). Celkový cholesterol bývá mírně zvýšený, koncentrace LDL-cholesterolu sice může být normální, ale v praxi málokdy dosahuje cílových hodnot. Typické je zvýšení apolipoproteinu B. Podstatou této dyslipidemie je hypertriglyceridemie, která je primární poruchou; pokles HDL a zvýšená produkce malých denzních LDL vznikají druhotně, jako důsledek hypertriglyceridemie. Tento typ dyslipidemie je pro MS naprosto charakteristický, často je označován jako diabetická nebo též aterogenní dyslipidemie. Velké riziko tkví i v její nenápadnosti, jelikož se při vyšetření lipidového spektra věnuje pozornost především celkovému a LDL cholesterolu, jejichž hladiny zde nebývají výrazněji zvýšené, může mnoho ohrožených pacientů zůstat neodhaleno. Význam hypertriglyceridemie a snížení HDL je dosud často podceňován a nevyšetřován. V posledních letech se zpřísnily hranice normy zvláště pro triglyceridy, takže dnes považujeme za dyslipidemii i hodnoty, které jsme ještě nedávno hodnotili jako normální nález. Stanovení hladiny TAG, HDL je téměř všude dostupné, stanovení hladiny malých denzních částic LDL<sub>3</sub> částic zůstává obvyklým laboratorním vyšetřením nepostihnutelné. Citlivějším ukazatelem je Apolipoprotein B (apo B), jehož zvýšená hladina je běžnou součástí obrazu MS. Je citlivější než LDL, protože reflektuje celkový počet LDL částic (jedna LDL částice má jeden apo B, obr.2). Apo B je dán celkovým množstvím apo B100 (nesou ho částice VLDL, IDL, LDL a Lp (a)) a apo B48 (nesou chylomikrony a jejich remnanty). Platí, že čím vyšší je počet aterogenních částic, tím větší je pravděpodobnost, že některá z nich pronikne do cévní stěny a spustí kaskádu vzniku aterosklerotické léze.<sup>(12)</sup> Nevýhodou vyšetření je jednak vysoká cena a také neúplná standardizace metody.<sup>(13)</sup>

Způsob, jakým dyslipidemie podporuje aterosklerotické projevy, není zcela objasněn. Při poklesu koncentrace HDL se naruší tzv. reverzní transport cholesterolu, což je jediná cesta, kterou může být z tkání přebytečný cholesterol odstraněn. Při hypertriglyceridemii se zvyšuje hladina oxidačního stresu a prohlubuje prokoagulační stav, a především se zvyšuje produkce malých denzních LDL-částic. Tyto částice snadno proniknou do cévní stěny, a tudíž jsou vysoce aterogenní, a to dokonce i tehdy, když koncentrace LDL není zvýšena.

Obr.2: Struktura LDL částice nesoucí apo B100<sup>(18)</sup>

LDL částice, stejně jako všechny ostatní lipoproteiny, je tvořena polárním obalem z fosfolipidů a cholesterolu + nepolárním jádrem, ve kterém jsou estery cholesterolu a mastné kyseliny. Na svém povrchu nese apoproteiny, které určují typ částice a děje, kterých se může zúčastnit. Pro LDL je charakteristický apo B100.



Další významnou dyslipidemií je hypercholesterolemie, která sice není z hlediska etiopatogenetického součástí MS; v populaci je ale tak častá, že ji nezřídka nacházíme i u pacientů s metabolickým syndromem (celkový cholesterol vyšší než 5,0 mmol/l má v České republice přibližně 80 % dospělých osob).<sup>(14)</sup>

Terapie dyslipidemie u MS musí být komplexní a měla by vždy zahrnovat režimová opatření (změny životního stylu) a u vybraných skupin osob i farmakoterapii. Největší význam má redukce hmotnosti, (pokles o 5% snižuje riziko ICHS o 43%), dále pohybová aktivita a zařazení nízkocholesterolového jídelníčku zlepší lipidové spektrum i u pacientů, kteří nezhubli.

Farmakoterapie DLP u MS: nedaří-li se dosáhnout cílových (optimálních) hodnot lipidů změnami životního stylu, pak je indikována farmakoterapie hypolipidemik a to u těchto skupin nemocných:

- nemocní v sekundární prevenci s manifestním KVO;
- nemocní s DM2 nebo diabetes 1. typu s mikroalbuminurií (nepatří k obrazu MS)
- osoby v primární prevenci, u kterých je riziko úmrtí na KV příhodu vyšší než 5 % ve výhledu 10 let podle tabulek SCORE<sup>(5)</sup>



Pacienti před nasazením hypolipidemika podstupují v odstupe 2 týdnů až 2 měsíců opakovaná vyšetření krevních lipidů, tak aby se předešlo zbytečnému nasazení hypolipidemické terapie při přechodně zvýšených hladinách (například po jídelním nebo alkoholovém excessu).

Volba hypolipidemika vychází z konkrétního nálezu v krevních lipidech. Statiny jsou indikovány, když má nemocný vyšší než cílový LDL nebo apoB. Podávají se u všech osob v sekundární prevenci KV onemocnění. Fibráty preferujeme u DLP typické pro MS (snížený HDL, zvýšené TAG). Pokud se optimální kompenzace nedosáhne monoterapií, je možno použít kombinaci statinů s fibráty. Tato léčba by měla být zahájena až u komplikovaných pacientů na specializovaném pracovišti, které má dostatek zkušeností. Studie ACCORD porovnávala vysokodávkovou monoterapii simvastatinem nebo fenofibrátem s kombinovanou léčbou. Zařazení byli pacienti s různými poruchami lipidového metabolismu, pacientů s aterogenní dyslipidemií charakteristickou pro MS bylo pouze 17%. Pro tuto skupinu pacientů byla kombináční terapie fenofibrátem se simvastatinem přínosná. Vedla k nižšímu výskytu (o 31 %) nefatálních infarktů myokardu, CMP a kardiovaskulárních úmrtí oproti léčbě samotným simvastatinem. V kontrastu k těmto výsledkům se u neaterogenní dyslipidemie příznivý efekt kombinace, ani samostatného fenofibrátu neprokázal. Na základě těchto statistik se rutinní podávání kombinace statin + fenofibrát nedoporučuje.<sup>(15)</sup> U aterogenní dyslipidemie je však velmi přínosná a snižuje riziko dalšího rozvoje MS, což potvrdila i další podobná studie (tentokrát zaměřená pouze na pacienty s aterogenní dyslipidemií).<sup>(16), (17)</sup>

Tab1: Cílové hodnoty celkového cholesterolu a LDL-cholesterolu; optimální hodnoty HDL-cholesterolu a triacylglycerolů<sup>(5)</sup>

	Primární prevence KVO	Sekundární prevence KVO, vysoké riziko v primární prevenci, diabetes mellitus	Současný výskyt HS a diabetes mellitus	IC
<b>Celkový cholesterol</b>	< 5,0 mmol/l	< 4,5 mmol/l	< 4,5 mmol/l	
<b>LDL -cholesterol</b>	< 3,0 mmol/l	< 2,5 mmol/l	< 2,0 mmol/l	
<b>Apolipoprotein B</b>	< 1,0 g/l	< 0,9 g/l	< 0,8 g/l	
<b>Triacylglyceroly</b>	< 2,0 mmol/l	< 1,7 mmol/l	< 1,7 mmol/l	
<b>HDL -cholesterol: muži</b>	> 1,0 mmol/l	> 1,0 mmol/l	> 1,0 mmol/l	
<b>HDL -cholesterol: ženy</b>	> 1,2 mmol/l*	> 1,2 mmol/l*	> 1,2 mmol/l*	

**\*Poznámka k hodnotě HDL-cholesterolu u žen: zdánlivý rozpor mezi hodnotou optimální dle platných guidelines (> 1,2 mmol/l) a hodnotou která je kritériem pro diagnostiku metabolického syndromu (< 1,3 mmol/l) pro klinickou praxi nijak nevadí. Má-li žena HDL-cholesterol např. 1,25 mmol/l, splňuje sice kritérium pro metabolický syndrom, ale léčba zaměřená na zvýšení HDL-cholesterolu ještě není nutná.**

## 2. 1. 4. 2. Obezita a nadváha

Obezita a nadváha s centrální distribucí tukové tkáně je charakteristickou součástí MS. Nejde pouze o kosmetickou záležitost, nadváha a především obezita je závažným chronickým onemocněním, postihujícím metabolismus a přímo či nepřímo celou řadu orgánových systémů (zejména KV a pohybový).

Incidence obezity v posledních letech stále stoupá, nedávný výzkum z let 2008- 2009, který byl proveden na reprezentativním vzorku české populace, ukazuje, že v České republice má 23 % dospělé populace obezitu a 34 % nadváhou. Signifikantně se zvyšuje obvod pasu (především u žen), přibývá hypertenze (u obézních je dvojnásobně častější) a DM2 (trojnásobně častější). Největší riziko obezity s sebou přináší věk mezi 50. a 59. rokem. Rizika obezity v dospělosti si pak většina osob nese již od dětství a více než 3/4 těch, kteří v dětství měli nadváhu a obezitu, ji mají i v dospělosti. Dále je zřejmé, že pohybová aktivita v mladším věku nejlépe predikuje nižší body mass index (BMI) v dospělosti.<sup>(19)</sup>

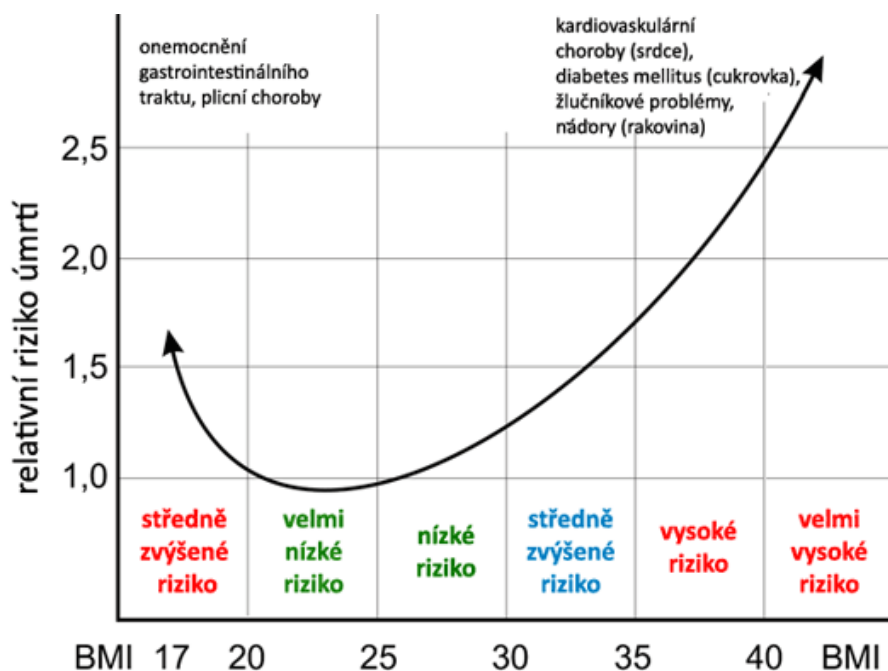
Centrálně uložený tuk se zjišťuje měřením obvodu pasu v polovině vzdálenosti mezi dolními žebry a horním okrajem pánve. Měřením obvodu pasu se stanovuje množství viscerálního tuku. Měření se doplňuje výpočtem BMI. Relativně největší prospěch mají pacienti při redukci prvních 5 – 10 % počáteční hmotnosti. Tento váhový úbytek je také mnohem reálnější, než velká redukce na hmotnost odpovídající ideálnímu BMI. Hodnoty BMI a jeho výpočet jsou zachyceny na obr.3.

Obr. 3: Tabulka hodnot BMI se zachycenými riziky pro zdraví: <sup>(21)</sup>

Vedle odhadu z tabulek jej lze vypočítat jako poměr hmotnosti v kilech ku druhé mocnině výšky v cm. (BMI=kg/cm<sup>2</sup>)

Výpočet BMI pacienty rozděluje do několika pásem:

pod 20 podváha  
20-25 norma  
25-30 nadváha  
30-40 obezita  
40 a více, těžká obezita



Tabulka zpracována podle knihy: Základy klinické obezitologie, Grada 2004

Je hrubou chybou považovat za léčbu obezity pouze redukci hmotnosti. Životní prognózu i kvalitu života obézního ovlivní stejně významně i komplexní léčba dalších přítomných složek metabolického syndromu - diabetu či dyslipidemie. To platí zejména u těch nemocných, kde není naděje na dosažení dlouhodobé redukce hmotnosti. U obézního pacienta je třeba přihlížet k volbě antihypertenziv, psychofarmak, antidepresiv, antidiabetik a hypolipidemik.

Redukce hmotnosti se dá dosáhnout 5 postupy: dietou, fyzickou aktivitou, psychoterapií, bariatrickou chirurgií a farmakoterapií. Je běžné, že první 3 typy léčebně selhávají. Jejich náročnost spočívá ve vysokých nárocích na vůli a odhodlání pacienta. Málokdy je samotný pacient (bez podpory okolí rodiny, lékařů a psychologů) schopen dlouhodobě držet diety a zvýšit pohybovou aktivitu. Nejúspěšnější proto bývá hubnutí v redukčních klubech a rekondičních centrech.<sup>(20)</sup>

#### **2. 1. 4. 2. 1. Redukční strava**

Její podstatou je snížení energetického příjmu a vhodné rozložení do jednotlivých jídel během dne. Za redukční je většinou považován denní příjem energie 6000 kJ a méně. Nejvyšší energetickou hodnotu mají tuky, navíc jsou pro člověka snadno vstřebatelné a uložitelné. Tuky jako součást jídelníčku stále budí velký zájem. Při pokusech na laboratorních zvířatech se prokázalo, že zvýšený příjem nasycených tuků ve stravě může vést k IR. U člověka je nepřímým důkazem, že vyšší příjem nasycených tuků je spojen s poruchou působení inzulínu. Při studiích na lidech se prokázala korelace mezi příjmem tuků a hodnotami plasmatického inzulínu (pozitivní) a citlivostí na inzulín (negativní). Avšak nesmíme zapomenout na to, že tyto korelace jsou z velké části způsobeny vyšší tělesnou hmotností. Jiné intervenční studie se shodují na tom, že pokud se celkový příjem tuků zvýší mírně (cca o 20 - 30%), tak se změny v inzulínové senzitivě neobjeví. Nedávné velké, multicentrické intervenční studie srovnávaly vliv nasycených a mononenasycených tuků ve stravě po dobu 3 měsíců. Ukázalo se, že mononenasycené tuky významně zlepšují citlivost vůči inzulínu, oproti těm nasyceným. Tento pozitivní účinek však mizí, když celkový příjem tuku převyší 38% celkové spotřeby energie. Na druhou stranu je třeba pochopit, že tuky jsou nenahraditelnou součástí jídelníčku a měly by tvořit 20% denního energetického příjmu. A proto strach z přirozeně mírně tučných potravin není na místě. Dalším důležitým faktem je, že energetická hodnota nezáleží na typu tuku (nasycené, nenasycené).

Součástí jídelníčku jsou i sacharidy. Příjem sacharidů zvyšuje hladinu glukózy v krvi, zvláště posprandiálně, a tím i hladiny inzulínu a TAG v plazmě. Škodlivé účinky sacharidové stravy na plasmatické hladiny glukózy/inzulínu, TAG a HDL nebo fibrinolýzy se projeví pouze tehdy, pokud jsou konzumovány potraviny s vysokým glykemickým indexem. Pro člověka je optimální, pokud je sacharidová složka tvořena převážně na vlákninu bohatými potravinami s nízkým glykemickým indexem.<sup>(25), (37)</sup>

#### 2. 1. 4. 2. 2. Pohybová aktivita

Fyzická aktivita, především aerobního typu, je stěžejní součástí redukčních režimů u obézních jedinců. Zvýšení energetického výdeje pohybovou aktivitou v kombinaci s redukční dietou prohlubuje negativní energetickou bilanci, působí redukci tukových zásob a současně brání úbytku aktivní tělesné hmoty, ke kterému dochází při nízkenergetické dietě. Úbytek svalové hmoty je při této dietě bez fyzické aktivity doprovázen poklesem klidového energetického výdeje (REE), což snižuje výsledný efekt redukční léčby. Mnohé randomizované klinické studie prokázaly výraznější zlepšení antropometrických parametrů při kombinaci zvýšení pohybové aktivity a redukční diety, než při využití pouze jednoho režimu. Potvrdily také, že pokračování ve fyzické aktivitě po dosažení hmotnostního úbytku má příznivý efekt na udržení tohoto úbytku.

Podstatou redukce tukové tkáně vlivem fyzické aktivity u obézních je zvýšená oxidace tuků a snížení aktivity lipoproteinové lipázy (LPL). Nezáleží jen na tom, že se fyzická aktivita koná, ale také na tom, jakou má intenzitu. Nejlépe je tuk využíván při aerobním cvičení o nízké a střední intenzitě (40-60% maximální aerobní kapacity), naopak při cvičení vysoké intenzity spojeném s podílem anaerobního metabolismu pokrývají sacharidy více než 65% energetických nároků (na rozdíl od tuku je jejich zásobní kapacita omezená).

Zvýšení fyzické aktivity pozitivně ovlivňuje kromě obezity i jiné složky MS, zvláště významným efektem je snížení IR, která je u abdominální obezity velmi častá. Stejně jako s otázkou, zda byla první slepice či vejce, není jisté, zda je příčinou zlepšení IR úbytek viscerálního tuku či zde viscerální tuk ubývá na základě úpravy IR. Aerobní trénink zvyšuje účinky inzulínu v kosterním svalu prostřednictvím zvýšené aktivity transportéru glukózy GLUT 4, a zlepšuje tak transport glukózy do svalové tkáně z plazmy. Nesmírný význam má také pravidelnost, pokles IR po dávce cvičení trvá asi 72 hod, pokud není tělesná aktivita opakována, vrací se IR na původní zvýšenou hodnotu. Zajímavé je, že zlepšení účinku inzulínu je vázáno pouze na svaly, které jsou do tréninku přímo zapojeny, proto je nejvýhodnější zapojit co nejvíce svalových skupin. Snížení IR doprovází také příznivé adaptační změny v oblasti kardiovaskulární.

Optimálně zvolená fyzická aktivita pozitivně ovlivňuje psychický stav a sebevědomí. Svým centrálním působením potlačuje úzkost a depresi (endorfiny), podporuje relaxaci, zlepšuje sebehodnocení, tlumivě ovlivňuje chuť k jídlu a příjem potravy. Významná je také možnost ovlivnění jídelních návyků, tzn. že lidé, kteří pravidelně cvičí a pohybují se, volí zdravější stravu, která je nezatíží a umožní jim lepší fyzický výkon.

Často skloňovaným pojmem je kardiorespirační zdatnost (aerobní kapacita), která je vyjádřením schopnosti kardiovaskulárního a respiračního systému zásobit pracující svaly kyslíkem a dalšími živinami během fyzické zátěže. Odvíjí se od množství energetických zdrojů, funkční schopnosti transportního systému, věku a dalších faktorů. Nízká kardiorespirační zdatnost pramenící z tělesné inaktivity je dokonce větším rizikem než obezita samotná.

Bezprostřední reakce na fyzickou zátěž je podmíněna stupněm obezity, relativně nízkou svalovou hmotou a obecně nízkou fyzickou zdatností. Fyzický výkon obézního člověka je neekonomický se sníženou mechanickou účinností. Při zátěži se nadměru zvyšuje srdeční frekvence, TK, dechová frekvence (při nižším dechovém objemu) oproti člověku s normální hmotností.

Energetický výdej při fyzické aktivitě závisí na její intenzitě, frekvenci a době trvání. Velmi důležitá je i volba vhodného druhu pohybové aktivity. Doporučovány jsou přirozené aerobní aktivity nezatěžující klouby (chůze, nordick walking, běžky, plavání), dále cviky balanční a protahovací, které zlepšují obratnost a zpevní svalový korzet umožňující vzpřímené držení těla a zlepšující bolesti zad v kombinaci s mírným posilovacím tréninkem (neodbourá tuk, ale zabrání ztrátě svalů a zvýší fyzickou sílu).<sup>(23)</sup>

#### **2. 1. 4. 2. 3. Kognitivně-behaviorální terapie**

Zahrnuje celou řadu přístupů, zejména kognitivní techniky, sebeposilování, aktivní kontrolu vnějších podnětů, kontrolu konzumace až po skupinovou terapii.

#### **2. 1. 4. 2. 4. Farmakoterapie**

Je určena pro pacienty s BMI  $\geq 30,5$ .<sup>(24)</sup>

Pro dlouhodobou farmakologickou léčbu obezity u nás zůstalo v dnešní době jediné účinné anobezikum (orlistat), avšak pozitivní zprávou je, že mnohé nové léky jsou nyní v klinickém stadiu hodnocení.

Farmakoterapie obezity a nadváhy má velmi dlouhou historii. Už na konci 19. století se užívaly hormony štítné žlázy. I přes tachykardie, arytmie a velký počet náhlých úmrtí se v terapii udržely až do 80. let 20. století. Později zavedený dinitrofenol byl rychle nahrazen amfetaminem, který byl anorektický, sympatomimetický a CNS stimuluje. Podobně účinkovaly i mnohá mladší anorektika (např. aminorex). O něco mladší člen rodiny anobezik fenfluramin, stimuluje uvolňování a současně inhibuje vychytávání serotoninu bez sympatomimetické a CNS stimulační aktivity.

Vekou oblibu si získalo sympatomimetikum phentermin. Je ale doporučeno pouze ke krátkodobému užití (max. 12 týdnů). V mozku stimuluje liberaci noradrenalinu. Je pro něj typická nadměrná CNS stimulace vedoucí k únavě, nespavosti, euforii či dysforii. V populární kombinaci s fenfluraminem („Fen-phen“) může přivodit plicní hypertenzi. Nejsou už na našem trhu k dispozici, nicméně mnoho pacientů si originály opatřuje ze zemí, kde ještě registrovány jsou, nebo zneužívají jejich nebezpečné kopie.

Jediným v současné době registrovaným anobezikem je orlistat (na recept vázaný Xenical 120mg a Orlistat GSK 120mg, volně prodejné Alli 27mg, 60mg). Je syntetizován z přírodního inhibitoru lipázy-lipostatinu izolovaného ze *Streptomyces toxytricini* a působí inhibicí lipázy (především pankreatické), čímž zabraňuje lipolýze TAG ve střevě a tím vstřebávání volných mastných kyselin a monoacylglycerolu. Dietní tuky se vstřebávají méně, až o 30%. Vstřebává se minimálně, a proto nemá mnoho nežádoucích účinků. Popisované mastné průjmy a dyspepsie plynou z mechanismu účinku a pacienti si je způsobují sami svou non-compliancí. Dle studie XENDOS (Xenical in the Prevention of Diabetes in Obese subjects) orlistat v kombinaci se zlepšením životního stylu výrazně redukoval hmotnost a snižoval incidenci DM2 (ale pouze u skupiny s porušenou glukózovou tolerancí) oproti placebo v průběhu 4 let.<sup>(25)</sup>

Donedávna byl používán i sibutramin (Meridia). Inhibitor vychytávání serotoninu a noradrenalinu. Na základě výsledků šestileté studie SCOUT (Sibutramin Cardiovascular Outcome

Trial), do které bylo zařazeno přibližně 9 800 pacientů, za účelem vyhodnocení kardiovaskulární bezpečnosti u vysoce rizikových pacientů s anamnézou kardiovaskulárních chorob byly přípravky se sibutraminem staženy z trhu EU, Norsku a Islandu. O pozastavení jeho registrace a prodeje rozhodla EMEA 21. ledna 2010 jelikož se odhalily závažné nežádoucí účinky (častější výskyt CMP a IM).<sup>(26), (27)</sup>

Obdobně skončil i rimonabant, antagonist centrálních a periferních endokannabinoidních CB1 receptorů. Důvodem jeho stažení byla zvýšená incidence depresí a sebevražd.

Ve výzkumu je ale řada dalších anorektik. Například centrálně působící Lorcaserin (selektivní agonista 5-HT<sub>2C</sub> receptorů v hypothalamu, Qnexa (kombinace phenterminu s antiepileptikem topiramátem), Contrave (bupropion-inhibitor zpětného vychytávání NA a dopaminu v kombinaci s naltrexonem-antagonistou opioidních receptorů.) Z léků působících periferně jsou ve vývoji další inhibitory lipázy, nebo jejich kombinace s polymerem navazujícím nestrávené TAG – Cerlistat. Dále látky modulující metabolismus lipidů – syntetický fragment lidského růstového hormonu, z adipokininů je to leptin, ze střevních hormonů glukagon-like peptid-1 (GLP-1), který snižuje chuť k jídlu přes centrální receptory, stimuluje sekreci inzulínu, čímž snižuje i glykemii. Novější látkou je pramlintid – syntetická verze pankreatického hormonu amylinu.<sup>(24)</sup>

#### **2. 1. 4. 2. 5. Bariatrické operační výkony**

Indikovány u pacientů s BMI 35,0 – 39,9 a přítomnými komorbiditami a pro pacienty s BMI ≥ 40,0.<sup>(24)</sup>

Bariatrické operace dokáží i bez redukce hmotnosti upravit či vyléčit DM2 i jiná onemocnění. Váhové úbytky v takových případech nejsou tedy tou nejdůležitější součástí úspěchu bariatrických operací, ale jsou spíše průvodním jevem, někdy k redukci hmotnosti nedochází vůbec ani při zachování efektu v metabolické části léčby. A právě díky výraznému efektu na diabetes a další složky metabolického syndromu se také tyto výkony označují jako metabolická chirurgie a postupně se indikují i u osob s nižším BMI než 35.

Mechanismus pozitivního ovlivnění DM2 spočívá jednak v zlepšení glykemie restrikcí kalorií (podle typu výkonu zcela vyléčí 50-90% pacientů). Ale i když u všech výkonů k nějaké kalorické restrikci dojde, tak efekt není stejný. Spolupůsobí zde i ovlivnění sekrece hormonů především v proximálních částech tenkého střeva, a také zásah do enteroinzulární osy. Nejvíce jsou dnes zkoumané GLP 1 (glucagon like peptid), GIP (gastric inhibitory polypeptide) a řada dalších inkretinů, vylučovaných především L a K buňkami střevními jako odpověď na přítomnost nutrientů v lumen střeva. Tyto inkretiny poté ovlivňují inzulínovou sekreci. Metabolické chirurgické zákroky mají však rovněž vliv na ghrelin a další hormony, které kromě jiného ovlivňují i inzulínovou senzitivitu organismu a to především malabsorpčních výkonů.

Dalším důležitým faktorem, který hraje významnou roli v ovlivnění diabetu je vyřazení proximální části tenkého střeva z pasáže potravy a naopak expozice distální části tenkého střeva nenatrávené potravě. Účastníkem je zřejmě vagová stimulace, resp. alterace vagových signálů, a také ovlivnění evakuační schopnosti žaludku.<sup>(24),(28)</sup>

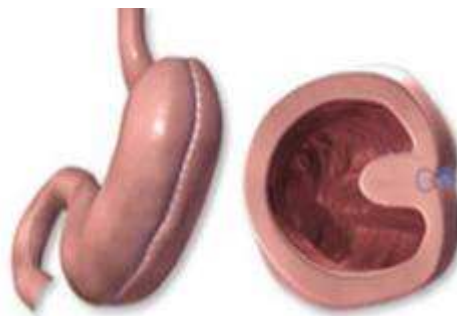
V dnešní době používané bariatrické zákroky rozdělujeme na:

- Restriktivní (snižují kapacitu žaludku):
  - Adjustabilní gastrická bandáž: nejčastější bariatrický výkon u nás. Neporušuje celistvost trávicí trubice a lze ji provést laparoskopicky i u extrémně obézních jedinců. Okolo horní části žaludku se obkrouží silikonový kroužek, zabrání potravě v průchodu do větší části žaludku a pacient má dříve pocit zasycení. (obr. 4)
  - Sleeve gastrektomie (tubulizace žaludku): odstraňuje oblast velkého zakřivení, čímž celkově zmenší objem žaludku více než o polovinu. Navíc odstraní zdroj grelinu, zvyšujícího chuť k jídlu (orexigenní působení). Tvar se změní z vakovitého tvaru na trubici, tubus. Pokud si však pacient nehlídá velikost porcí, může se zbylý žaludek opět roztáhnout a pacient přibere. (obr.5)
  - Gastrická plikace
- Kombinované (gastrický bypass). Bypass je vlastně obejitím žaludku a duodena. Na žaludek je napojena klička tenkého střeva, čímž se odstaví větší část žaludku a dvanáctníku a zkrátí trasa, během které se živiny vstřebávají. Dochází tedy k částečné malabsorbci, proto je výkon kombinací restrikce s malabsorbci. (obr.6)
- Malabsorpční (biliopankreatická diverze a její modifikace)<sup>(29)</sup>

Obr.4: Gastrická bandáž<sup>(30)</sup>

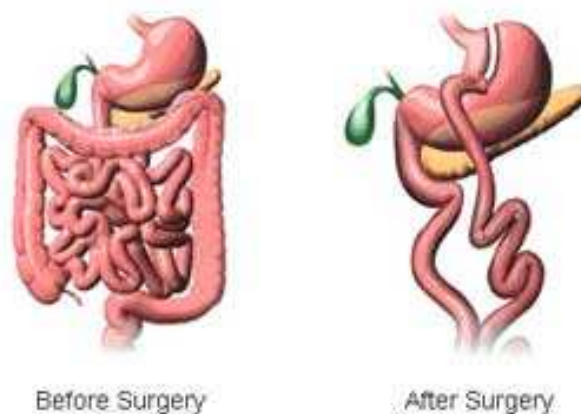


Obr.5: Tubulizace žaludku<sup>(29)</sup>



Obr.6: Gastrický bypass<sup>(30)</sup>

Na obrázku před výkonem je normální vzhled zažívacího traktu, na druhém je stav po zákroku, kdy dojde k výraznému zkrácení trávicí trubice.



Bariatrická, (resp. metabolická chirurgie) je bezpečným operačním zákrokem s rizikem běžného, středně závažného operačního výkonu prováděného u neoběžního pacienta - mortalita nepřevyšuje 0,25%. Samozřejmě, se vzrůstající náročností operačního zákroku rostou i jeho rizika, ale také obyčejně vzrůstá i jeho účinnost. Operační riziko stoupá přímo úměrně stupni obezity a závažnosti diabetu. Nezbytné je psychologické vyšetření a před provedením bandáže je třeba vyloučit gastroezofageální reflux a aktivní gastritidu.<sup>(24),(28)</sup>

### 2. 1. 4. 3. Hyperglykemie

Typickou součástí MS je inzulínová rezistence a hyperglykemie.

**Inzulínová rezistence** - hraje roli v patogenezi MS a její přítomnost předpokládáme v případě, že jsou splněna ostatní diagnostická kritéria syndromu. Její míra se v praxi nekvantifikuje.

**Hyperglykemie** - nezávislé diagnostické kritérium MS. Zahrnuje kategorie poruch glukózové homeostázy (hraniční glykemie nalačno – IFG , porucha tolerance glukózy – PGT či kombinovaná porucha glukózové homeostázy) a diabetes mellitus.

### 2. 1. 4. 3. 4. Diagnostika

Hodnocení glykoregulační poruchy se provádí na základě stanovení glykemie ve venózní plazmě s použitím standardních laboratorních metod.

Kritéria pro diagnostiku DM:

- přítomnost klasických příznaků DM + náhodná glykemie  $\geq 11,1$  mmol/l
- glykemie nalačno  $\geq 7,0$  mmol/l
- glykemie ve 120. minutě orálního glukózového tolerančního testu (OGTT)  $\geq 11,1$  mmol/l

Kategorie hyperglykemie - poruchy glukózové homeostázy (PGH)

- IFG = FPG (hraniční glykemie nalačno) glykemie nalačno  $\geq 5.6$  mmol/l (100 mg/dl) a  $\leq 6.9$  mmol/l (125 mg/dl)
- IGT porucha tolerance glukózy - glykemie ve 120.minutě oGTT  $\geq 7,8$  mmol/l (140 mg/dl) a  $\leq 11,0$  mmol/l (199 mg/dl)
- kombinovaná PGH<sup>(31)</sup>

DM nelze diagnostikovat na základě glykosurie či glykemie naměřené pomocí glukometru (obr.7). Pro screeningové účely je měření glykemie v kapilární krvi glukometrem naopak možné a výhodné.

Obr.7: glukometr<sup>(32)</sup>





Glykovaný hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) se dosud užíval pouze k hodnocení míry kompenzace DM a kvality léčby, nyní se také diskutuje o vhodnosti jeho užití pro screeningové a diagnostické účely.

Hodnota HbA<sub>1c</sub> nad 4,5% by mohla být dalším nezávislým kritériem pro diagnózu diabetu srovnatelným s glykemií nalačno, náhodnou glykemií a glykemií ve 120.minutě OGTT.

### 2. 1. 4. 3. 5. Patofyziologie

Nepochybnou roli v patofyziologii diabetu má inzulínová rezistence, jež zodpovídá za snížené vychytávání glukózy v kosterním svalu a neschopnost inzulínu potlačit produkci glukózy v játrech. Sama IR však nestačí k tomu, aby se DM klinicky manifestoval. Zpočátku je IR totiž vyrovnávána zvýšenou sekrecí inzulínu a hyperinzulinemií, která je výrazem kompenzační snahy organismu překonat IR. Porucha glukózové homeostázy či DM2 se projeví pouze při poklesu sekreční odpovědi B buněk na stimulaci glukózou.

Základem úbytku sekrece inzulínu a progresivního zhoršování poruchy hladin glukózy v průběhu onemocnění je apoptóza. Ta vede ke snížení masy B buněk a terapeuticky je neovlivnitelná. (Kromě léků na bázi inkretinů, které mají *in vitro* pozitivní účinky na B buňky).

Hlavní příčiny apoptózy a funkčního poškození B buněk:

- Genetické
- Metabolické:
  - Glukotoxicita - vliv chronické hyperglykemie.
  - Lipotoxicita - chronické zvýšení koncentrací VMK, akumulace lipidu v B buňce, zvýšená tvorba ceramidu a oxidu dusnatého (NO), přímá interakce s nukleárními receptory a exprese genů a zvýšená lipoperoxidace a oxidační stres.
  - Amylin
  - Oxidační stres a mitochondriální dysfunkce
  - Stres endoplazmatického retikula (ER)
- Přímé poškození sekrece inzulínu navozené IR B buněk. Přestože transport glukózy do B buněk není závislý na inzulínu (B buňky nemají transportér GLUT 4), tak obsahují všechny komponenty inzulínové signální kaskády, které jsou navíc přítomné i v membránách sekrečních granúl inzulínu.
- Humorální - na této regulaci se významně podílejí působky produkované tukovou tkání (adipokiny), z nichž některé jsou asociované s rozvojem IR a jiné mají účinky opačné. Bylo prokázáno, že příjem potravy zvyšuje v adipocytech tvorbu leptinu a adiponektinu. Ty pak cestou aktivace AMP-aktivované proteinkinázy zvyšují oxidaci mastných kyselin, a naopak snižují aktivitu lipogenních enzymů. Deficience leptinu či leptinová rezistence vede stejně jako deficience adiponektinu k ektopickému hromadění tuku. Tato regulace vedoucí k IR se uplatňuje nejen v kosterním svalu či játrech, ale byla doložena i v B buňkách. Adiponektin a leptin navíc chrání B buňky před cytokiny a mastnými kyselinami indukovanou apoptózou. Více o adipokinech v kapitole 2. 2. 6.

### 2. 1. 4. 3. 6. Terapie

DM velmi výrazně zvyšuje riziko KV komplikací, také je spojen s riziky mikrovaskulárních komplikací (diabetická nefropatie, retinopatie a neuropatie). Intenzivní terapie hyperglykemie má největší význam především na počátku onemocnění. Příznivý efekt na redukci KV rizika má těsná kompenzace diabetu zejména u osob časně po záchytu cukrovky v primární KV prevenci. Uplatňuje se tzv. "metabolická paměť" (MP). MP je souborem procesů, které jsou vyvolány hyperglykemií a přetrvávají i po její normalizaci. Její podstatou je aktivace metabolických drah zejména volnými radikály a superoxidovým anionem ( $O_2^{\cdot-}$ ). Ale i přes tento fakt má co nejvčasnější diagnostika a kompenzace velký význam, protože i když se patologické procesy nedají zastavit, tak se výrazně zpomalí a předejde se mnohým komplikacím. U diabetiků s pokročilými komplikacemi a již manifestním KV onemocněním příliš agresivní léčba hyperglykemie může riziko úmrtí dokonce zvýšit, pravděpodobně v souvislosti s výskytem hypoglykemií nebo příliš rychlou kompenzací.<sup>(33)</sup>

Cílové hodnoty jsou proto hodnoceny diferencovaně. Hodnoty HbA<sub>1c</sub> u osob s relativně nižším KV rizikem jsou pod 4,5 % (nemocní s krátce trvajícím diabetem). U nemocných v sekundární prevenci jsou cílové hodnoty HbA<sub>1c</sub> pod 6,0 %. Základem léčby hyperglykemie jsou režimová opatření. Přestože jsou k dispozici studie dokládající snížení incidence diabetu u osob s MS a poruchou glukózové homeostázy při léčbě farmaky, která ovlivňují inzulínovou rezistenci (thiazolidindiony, metformin) či antiobezitiky (orlistat) či dalšími perorálními antidiabetiky (akarbóza), nejsou tyto postupy zatím standardně doporučeny u osob bez manifestního diabetu.

Ve farmakoterapii hyperglykemie je v současné době užíván metformin, deriváty sulfonylurey (SU), akarbóza a inzulín. V poslední době pronikly do širší klinické praxe glitazony (thiazolidindiony), glinidy a léky na bázi inkretinu (inkretinová mimetika = analoga GLP-1 či blokátory DPP4 = gliptiny). Metformin, akarbóza a gliptiny jsou farmaka, která způsobují menší hmotnostní přírůstky ve srovnání s inzulínem, deriváty SU či glitazony. U inkretinových mimetik se objevuje naopak hmotnostní úbytek.

Metformin, jediný používaný zástupce biguanidů, snižuje IR, glykemii a zvyšuje fibrinolytickou aktivitu. Je lékem první volby pro všechny diabetiky hned po zjištění diagnózy DM2 (při respektování kontraindikací). Výhodným účinkem je snížení TAG o 10 až 20 % (spolu s poklesem sekrece jaterních VLDL), mírné snížení LDL cholesterolu a snížení inhibitoru PAI 1, HDL neovlivňuje. Metformin nezvyšuje hmotnost, u osob s poruchou glukózové tolerance ji může i snížit.

Deriváty SU jsou léčiva ze skupiny inzulínových sekretagog. Významně snižují glykemii nalačno i po jídle a tlumí nadprodukcii glukózy v játrech. Nejsou (dle nových doporučení léčby DM2) léčivy 1. volby, přesto mají v terapii stále své místo. Jsou kombinovatelné s metforminem, thiazolidindiony i s inzulínem. Ke svému účinku potřebují funkční B buňky, což limituje jejich použití, stejně jako riziko hypoglykemie (zejména u glibenklamidu). Moderní preparáty (glimepirid, gliklazid) mají riziko hypoglykemie výrazně nižší. Výhodou derivátu SU je velmi dobrá snášenlivost.

Akarbóza (inhibitor alfa-glukosidáz) je použitelná samostatně nebo v kombinaci s ostatními antidiabetiky. Nejspíše nemá další účinky na složky MS. Její mechanismus účinku spočívá ve zpomalení absorpce glukózy a postprandiální glykemie stoupá pomaleji. Její užití limitují nepříjemné vedlejší účinky (flatulence a průjem) a současná nízká úhrada od pojišťovny. Může snížit postprandiální hyperglykemii.<sup>(34)</sup>

Thiazolidiony (glitazony), jsou léky řazené do skupiny inzulínových senzitizerů. Působí periferním mechanismem přes jaderné PPAR receptory (peroxisome proliferator-activated receptors). Jejich výhodou je přímé ovlivnění inzulínové rezistence, zvyšování citlivosti na inzulín, ale také ochrana B buněk.<sup>(35)</sup> Přestože se tato skupina jevila velmi nadějně, tak je rosiglitazon od září 2010 postupně stahován z evropského trhu. Evropská léková agentura (EMA) vydala toto opatření po přehodnocení poměru přínosů a rizik přípravků s rosiglitazonem (Avandia, Avandamet a Avaglim) se zaměřením na KV bezpečnost. Z důvodů rizika srdečního selhání je doporučeno pozastavení jeho registrace.<sup>(36)</sup>

Blokátory dipeptidázy (gliptiny) jsou látky, blokující dipeptidylpeptidázu 4, což je degradační enzym GLP1. GLP1 je secerován střevními buňkami, zvyšuje sekreci inzulínu a citlivost B buněk. Gliptiny jsou účinnými a bezpečnými antidiabetiky, zatím užívanými jako léky 2. volby.

Inkretinová mimetika (exanitid, liraglutid) jsou novější skupinou léčiv, podobně jako gliptiny působí přes GLP1 (jsou jeho agonisté). Dokáží zabránit apoptóze B buněk. Výhodou je pokles hmotnosti pacientů, nevýhodou je injekční podávání 2x denně s.c.

Tab. 2: PAD a složky metabolického syndromu<sup>(34)</sup>

<b>1. hmotnost nezvyšují</b>	metformin, akarbóza, glimepirid, gliptiny, inkretinová mimetika
<b>2. krevní tlak mírně snižují</b>	glitazony, nejistě i metformin
<b>3. cévní komplikace snižují</b>	metformin, gliklazid, pioglitazon
<b>4. dyslipidemii upravují</b>	metformin, pioglitazon, vildagliptin všechna PAD a inzulín při kompenzaci DM snižují TAG

Lékem DM2 1. volby je metformin, jehož podávání se doporučuje ihned po záchytu diabetu. Léčba všemi PAD se zahajuje malými dávkami, které dále titrují, přičemž účinnější než zvyšování středních dávek (zůstává-li HbA1c nad 5 %) je kombinace. Možné je přidat bazální inzulín (nejúčinnější), derivát SU (nejlevnější) nebo glitazon (nejmenší riziko hypoglykemií). Pokud HbA1c během terapie přetrvává nad 5 %, přistupuje se k 3. kroku v léčbě, který má další alternativy: intenzifikovat inzulínoterapii, přidat glitazon, přidat derivát SU, přidat bazální inzulín. Při neúspěchu se volí intenzifikovaná inzulínová terapie s metforminem nebo bez něj. Jelikož funkce B buněk progresivně klesá, musí být terapeutický režim pravidelně sledován a přizpůsobován měnícímu se stavu. Zůstává nepotvrzeno, který inzulínový režim je nejvýhodnější z hlediska KV mortality a dlouhodobé prognózy. Začíná se proto jednoduššími inzulínovými schémata, obvykle jednou dávkou středně dlouho působícího inzulínu nebo dlouhodobého inzulínového analoga na noc v kombinaci s metforminem a deriváty SU. Kombinace s inkretiny je sice nadějná, ale zatím neschválená.

Chyby v léčbě diabetu 2. typu:

- inzulín a PAD bez průběžné snahy zhubnout
- dávka inzulínu překračující 340 IU/den v jedné nebo dvou injekcích denně a váhání s převodem na intenzifikovaný inzulínový režim
- prodlužování léčby PAD, váhání s nasazením inzulínu, zejména u neobězních.<sup>(37),(38)</sup>

#### 2. 1. 4. 4. Hypertenze

Hypertenze (HT) je součástí syndromu inzulinorezistence již od první definice, s častou vazbou na DM a obezitu. HT bývá středně těžká až těžká, často obtížně ovlivnitelná. U MS je za rizikový faktor považován již tzv. vysoký normální TK, tj.  $TK \geq 130/85$  mm Hg<sup>(20)</sup>. Terapie HT u MS musí být komplexní (léčí se i další rizikové faktory, jako je DM, obezita a hyperlipidemie) a individuální (s ohledem na orgánové komplikace a přidružená onemocnění). Nemocní s MS spadají do pásma vysokého a velmi vysokého rizika, farmakoterapie je často indikována již u vysokého normálního TK.

Benefit dlouhodobé antihypertenzní léčby u MS je obtížné posoudit s ohledem na absenci větších prospektivních studií. V praxi se tak pracuje s daty, získanými studii populace diabetiků, kde je současný výskyt MS velmi častý. Studie U.K. Prospective Diabetes Study (UKPDS) je jednou z největších provedených klinických studií u DM2. Cílem této studie bylo především prokázat příznivý vliv kompenzace diabetu (vztažen na hladiny  $HB_{1AC}$ ) na prognózu nemocných. Vedle těchto výsledků vyplynul také vliv razantní kompenzace hypertenze, která vedla k významnějšímu ovlivnění rizika KV příhod včetně redukce výskytu makro- i mikrovaskulárních komplikací ve srovnání s méně razantní léčbou.<sup>(39)</sup>

##### 2. 1. 4. 4. 1. Terapie

Podle současných doporučení Evropské společnosti pro hypertenzi (ESH Newsletter) je prahovou hodnotou pro zahájení léčby 130/85 mm Hg (u osob bez současného DM).

Jako první se užívají nefarmakologická opatření dle evropských a českých doporučení.

- zákaz kouření
- redukce nadváhy a obezity
- tělesná aktivita (30-45 min. 3x-4x týdně)
- zákaz alkoholu (u mužů do 30 g/den, u žen do 20 g/den)
- omezení soli do 5-6 g/den
- racionální výživa
- omezení léků podporujících retenci sodíku a vody - nesteroidní antiflogistika, sympatomimetika, kortikoidy, u citlivých žen event. steroidní antikoncepce

##### Monoterapie antihypertenziv

Dle současných doporučení pro terapii hypertenze jsou upřednostňovány ACE inhibitory a  $AT_1$ -blokátory (sartany). Tyto třídy antihypertenziv prokazatelně snižují KV riziko pro diabetiky (např. studie LIFE, která porovnávala morbiditu a mortalitu ve skupinách pacientů léčených losartanem se skupinou léčenou  $\beta$ -blokátory a diuretiky. Indikátorem kardiovaskulárního rizika byla levostranná ventrikulární hypertrofie, kterou losartan ovlivnil lépe, při téměř stejném snížení krevního tlaku.)<sup>(40)</sup>

Při volbě konkrétního preparátu pro léčbu HT u MS je vedle přítomnosti dalších onemocnění důležité zvážit metabolické působení antihypertenziv. Tyto léky totiž mohou zhoršovat IR a působit přímo diabetogenně. Léčba ACEI/sartany je v tomto smyslu pozitivní a IR zlepšuje. Blokátory kalciových kanálů (BKK) jsou metabolicky neutrální, IR neovlivňují. Thazidová diuretika a  $\beta$ -blokátory

(neselektivní, v menší míře kardioselektivní) jsou metabolicky negativní a u MS se nedoporučují, pokud pro jejich užití není jiné opodstatnění (těžké otoky, srdeční selhání, stav po IM, atd.).

#### Kombinační terapie

Monoterapie je většinou nedostatečná (zabírá asi jen u 20%), a proto je většinou nezbytné zahájit kombinační léčbu. Zpravidla se kombinují blokátory systému renin-angiotenzin s BKK, což potvrdila i nedávná velká klinická studie STAR-LET. Ta hodnotila účinek kombinace ACE inhibitorů v kombinaci s hydrochlorothiazidem nebo a BKK. Hodnotícím kritériem bylo zlepšení OGTT a jako metabolicky výhodnější byla vyhodnocena již zmíněná kombinace ACE inhibitor/BKK. <sup>(88)</sup>

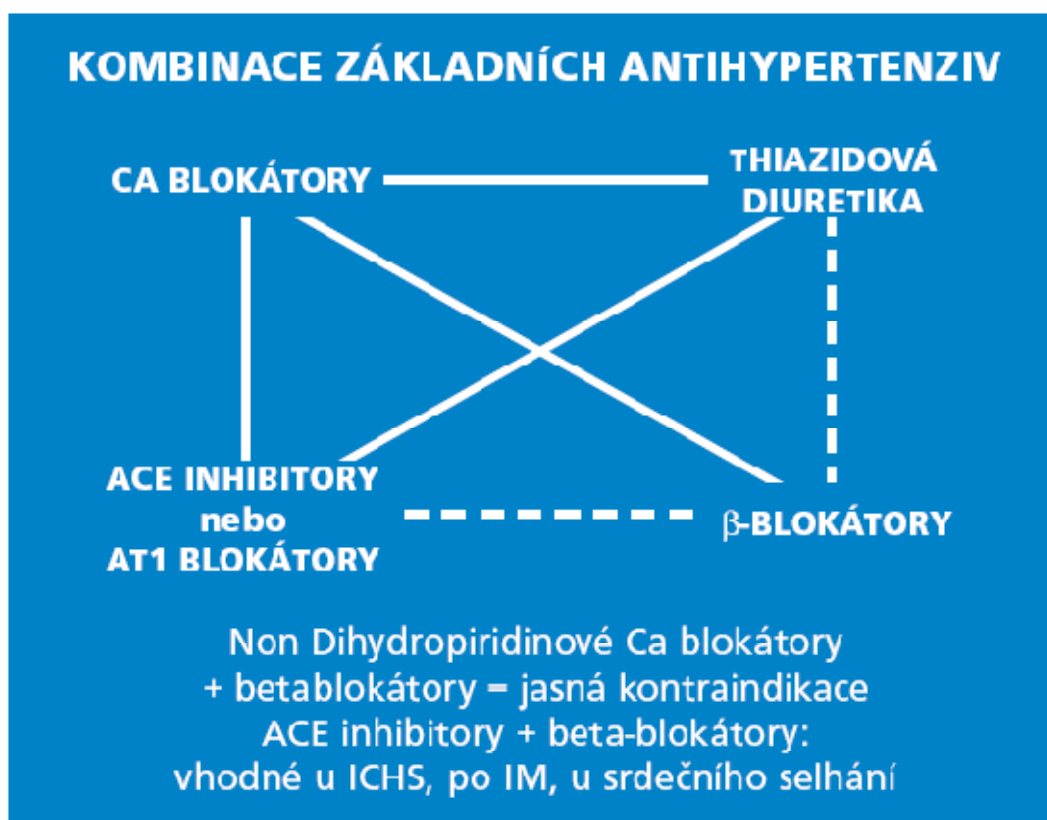
Diuretika příliš nejsou vhodná a pokud už se do kombinace přidají, je třeba častějších kontrol mineralogramu.

Dvojkombinace  $\beta$ -blokátor/diuretikum je u MS nevhodná, jelikož se jejich diabetogenní působení potencuje.

Při volbě trojkombinace antihypertenziv, se jako třetí lék k blokátorům systému RAA a BKK přidává malá dávka indapamidu a nebo thiazidu. <sup>(41),(42)</sup>

#### Obr.8.: Vhodné kombinace antihypertenziv<sup>(42)</sup>

Plnou čarou označeny doporučené kombinace, přerušovanou čarou kombinace s nižším aditivním antihypertenzním potenciálem (ACEI či AT1 blokátory +  $\beta$ blokátory) anebo s vyšším rizikem nežádoucích metabolických účinků (thiazidová d. + BB), dvojkombinace ACEI + AT1 blokátory je vhodná u nemocných s renální dysfunkcí a významnou proteinurií



## **2. 2. Proteiny tukové tkáně**

### **2. 2. 1. Tuková tkáň**

Tuková tkáň je specializovanou pojivovou tkání, která funguje jako hlavní úložiště pro tuk ve formě TAG. Tuková tkáň se u savců vyskytuje ve dvou různých formách: bílé tukové tkáni (největší zastoupení) a hnědé tukové tkáni.

Funkce bílé tukové tkáně: tepelná izolace, mechanická ochrana, zdroj energie. Podkožní tuková tkáň je obzvláště důležitým tepelným izolátorem v těle, protože její tepelná vodivost je třetinová oproti všem ostatním tkáním. Stupeň izolace je závislý na tloušťce této tukové vrstvy. Obklopuje také vnitřní orgány a poskytuje určitou ochranu těchto orgánů při nárazech. Jako hlavní forma uskladnění energie vytváří vyrovnávací paměť pro energetické nerovnováhy, kdy se energetický příjem nerovná energetickému výkonu. Je velmi efektivní v ukládání přebytku energie, protože obsahuje velmi málo vody. Na gram hmotnosti se v ní může uložit více jak dvojnásobné ( $9 \text{ kcal.g}^{-1}$ ) množství energie než v sacharidech či proteinech ( $4 \text{ kcal.g}^{-1}$ ).

Ne všechny tkáně mohou využít tuky jako energii. Na glukóze jsou přímo závislé anaerobně fungující erythrocyty. Také mozek je za normálních podmínek závislý na glukóze a nepoužívá mastných kyselin, za neobvyklých podmínek však zvládne použít i ketolátky (vedlejší produkt nedokonalého metabolismu tuků), pokud jsou přítomny v dostatečně vysokém množství.

Hnědá tuková tkáň, která odvozuje svou barvu z bohaté vaskularizace a hustého výskytu mitochondrií, je aktivní u novorozenců, kde reguluje tělesnou teplotu. Lipidy jsou zde přeměňovány na teplo mechanismem změny přenašečové bílkoviny, která přenáší protony z vnějšku mitochondrií dovnitř bez následné syntézy ATP.

Adipocyty v patřičné kvantitě, lokalizaci a kvalitě jsou však pro zdraví jedince nepostradatelné, neboť ostatní tkáně lidského organismu nejsou uzpůsobeny k ukládání energetických přebytků a i malé množství lipidů uložených mimo tukovou tkáň vede k dysfunkci či apoptóze takto postižených buněk. Klinickým korelátorem jsou pak patologické stavy označované jako jaterní steatóza, non-alkoholická steatohepatitida (NASH), IR či DM2. Význam plně funkční tukové tkáně potvrzuje výskyt DM u pacientů postižených kongenitální lipoatrofií, kdy není tuková tkáň v organismu vůbec vytvořena.

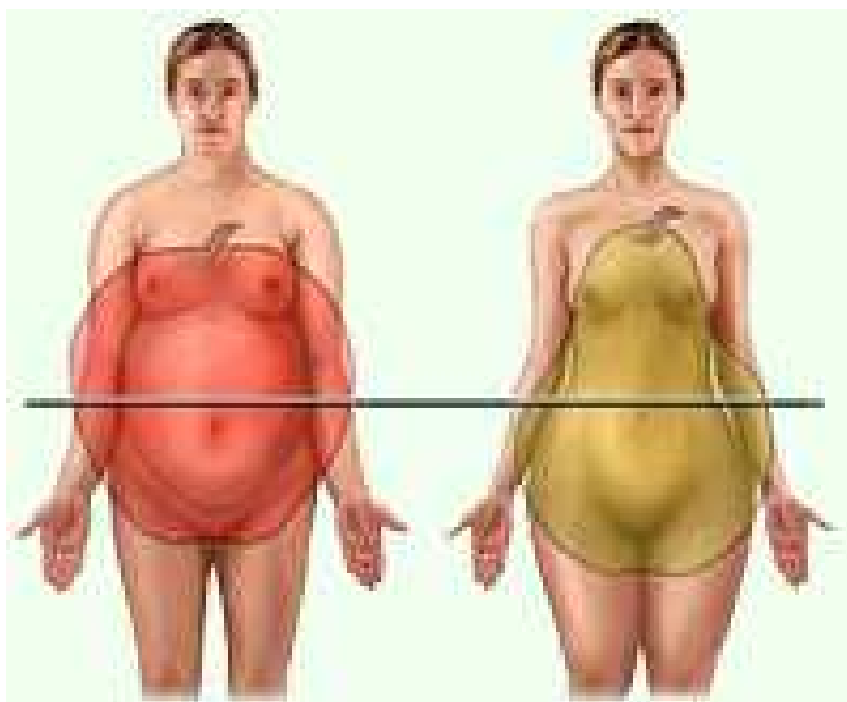
(43)

## 2. 2. 2. Distribuce tukové tkáně

Rozložení tuku v lidském těle je dvojího typu.

Pokud se tuk hromadí v dolní části těla, hovoříme o gynoidním typu obezity (protože je častější u žen), je znám též jako hruška. Daleko nebezpečnější formou je obezita androidní, nebo též jablko. Postihuje jak muže, tak ženy (zejména po menopauze, nebo vlivem častých diet a v neposlední řadě je nežádoucím účinkem podávání kortikoidů). Tuk je z velké části uložen viscerálně, což s sebou přináší řadu rizik (onemocnění KVS, hypertenze, DM2). Rozložení tělesného tuku je dáno geneticky.<sup>(44)</sup>

Mnohé studie prokázaly korelaci mezi poměrem obvodu pasu k bokům a inzulinovou rezistencí a vynořuje se otázka protektivního působení gynoidního (gluteálně-femorální) typu ukládání tuku. Příčinou je odlišná citlivost adipocytů na inzulin. Zbytnělé viscerální (omentální) adipocyty jsou pozoruhodně neefektivní při zpracování TAG a jsou málo citlivé na inzulin. Tento jev vede k tomu, že VMK, které vznikly lipolýzou TAG nejsou uloženy a zpracovány, nýbrž unikají do oběhu a zvětšují pool VMK. Naopak gynoidní adipocyty jsou na inzulin velmi citlivé, proto mohou efektivně hydolyzovat chilomikrony po tučném jídle a chovat se téměř jako buňka kosterního svalu. Proto vysoký počet gynoidních adipocytů (produkující větší množství lipoproteinové lipázy) poskytuje větší ochranu před vzestupem hladin VMK po tučném jídle.<sup>(45),(46)</sup>



Obr.9: Rozložení tuku v lidském těle <sup>(64)</sup>

Vlevo – androidní typ

Vpravo – gynoidní typ

### 2. 2. 3. Morfologie a rozvoj tukové tkáně

U dospělých savců je převážná část tukové tkáně tvořena tukem naplněnými buňkami – adipocyty, které jsou obklopeny kolagenními vlákny, cévami, fibroblasty pojivové tkáně buňky, leukocyty, makrofágy, a pre-adipocyty.

Obr.10: Maturace adipocytu a jeho morfologie<sup>(47)</sup>

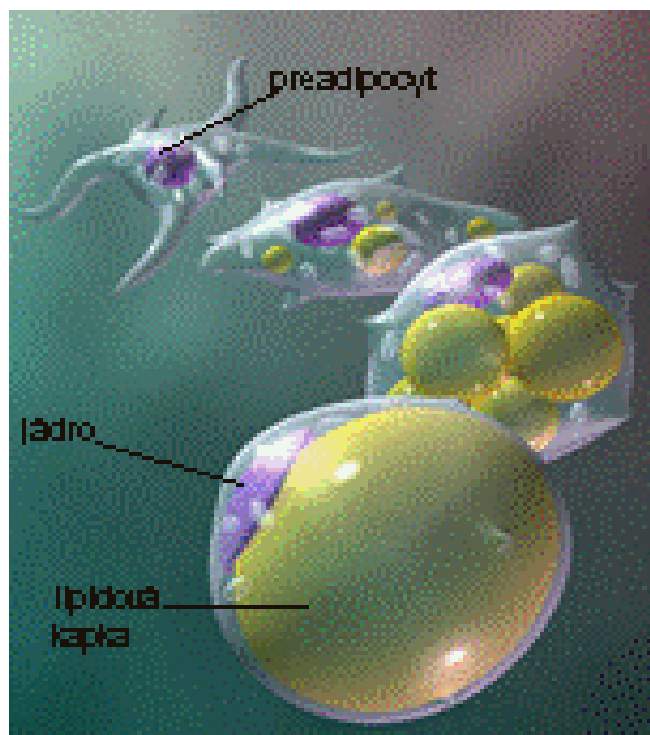
Lipidové kapky v tukové tkáni mohou být jednopouzdré nebo vícepouzdré.

Jednopouzdré buňky obsahují jednu velkou lipidovou kapku, která tlačí jádro buňky proti plazmatické membráně. Buňka má tvar pečetního prstenu, který je pro bílou tukovou tkáň charakteristický.

Velikost 25 až 200 mikronů.

Více lipidových kapek obsahují buňky hnědé tukové tkáně.

Velikost 60 mikronů



Bílá tuková tkáň není tak bohatě vaskularizovaná jako hnědá, ale každá tuková buňka je v bílé tukové tkáni v kontaktu alespoň s jednou kapilárou. Tento přívod krve poskytuje dostatečnou podporu pro aktivní metabolismus, který se vyskytuje v tenkých okrajích cytoplazmy obklopující lipidové kapky. Průtok krve do tukové tkáně se liší v závislosti na tělesné hmotnosti a stavu výživy.

Množství tukové hmoty je dáno počtem a velikostí adipocytů. Tukové tkáně tedy může přibýt buď zvýšením počtu adipocytů - hyperplastický růst nebo zvětšením adipocytů - hypertrofický růst. U člověka převládá hyperplastický růst během 3. trimestru těhotenství a poté těsně před a během puberty. Na rozdíl od dřívějších přesvědčení k němu ale může dojít také v dospělosti. A to tehdy, pokud adipocyty překročí jistou mez svého hypertrofického růstu. Jakmile nové adipocyty vzniknou, zůstávají po celý život a je možné je pouze zmenšit. Tento jev má dalekosáhlý dopad na léčbu a prevenci obezity.



## 2. 2. 4. Metabolismus

### 2. 2. 4. 1. Lipogeneze

Lipogeneze je tvorba lipidů, která obvykle slouží k uložení energie do zásoby. <sup>(48)</sup> Probíhá v tukové tkáni a v játrech, buněčně je lokalizovaná v cytoplazmě a mitochondriích. Na lipidy mohou být přeměněny sacharidy (pokud nejsou využity k přímé spotřebě, nebo tvorbě glykogenu) jaterní biotransformací na TAG, dále i aminokyseliny (pokud nejsou použity na syntézu bílkovin).

Významnou část lipidového spektra tvoří mastné kyseliny a to buď volné (vázané na albumin) nebo ve formě TAG. Mastné kyseliny jsou v malém množství syntetizovány v adipocytech, ale jejich nejdůležitějším zdrojem je potrava. TAG jsou transportovány ve formě chylomikronů (od střevní absorpci) nebo lipoproteinů (z jaterní syntézy) a jsou hydrolyzovány na glycerol a VMK enzymem lipoproteinovou lipázou (LPL). Lipoproteinové lipázy jsou syntetizovány v adipocytech a vylučovány do přilehlých endoteliálních buněk. LPL je aktivována C-II apoproteinem chylomikronů a VLDL. Adipocyty vstřebávají VMK transmembránovým proteinem po koncentračním spádu. Mastné kyseliny, které jsou uloženy v tukové tkáni, se reesterifikují na TAG, a jako zdroj glycerolu je využívána glukóza.

V lipogenetickém procesu má také nazastupitelnou úlohu inzulin. Inzulin podporuje ukládání tuku a blokuje mobilizaci a oxidaci mastných kyselin stimulací tvorby LPL. TAG jsou v oběhu hydrolyzovány a VMK mohou vstoupit do adipocytů. Inzulin je také nutný pro transport glukózy, která je využívána k reesterifikaci.

### 2. 2. 4. 2. Lipolýza

Lipolýza je chemický rozklad a uvolňování tuků z tukové tkáně. V tukových buňkách ji zajišťuje multi-enzymový komplex tzv. hormon senzitivní lipáza (HSL), která hydrolyzuje TAG na VMK a glycerol. Nízká aktivita HSL řídí rychlost lipolytického procesu. Po hydrolyze VMK doplní jejich pool a mohou být buď reesterifikované, nebo se stát palivem pro kosterní svalstvo (srdce a játra) po beta-oxidaci. Beta-oxidace probíhá v cílových tkáních, kam se dostanou pasivní difuzí, uvnitř buňky se thioesterovou vazbou spojí s koenzymem A. Takto aktivované VMK podstoupí řadu biochemických změn, na jejímž konci je ATP.

Inzulin snižuje vyplavování VMK z tukové tkáně inhibicí TAG lipázy, prostřednictvím poklesu cAMP. Toto potlačení lipolýzy snižuje rychlost dodání MK do jater a periferních tkání, což snižuje produkci ketolátek. Inzulin také stimuluje využití ketolátek a tím snižuje jejich plasmatickou koncentraci.

## 2. 2. 5. Sekreční funkce tukové tkáně

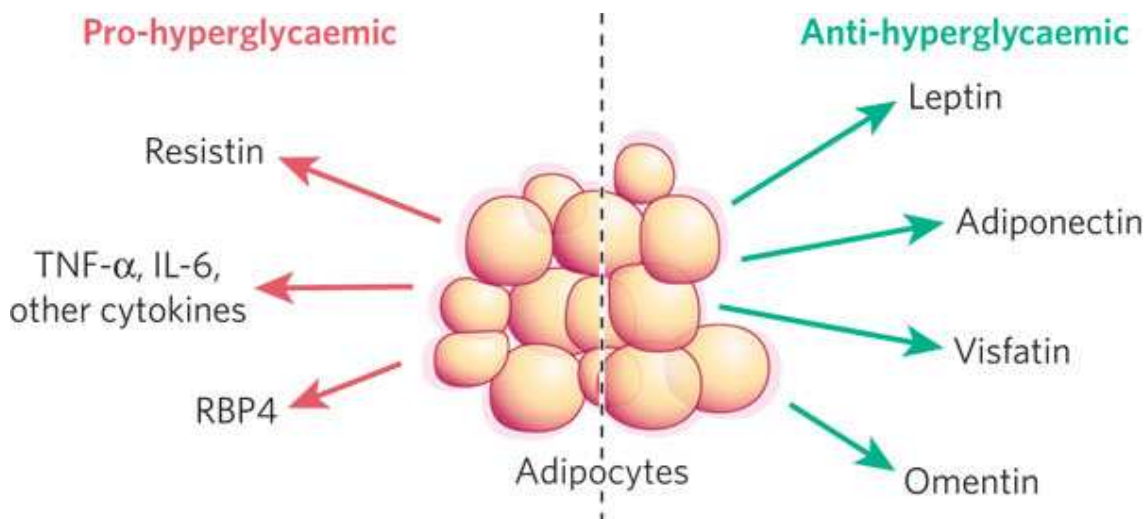
Tuková tkáň v současnosti již není brána jako pasivní uložisko tuků, ale jako endokrinní orgán, uvolňující do cirkulace (vedle VMK) celou řadu endokrinně aktivních látek (adipokinů), jež významnou mírou ovlivňují inzulinovou senzitivitu v kosterní svalovině, játrech a tukové tkáni. Mnohé produkty tukové tkáně mají úzký vztah s imunitním systémem a zánětlivou odpovědí, a podílí se tak na navození celotělové zánětlivé reakci o nízké intenzitě, která je rizikovým faktorem pro rozvoj aterosklerózy a DM2. Tyto látky nejsou produkovány jen adipocyty, ale i ostatními buňkami této oblasti. Endokrinní funkce tukové tkáně je možné farmakologicky i nefarmakologicky ovlivnit, přičemž vývoj dalších farmak ze skupiny hypolipidemik a antidiabetik se očekává v blízké budoucnosti. Ale i když máme mnoho poznatků o tukové tkáni a jejích produktech, stále zůstává většina otázek týkajících se regulačních drah a funkcí jednotlivých adipokinů u člověka zahalena tajemstvím a v současné době je předmětem dalšího výzkumu řady pracovišť.<sup>(43),(49)</sup>

Tab. 3: Stručný přehled produktů tukové tkáně<sup>(49)</sup>

<b>Metabolity</b>	VMA, glycerol
<b>Hormony produkované adipocyty</b>	leptin, adiponectin, visfatin, ASP
<b>Hormony produkované adipocyty i stromavaskulární frakcí</b>	IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$
<b>Proteiny extracelulární matrix</b>	kolagen typu III, fibronectin
<b>Komponenty systému renin-angiotensin-aldosteron</b>	renin, angiotensinogen, angiotensin I, II
<b>Enzymy</b>	lipoproteinová lipáza, adiposin, matrix metalloproteinázy
<b>Angiogenní faktory</b>	VEGF, HGF
<b>Cytoadhezivní molekuly</b>	VCAM-1, ICAM-1
<b>Hemostatické faktory</b>	PAI-1, tkáňový faktor
<b>Růstové faktory</b>	FGF, TGF- $\beta$ , CNTF, MCSF
<b>Chemokiny</b>	MCP-1, IL-8, eotaxin, CCL-5
<b>Jiné</b>	rezistin, RBP-4, vaspin, omentin, alelin, prolaktin

## 2. 2. 6. Adipocitokiny

V dalším textu se budu věnovat skupině proteinových hormonů, které jsou produkovány buňkami tukové tkáně. V jednoduchosti je lze rozdělit na faktory, které účinek inzulínu podporují a na ty, které působí proti němu. (Rozdělení dle funkce a nejvýznamnější adipocitokiny jsou na obr.č: 11 ).



Obr.11: Rozdělení adipocytokinů na pro-hypoglykemické a proti-hypoglykemické <sup>(50)</sup>

## 2. 2. 7. Adipocytokiny podporující činnost inzulínu

### 2. 2. 7. 1. Leptin

Leptin je považován za jeden z nejdůležitějších signálů regulujících příjem potravy a udržující energetickou homeostázu. Byl objeven r. 1994 metodou pozičního klonování u morbidně ob/ob obézní myši a své jméno dostal podle řeckého *leptos* (štíhlý, tenký). Je produkován adipocyty, ale v menší míře také v jiných tkáních (žaludek, placenta, kostní dřeň a játra). Zajímavým poznáním bylo objevení exprese leptinu i jeho receptoru v placentě a vaječnicích. Všude, kromě adipocytů, je jeho exprese závislá na věku.

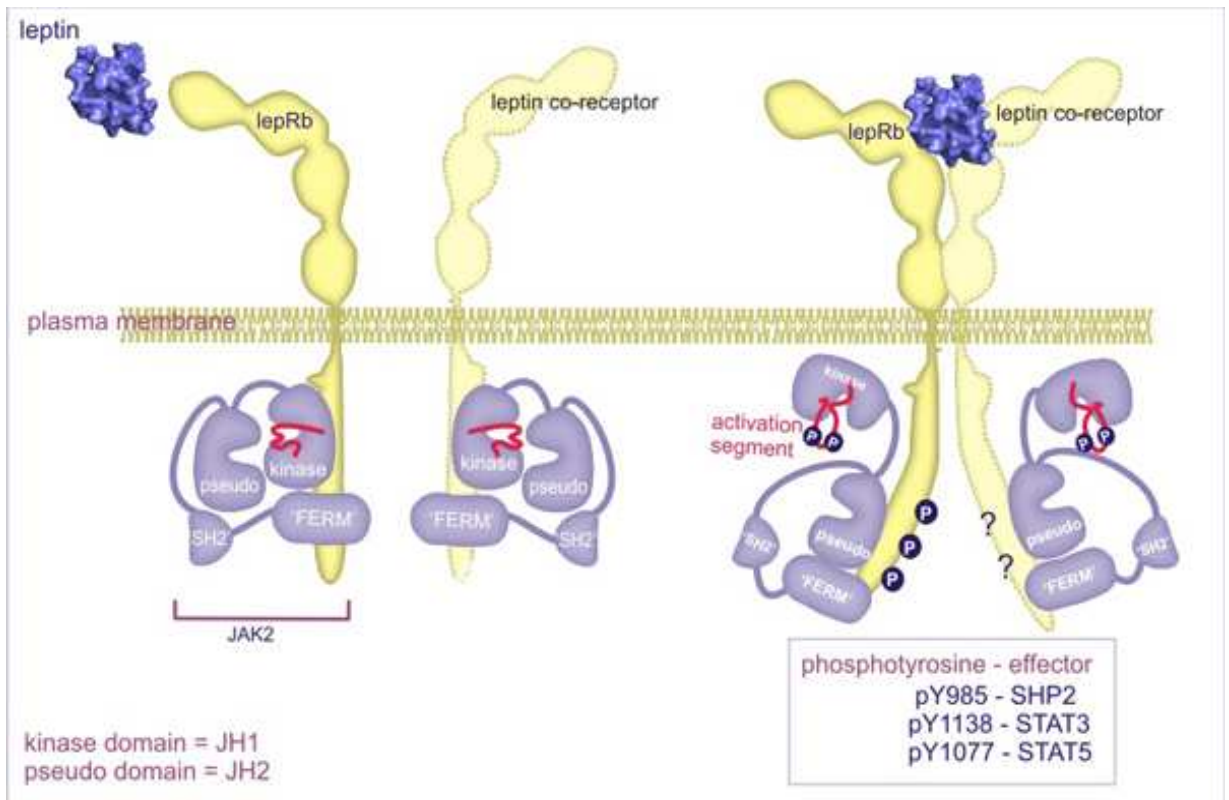
Leptin má zásadní podíl na regulaci tělesné hmotnosti. Jeho nejpravděpodobnější úlohou bude regulační vliv u malnutričních stavů, kdy snížení jeho hladiny spouští řadu dějů, vedoucích k šetření energie a umožňuje přežití jedince při nedostatečném příjmu energie. Po jídle leptin reguluje homeostázu krevních lipidů, při zvýšení hladin TAG v krvi se zvýší sekrece leptinu, jenž stimuluje uložení TAG v tukové tkáni a současně brání ukládání těchto látek do netukových tkání. Při poklesu

hladiny leptinu nebo tkáňové rezistenci se tuky hromadí i v tkáních, které k tomu nejsou uzpůsobeny. Mohou se projevit jako generalizované steatózy, lipotoxicity a lipoapoptóza. Lipotoxicita pankreatických  $\beta$ -buněk, myokardu a kosterního svalstva vede k DM2, kardiomyopatii, inzulinové rezistenci a ústí v metabolický syndrom.<sup>(51)</sup> Hladina leptinu s MS koreluje pozitivně, naopak hladina adiponektinu negativně.<sup>(52)</sup> Pacienti s mutací v genu pro leptin nebo leptinový receptor se fenotypicky manifestují obezitou, dyslipidemií a inzulinovou rezistencí. Podáváním rekombinantního leptinu pacientům s deficiencí leptinu byly tyto příznaky potlačeny, ovšem u naprosté většiny obézních není tento genetický defekt přítomen a hladina plasmatického leptinu je v normě nebo zvýšena a suplementace rekombinantního leptinu tudíž není efektivní. Nadějnější by snad bylo podávání leptinu v kombinaci s některým GIT hormonem (amylinem, GLP-1 agonisty...) Mechanismy způsobující poruchu regulace tělesné hmotnosti u obézních jedinců se zvýšenou hladinou plasmatického leptinu nejsou dosud objasněny, pravděpodobně u těchto subjektů vzniká stav rezistence k účinku leptinu – obdoba inzulinové rezistence. Studie u obézních hlodavců prokázaly narušení transportu leptinu přes hematoencefalickou bariéru (HEB). Krevní koncentrace leptinu vzrůstá se zvětšující se obezitou a se zvětšujícím se podílem tukové tkáně. Syntéza leptinu se dále zvyšuje se zvětšující se velikostí adipocytů. Hladina leptinu je navíc ovlivněna řadou dalších faktorů, jako je věk, pohlaví, teplota, ve které se organismus nachází, nebo poruchy příjmu potravy (anorexie, bulimie), při kterých je pozměněn i transport leptinu přes hematoencefalickou bariéru. Během hladovění je exprese leptinu na nízké úrovni, silně poklesne i jako odezva na zvýšený výdej energie. Po najedení dojde k rychlému obnovení syntézy a krevní koncentrace leptinu. Tímto způsobem leptin slouží jako senzor krátkodobých změn v energetickém metabolismu a jako regulátor příjmu potravy. Při hladovění jsou leptinové receptory nacházející se v hypotalamu bez navázaného leptinu, protože jeho koncentrace je příliš nízká, což vyvolává pocit hladu. Následkem zvýšení koncentrace leptinu je jeho vazba na receptory a útlum pocitu hladu. Leptin také ovlivňuje termoregulaci, ovulaci a dospívání. Dalším významným místem působení jsou  $\beta$ -buňky pankreasu. Leptin na ně působí jednak přímo a jednak nepřímo přes CNS dráhy. Je schopen inhibovat sekreci inzulinu a pokles hladin inzulinu zpětnově dále snižuje koncentrace leptinu. Williams a Callon na myších modelech prokázali také kostní anabolickou aktivitu leptinu. U myši s knockoutovaným receptorem pro leptin se projevilo snížení kostní denzity. Nicméně velká kohortová studie v Memphisu a Pittsburghu na starších lidech (70-79let) souvislost hladin leptinu s kostní denzitou nepotvrdila. Naopak, navrhla adiponektin (viz dále) jako možný rizikový faktor fraktur ve starším věku nezávislý na tělesné konstituci.<sup>(51),(53),(54),(55),(89)</sup>

Leptinový receptor (a tudíž možnost ovlivnění buněčných pochodů leptinem) na svém povrchu nesou myocyty, adipocyty, hepatocyty i pankreatické  $\beta$ -buňky. V tukové buňce (zvířecí model) leptin interaguje s účinky inzulinu na buněčný metabolismus (glukózový transport, aktivace glykogen-syntázy, lipogeneze, inhibice lipolýzy) i s vazbou inzulinu na membránové receptory. Leptin negativním způsobem ovlivňuje také lidské pankreatické  $\beta$ -buňky, kde dochází ke snížení sekrece inzulinu jako odpovědi na stoupající glykemii. V myocytech (in vitro studie) leptin (podobně jako adiponektin) aktivuje klíčový enzym regulující energetický metabolismus – 5'-AMP-aktivovanou proteinkinázu (AMPK) a tím zvyšuje oxidaci TAG uložených ve svaly. Při pozitivní kalorické bilanci produkce leptinu v tukové tkáni stoupá a cirkulující leptin zvyšuje využití mastných kyselin ve svalové

tkání aktivací AMP-kinázy. Leptin by tímto mechanismem za fyziologických podmínek mohl zprostředkovávat ochranný vliv na kosterní svalstvo před patologickou akumulací triglyceridů s negativním dopadem na inzulínovou senzitivitu. Tento efekt není zatím podpořen přímými důkazy na lidských subjektech.

Hlavní funkční formou receptoru je jeho dlouhá forma LRb. Receptor je tyrosinkinázového typu, nekovalentně je k němu vázána tyrozinkináza JAK2 (Janus kináza), která při aktivaci receptoru fosforyluje tyrosinové zbytky jednak ve své vlastní struktuře, tak i samotný LRb receptor (receptor s navázanou tyrosinkinázou je na obr.12). Aktivace leptinového receptoru vede k represii orexigenních drah (např. dráhy neuropeptidu Y [NPY] a agouti-peptidu [AgRP]). Dále indukuje anorexigenní cesty (např. změny hladin pro-opiomelanokortinu [POMC] skrze fosfatidylinositol-3-kinázu [PI3K] a signální transducery a aktivátory transkripce [STAT]). Tyto dráhy zprostředkovávají reakce na příjem potravy a změny množství tělesného tuku. A to především změny glukozové homeostázy. Farmakologická inhibice PI3K blokuje leptinovou supresi příjmu potravy, naopak její aktivace v hypotalamu je spjata s anorexií.<sup>(56),(57)</sup>



Obr.12: Leptinový receptor<sup>(59)</sup>

Leptinový receptor je tvořen dvěma proteiny (receptorem a koreceptorem). Po navázání leptinu dojde k dimerizaci receptoru a koreceptoru (vpravo), což vede k aktivaci cytosolické tyrozinkinázy JAK2. Pokud jsou receptory volné (vlevo), udržují své FERM domény v autoinhibovaném stavu, následná dimerizace vede ke změně orientace intracelulární části, která uvolní funkční doménu tyrozinkinázy a ta fosforyluje tyrosinové zbytky na receptoru b (LepRb) na 3 tyrosinových zbytcích (Y985, Y1138 a Y1077).

Leptin působí také v CNS, především v arcuate nucleus (ARH) v oblasti basomedálního hypothalamu. Narušení dráhy PI3K se manifestuje inzulinovou desenzitizací, narušení dráhy zase JAK-STAT spíše hyperfagií a obezitou.

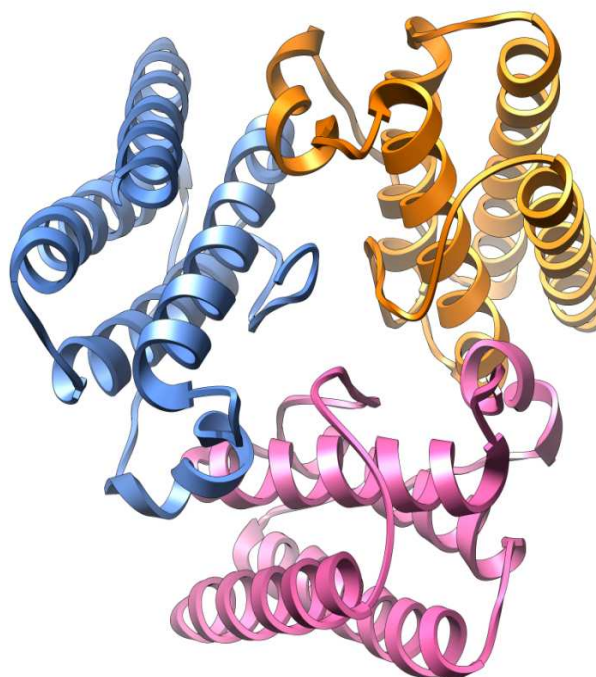
Jelikož produkce leptinu viscerální tukovou tkání je v porovnání s podkožní tukovou tkání významně nižší, nalézáme u pacientů s centrálním typem obezity nižší plasmatické koncentrace leptinu. Jedním z možných vysvětlení vyššího rizika kardiovaskulárních a metabolických chorob u pacientů s centrálním typem obezity by mohl být menší ochranný vliv kosterní svalové tkáně kvůli nižší koncentraci leptinu. V hepatocytech (zvířecí model) leptin snižuje aktivitu stearyl-koenzym A desaturázy, klíčového enzymu v syntéze TAG a VLDL částic, jehož experimentální deaktivací je produkce těchto sloučenin omezena a recipročně je potencován metabolismus hromadících se prekurzorů, tj. mastných kyselin. Blokáce tohoto enzymu přináší tak dvojí benefit: snížení obsahu TAG v játrech a pokles potenciálně aterogenních VLDL částic v cirkulaci. Klinickou relevanci těchto in-vitro experimentů bude však ještě nutné ověřit in vivo. Jak je z uvedených příkladů patrné, některé účinky leptinu jsou inzulin senzitivující, např. vliv na metabolismus svalové či jaterní buňky, jiné by naopak vedly ke zhoršení inzulinové citlivosti (účinek na pankreatické  $\beta$ -buňky a adipocyty).

Hladiny leptinu v séru vykazují změny v závislosti na cirkadiálním rytmu. Klinické studie pacientů s různými typy obezity (androidní, gynoidní) a neobézních jedinců prokázaly rozdíly v amplitudách koncentrací leptinu. Gynoidní obezita je spojena s vyšší amplitudou (podobnou amplitudě kortisolu), zatímco androidní obezita vykazuje amplitudu plošší. Znalosti těchto denních rozdílů mohou být využity ve zlepšení chronofarmakologických opatření. <sup>(58)</sup>

Obr.13: Struktura leptinu <sup>(60)</sup>

Leptin je bílkovinným hormonem o velikosti 167 aminokyselin, jeho terciární strukturu tvoří čtyři antiparalelní alfa-helixy, které jsou spojeny dvěma dlouhými a jedním krátkým spojem.

Jako každý protein je i leptin kódován v DNA - gen pro leptin je lokalizován na sedmém chromozomu, v pozici 7q31.3.





## 2. 2. 7. 2. Adiponectin

Adiponectin byl objeven v roce 1995. V literatuře je možné ho najít ještě pod názvy Acrp30, AdipoQ, apM1 a Gelatin-binding protein 28 (GBP28). Je produkovaný především zralými adipocyty a v lidské plazmě je přítomen v poměrně velkém množství, tvoří přibližně 0,01 % všech plasmatických bílkovin. V menším množství jej produkuje i buňka svalová. V experimentech bylo prokázáno, že hladiny adiponectinu i jeho exprese jsou výrazně sniženy u morbidní obezity, IR a aterosklerózy. Tyto odchylky lze podáváním adiponectinu normalizovat. Naopak zvýšen je u štíhlých lidí a sportovců. Adiponectin významně reguluje metabolismus sacharidů a lipidů, zvyšuje utilizaci a transport glukózy i VMK do svalových, jaterních a tukových buněk. V hepatocytech potlačuje glukoneogenezu.<sup>(49)</sup>

Funkce adiponectinu je spjata s aktivací AMPK. AMPK se aktivuje při poklesu buněčného ATP a ovlivňuje řadu metabolických drah, včetně exprese genů, a takto navodí obnovu energetické rovnováhy v buňce.

Vliv adiponectinu je zprostředkován dvěma receptory - adiponectinový receptor 1 a 2 (AdipoR1 a AdipoR2). AdipoR1 je ubikvitární, AdipoR2 se vyskytuje nejhojněji v játrech. Snižování počtu těchto receptorů vede k projevům obezity a IR (prokázáno na myších modelech). Stimulace jaterních AdipoR2 zvyšuje expresi genů zapojených do procesu vychytávání glukózy v játrech (enzym glukokináza, PPAR- $\alpha$  receptor a jeho cílové geny). Aktivace AMPK snižuje endogenní produkci glukózy v játrech, zatímco exprese obou receptorů zvyšuje oxidaci mastných kyselin, snižuje množství jaterních TAG a zlepšuje IR. Cílený knockout AdipoR1 snižuje účinek adiponectinu a vede ke zvýšení endogenní produkce glukózy a IR. Knockout AdipoR2 způsobil snížení aktivity PPAR- $\alpha$  signální dráhy a IR. Současné zablokování obou receptorů vede k ještě silnější intoleranci glukózy a IR. U IR obézních pacientů jsou hladiny adiponectinu sniženy a jeho receptory jsou méně aktivní a v menším počtu (downregulace). Zvýšení množství adiponectinu/adiponectinových receptorů nebo posílení funkce adiponectinových receptorů může představovat zajímavou léčebnou strategii pro IR u obézních.<sup>(54)</sup>

Plasmatická koncentrace adiponectinu negativně koreluje s BMI, koncentrací triglyceridů, lačnou glykemií, lačnou inzulinemií a ostatními parametry IR, naopak s hladinou HDL cholesterolu je adiponectin asociován pozitivně, pravděpodobně díky schopnosti adiponectinu aktivovat lipoproteinovou lipázu. Adiponectin tvoří mezi ostatními adipokiny výjimku v tom smyslu, že jeho koncentrace v plazmě obézních osob, pacientů s DM2 či ischemickou chorobou srdeční je snížena. Adipocyty za těchto stavů nejsou schopny produkovat adiponectin v odpovídající míře. Adiponectin působí preventivně proti rozvoji aterosklerózy. Zabraňuje transformaci makrofágů v pěníte buňky a snižuje expresi povrchových adhezních molekul na povrchu makrofágů, čímž zasahuje do časných stadií vzniku aterosklerotického plátu. Díky své homologii s kolagenem adiponectin adhezuje k subendoteliálnímu prostoru poškozené cévy a omezuje nežádoucí hyperplazii média během reparačních pochodů.

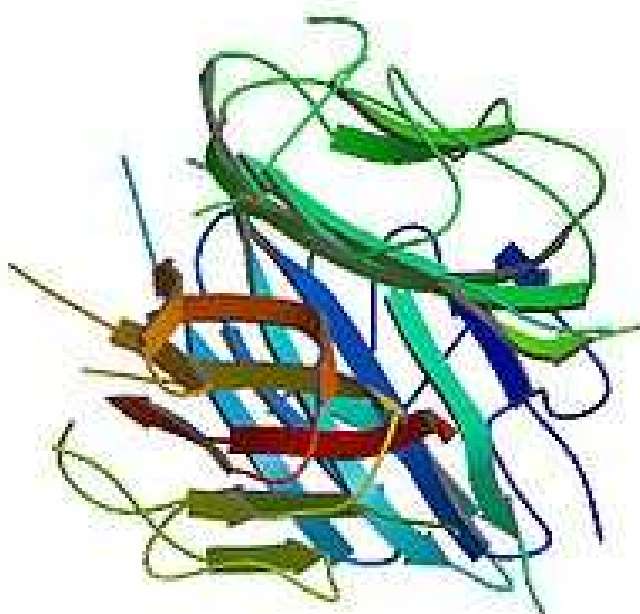
Adiponectin se v lidské plazmě vyskytuje v několika polymerních izoformách. Za nativních podmínek se v monomerní formě nevyskytuje. Základní stavební jednotka adiponectinu (obr.14) se sdružuje po 3, 6 a více molekulách dohromady a tvoří trimer, hexamer a polymery o vyšší molekulové

hmotnosti. Spojeny jsou fibrilární částí. Experimentální i epidemiologické studie poukazují na úzkou souvislost mezi stupněm polymerace adiponectinu a jeho biologickým účinkem. Některé buněčné efekty (potlačení apoptózy endoteliálních buněk, snížení plasmatické koncentrace glukózy) jsou zprostředkovány převážně vysokomolekulární formou adiponectinu. Podobně závažnost inzulinové rezistence u obézních subjektů a pacientů s DM2 koreluje s relativním zastoupením vysokomolekulární formy adiponectinu, nikoli s jeho celkovým množstvím. Množí se tedy hypotézy považující vysokomolekulární formu adiponectinu za biologicky aktivnější izoformu. Zajímavé je i zjištění, že ženy vykazují signifikantně vyšší plasmatickou hladinu vysokomolekulární formy adiponectinu než muži.

Z klinického hlediska představuje adiponectin slibnou cílovou molekulu, jejíž plasmatickou koncentraci a zastoupení polymerních izoformem lze farmakologicky efektivně ovlivnit. Skupina moderních antidiabetik označovaná souhrnně jako thiazolidindiony, (např. rosiglitazon) současně s poklesem inzulinové rezistence výrazně zvyšuje hladinu celkového adiponectinu v plazmě a zastoupení vysokomolekulární izoformy. Méně přesvědčivé jsou výsledky prací popisujících vliv redukce hmotnosti pomocí dietní intervence, pohybové aktivity, změny životního stylu či pomocí chirurgického zákroku na plasmatickou koncentraci adiponectinu a zastoupení jednotlivých izoformem. Někteří autoři dokládají možnost ovlivnění hladiny adiponectinu pomocí těchto intervencí, v jiných pracích naopak zůstala koncentrace adiponectinu beze změny i přes zlepšení IR a dalších metabolických parametrů. Podávání samotného adiponectinu by mohlo zmírnit obezitu, dyslipidemie, i poruchy glukozové homeostázy. Omezením terapeutického použití je nutnost podávání velmi vysokých dávek adiponectinu a technologické obtíže při syntéze multimerních forem.<sup>(43),(53),(49)</sup>

Obr.14: Struktura adiponectinu<sup>(61)</sup>

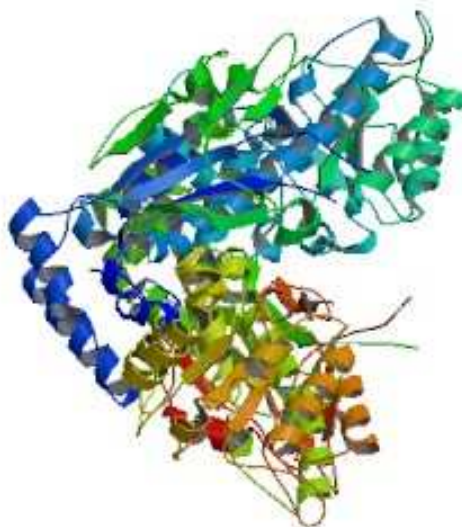
Je tvořen dvěma odlišnými doménami. N-terminální fibrilární doména je homologní s kolagenem VIII, C-terminální oblast je globulární a homologní k faktoru komplementu C1q.





### 2. 2. 7. 3. Visfatin/PBEF/NAMPT

Počátkem roku 2005 byla skupinou japonských vědců v tukové tkáni popsána produkce proteinu visfatinu a dokumentovány účinky relevantní k patogenezi inzulínové rezistence. Protein byl znám již dříve jako PBEF (pre-B-cell colony-enhancing factor), který stimuluje maturaci B lymfocytů a také jako NAMPT (nicotinamide phosphoribosyltransferase). Visfatin je tedy multifunkčním proteinem, který je nyní řazen mezi adipokiny. Jeho struktura odpovídá stuktuře dimerického typu fosforbosltransferázy, jejímž úkolem je syntéza NMD (nikotinamidmononukleotid) a NAD nikotinamidadenin-dinukleotidfosfát dinukleotid). Během této reakce dochází k vazbě nikotinamidu s 5-fosforibosyl-1-pyrofosfátem za vzniku NMD, který je prvním krokem v syntéze NAD.



Obr.15: Struktura visfatinu<sup>(65)</sup>

Hladiny visfatinu korelují s viscerální obezitou, DM2 a MS u laboratorních zvířat i lidí. Visfatin zvyšuje glukózový transport v myocytech, lipogenezu a diferenciaci adipocytů v tukové tkáni a zároveň snižuje produkci glukózy v hepatocytech, a má tedy inzulín senzitivující účinek. Hladiny visfatinu stoupají při hypoxii, zánětu a hyperglykemii, naopak klesají po podání inzulínu, somatostatinu a statinů.<sup>(54), (62), (63)</sup>

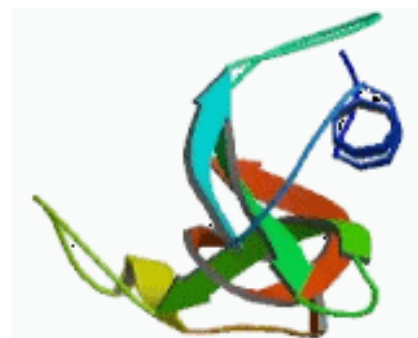
Visfatin se váže přímo na extracelulární část inzulínového receptoru, má podobnou afinitu jako inzulín, liší se od něj vazebným místem na receptoru. Visfatin zřejmě takto zprostředkovává aditivní inzulínomimetický efekt na cílové tkáně. Přesný mechanismus není zatím objasněn a je předmětem výzkumu. Dalším zkoumaným mechanismem je také stimulace sekrece NAD. Inhibice NAMPT aktivity vedla k poklesu NAD sekrece a poklesu glukózou stimulované sekrece inzulínu.<sup>(53),(54)</sup>

Další z možných funkcí je podpora diferenciaci adipocytů a lipogeneze ve viscerální tukové tkáni, čímž dochází k rozšíření depozitní schopnosti viscerálního tuku a možnosti absorbovat větší množství lipidů, které by jinak mohly nepříznivě ovlivňovat metabolismus ostatních inzulín dependentních tkání.

Visfatin je peptidem endokrinním, parakrinním a též autokrinním, s mnoha funkcemi, zahrnující mimo jiné proliferaci, biosyntézu NAD a NAM a též hypoglykemický efekt.<sup>(62)</sup>

#### 2. 2. 7. 4. Omentin

Omentin je proteinem sekretovaným v depotní tukové tkáni a to pouze v tuku viscerálním. Odtud má také název, jelikož viscerální tuk je také označován jako omentální tkáň. Dalším specifikem omentinu jsou buňky, které jej produkují. Netvoří se ani v adipocitech, ani v makrofázích, nýbrž v podpůrných cévních buňkách. Podobně jako visfatin má pozitivní vliv na příjem glukózy adipocyty, ale nevykazuje inzulínový mimetický efekt, pouze zvyšuje citlivost buněk k inzulínu.



Obr.16: Struktura omentinu <sup>(69)</sup>

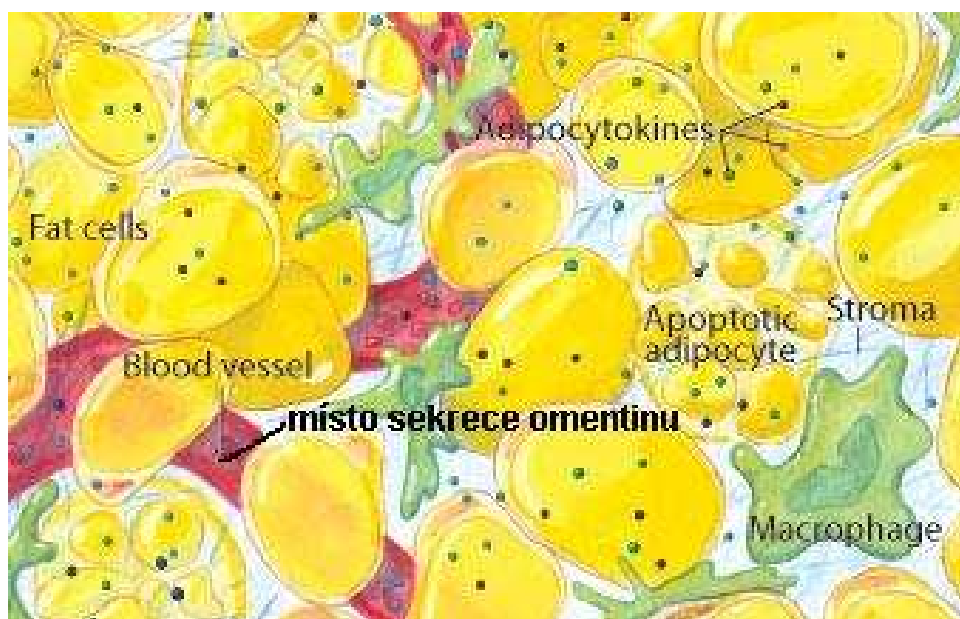
Strukturálně (obr.16) je to glykoprotein tvořený 295 aminokyselinami N-vázaným oligosacharidy, základní strukturální jednotkou je 120kDa homotrimer, ve kterém jsou 40kDa polypeptidy vázány disulfidickými můstky.<sup>(66)</sup>

Omentin umožňuje inzulínem stimulovaný transport glukózy a Akt fosforylaci v lidských podkožních a viscerálních adipocytech a tak může zlepšit inzulínovou senzitivitu. Plasmatické hladiny omentinu-1, hlavní cirkulující isoformy, intenzivně korelují s obezitou a IR. Exprese omentinu z jeho mRNA (přítomná hlavně ve viscerálních adipocytech) se u nadváhy a obezity zvyšuje.<sup>(67)</sup> Podání glukózy a inzulínu v omentální lidské tukové tkáni vyústilo ve výrazný na dávce závislý pokles omentinu-1. Fyziologickou úlohu omentinu v metabolismu glukózy, jeho cílové tkáně, receptor, nebo příslušné signální dráhy je třeba ještě určit.<sup>(53), (54)</sup>

Omentin je sekretován v buňkách cévního endotelu (obr.17) a vyznačuje se přímými vasodilatačními účinky zprostředkovanými uvolněním oxidu dusnatého.<sup>(68)</sup>

Obr.17: Struktura tukové tkáně <sup>(69)</sup>

Na obrázku jsou vyznačeny krevní cévy – místo sekrece omentinu, velké žluté buňky - adipocyty, apoptotický adipocyt, modře je mezi buňkami patrná stromální hmota, zelené makrofágy, a jako zelené tečky jsou znázorněny adipocytokiny



### 2. 2. 7. 5. Protein stimulující acylaci

Protein stimulující acylaci (acylation stimulating protein, ASP či C3adesArg) je jedním z faktorů, které mají přímý vliv na diferenciaci adipocytů. Je to 8,9 kDa velký hormon produkovaný adipocyty po interakci faktoru komplementu C3 a faktoru B a faktoru D (též známý jako adipsin). C3 se naváže na faktor B a následně je rozštěpen serinovou proteázou adipsinem. Výsledkem interakce je C3adesAr (ASP). Štěpení komplementového proteinu C3 probíhá v extracelulárním prostoru. Adipsin je tedy dalším proteinem sekretovaným adipocyty, jeho exprese, stejně jako exprese C3 a faktoru B, podporují chylomikrony. Funkční studie ukazují, že ASP stimuluje příjem mastných kyselin, glukózy a syntézu TAG jiným mechanismem než vazbou na C3 receptor.

Terciální struktura proteinu je tvořena třemi alfa helixy spojenými třemi disulfidickými můstky. Jeden z helixů je prodloužen o úsek variabilní konformace, zakončený kaxboxyskupinou. N-terminální část váže TAG a aktivuje ASP receptor, aktivita nativní C-terminální části se zatím neprokázala, nicméně chemické zvýšení její hydrofobnosti vede k navázání na receptor, tudíž se předpokládá její vliv na receptorovu vazbu *in vivo*.<sup>(62)</sup>

ASP cirkuluje v krvi a bylo prokázáno, že zvyšuje syntézu TAG. Přes fosfodiesterázu inhibuje hormon-senzitivní lipázu a stimuluje diacylglycerolovou acyltransferázu. Tyto funkce naznačují, že ASP přispívá k ukládání energie ve formě tuků. Na myších modelech vedlo genetické vyřazení proteinu C3 k vývoji redukováného množství tukové tkáně, zhoršenému příjmu TAG a odolnosti vůči obezitě vyvolané vysokotučnou stravou. Byl prokázán vliv ASP na diferenciaci adipocytů *in vitro*. Přesný podíl ASP na regulaci glukozové homeostázy není znám. ASP deficientní myši vykazují snížení hladiny inzulínu nalačno a lepší toleranci glukózy, což by naznačovalo, že ASP snižuje citlivost k inzulínu. Tento účinek je možná zprostředkován TAG, protože intracelulární akumulace lipidů v některých tkáních, včetně jater a svalů je spojena se sníženou inzulínovou sensitivitou. Hladiny TAG jsou ovlivňovány stimulací receptoru C5L2.<sup>(53), (54), (70)</sup>

ASP je také dalším důkazem o úzké spojitosti imunitního systému s tukovou tkání. Adipocyty vylučují více faktorů, které mají jak stimulační, tak aktivační účinky na imunitní systém. Tuková tkáň je také schopna sama tvořit chemokiny a cytokiny (v adipocytech, sousedních buňkách nebo v infiltrovaných makrofázích). ASP receptor C5L2, přítomný na adipocytech, preadipocytech, makrofázích a mnohých dalších myeloidních a non-myeloidních buňkách je také receptorem pro C5a v buňkách imunitního systému. Proto se jeví jako významné pojitko mezi imunitním systémem a tukovou tkání.<sup>(71)</sup>

### 2. 2. 7. 6. Vaspin/SerpinA12

Viscerální tuková tkáň je místem produkce vaspinu (**V**isceral **a**dipose-**s**pecific **s**erpin), inhibitoru serinových proteas. Inhibitory serinových proteas, tzv. serpiny (**s**erine **p**rotease **i**nhibitors), jsou rozsáhlou rodinou proteinů, do které patří například plasmatické proteiny antithrombin a antitrypsin. Velmi často bývají serpiny součástmi složitých proteolytických kaskád. Mohou jiné proteiny inhibovat, rozkládat nebo naopak aktivovat či pozměňovat jejich funkci.<sup>(54),(72)</sup>

Expresie a sérová koncentrace vaspinu klesá při DM2 a při snížení tělesné hmotnosti. Na normální hodnoty se opět dostane podáním inzulínu nebo léčiv zvyšujících citlivost k inzulínu. Při podání obézním myším došlo k úpravě glukózové tolerance, citlivosti k inzulínu a normalizaci glykemie. Vaspin ovlivňuje i expresi dalších faktorů důležitých v inzulínové rezistenci (TNF- $\alpha$ , leptin, rezistin a další). Vaspin zlepšuje některé poruchy provázející MS zvýšením citlivosti tkání k inzulínu. Předmětem mnohých studií je identifikace vaspinového substrátu, který se nejspíše podílí na roli vaspinu v regulaci IR.<sup>(53),(54)</sup>

## 2. 2. 8. Adipokiny potlačující působení inzulínu

### 2. 2. 8. 1. Rezistin

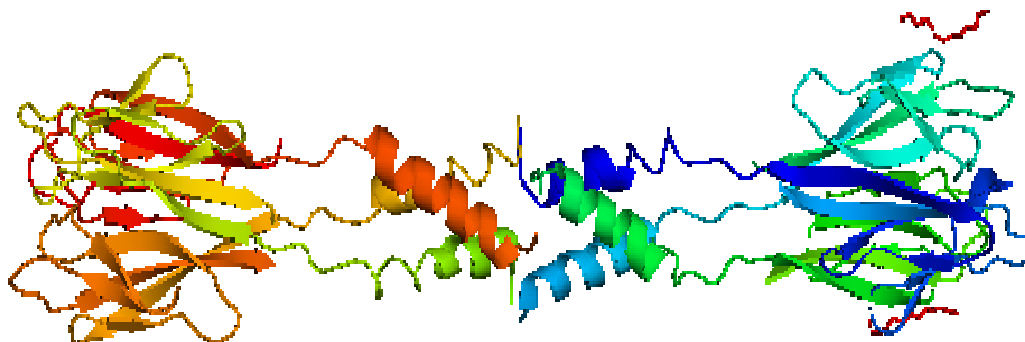
Tento adipocytokin byl identifikován v roce 2001 třemi nezávislými pracovišti jako předpokládané pojítko mezi obezitou a IR. Je členem větší skupiny rezistin-like molekul (RELM), bohatých na cystein. Objeven byl jako jeden z faktorů, které byly v tukové tkáni nejméně sníženy po podávání thiazolidinů. Počáteční studie ukazovaly zvýšenou hladinu rezistinu u obézních hlodavců, dále snížení hladiny rezistinu vlivem thiazolidinů a také redukcí hyperglykemie imunoneutralizací rezistinu. Předpokládalo se, že ovlivnění produkce rezistinu by mohlo být jedním ze způsobů ovlivnění IR v klinické praxi. Pozdější studie však význam rezistinu v regulaci inzulínové senzitivity poněkud zpochybnily. Především bylo prokázáno, že na rozdíl od hlodavců je rezistin u lidí produkován převážně mikrofégy mimo tukovou tkáň. Rezistin je tedy spíše cytokinem produkovaným imunokompetentními buňkami, než adipocytárním hormonem. Hlavním regulačním faktorem produkce rezistinu je aktivace zánětlivé reakce, která vede k významnému zvýšení hladin rezistinu.<sup>(49)</sup>

Sekretován je jako homodimer, ve kterém jsou podjednotky spojeny disulfidovými můstky. V krevním oběhu se vyskytuje formě hexamerní a trimerní. Trimerní forma je více bioaktivní a netvoří disulfidové vazby. Pravděpodobně se štěpení disulfidových vazeb využívá k aktivaci. U myši byl popsán vliv vyšší koncentrace rezistinu na snížení příjmu glukózy do buněk. K této změně došlo jiným mechanismem, než ovlivněním signálu inzulínového receptoru, pravděpodobně snížením aktivity glukózových transportérů. Dále bylo prokázáno, že rezistin indukuje expresi faktorů, které inhibují signální dráhu inzulínu. Na myších modelech byla také ukázána pozitivní korelace mezi rostoucím množstvím rezistinu a vyššími hladinami inzulínu, glukózy a lipidů a rozvíjející se obezitou. Vyskytují se ale i práce, které tyto korelace nepotvrzují nebo dokonce vyvracejí. Zvýšená exprese rezistinu je výsledkem diferenciací adipocytů. Vyšší počet adipocytů u hlodavců lokálně způsobí vyšší produkci rezistinu, který inhibuje inzulínovou signalizaci a příjem glukózy a tím brání i diferenciaci dalších adipocytů. Tímto způsobem je zajištěna zpětná kontrola adipogeneze. U lidí byla opět zjištěna pozitivní korelace mezi obezitou a vyšší hladinou krevního rezistinu. Během hubnutí navíc došlo k významnému snížení koncentrace rezistinu. Výsledky studií na lidech se však s výsledky studií na hlodavcích rozcházejí a proto je vliv rezistinu na lidskou obezitu stále nejistý. Stejně tak nebyl u lidí prokázán vliv rezistinu na metabolismus glukózy, působení inzulínu nebo DM. Pravděpodobně bude

v nejbližších letech působení lidského rezistinu předmětem intenzivního vědeckého zkoumání.

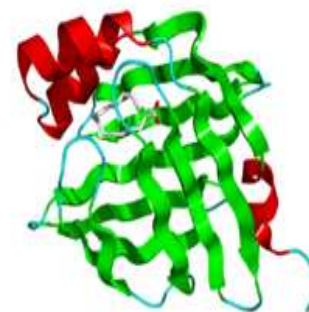
V několika studiích na lidech byl popsán vliv zánětlivých cytokinů na hladinu rezistinu, která významně korelovala např. s IL-6 a C-reaktivním proteinem. Dále bylo prokázáno, že TNF- $\alpha$  a IL-6 silně stimulují expresi rezistinu. Je známo, že při obezitě dochází ke zvýšení hladiny prozánětlivých cytokinů, je pravděpodobné, že rezistin může působit jako signální molekula, iniciující imunitní odpověď a produkci prozánětlivých cytokinů, např. C-reaktivní protein (CRP), solubilní TNF2 receptor, IL-6, lipoprotein asociovaný s fosfolipázou A2. Zvýšení hladin rezistinu se objevuje u sepsí, septického šoku, ICHS, rezistin může být asociován s revmatoidní artritidou.<sup>(43),(53)</sup>

Obr.18: Rezistin se skládá ze 114 aminokyselin, na obrázku je viditelná homodimerní struktura<sup>(73)</sup>



#### 2. 2. 8. 2. Protein vázající mastné kyseliny

Protein vázající mastné kyseliny (Adipocyte fatty acid binding protein, A-FABP) náleží do superrodiny intracelulárních proteinů vázající hydrofobní ligandy, jako jsou volné mastné kyseliny (VMA), žlučové soli a retinoidy. Mají podobnou velikost kolem 15 kDa. Terciární struktura, připomíná zakroucený válec s vnitřním hydrofobním jádrem, z jedné strany je uzavřen alfa-helixem. Ligandy jsou vázány do vnitřní, vodou naplněné dutiny.<sup>(74),(75)</sup>



Obr. 19: struktura A-FABP<sup>(78)</sup>

Tyto proteiny jsou exprimovány mnohými tkáněmi a z odtud plyne také jejich písmenné označení. Vedle adipocytárního proteinu A-FABP známe izoformu L (liver), I (intestinal), H (muscle and heart), E (epidermal), II (ileal), B (brain), M (myelin) a T (testis).<sup>(75)</sup> Zatím je známo kolem 15 členů rodiny. Velká rozmanitost substrátů vyžaduje rozmanitost proteinů, které je solubilizují a transportují v různých nitrobuněčných prostředích. Ačkoliv jsou tyto proteiny v cytosololu hojně vyjádřeny nejsou zatím všechny fyziologické funkce těchto proteinů rozkryty. Adipocyty syntetizují a ukládají metabolickou energii ve formě TAG v reakci na příjem živin. Na odčerpávání živin z organismu adipocyty reagují lipolýzou. Činnost adipocytů je řízena hormonálně. Inzulin podporuje internalizaci a esterifikaci mastných kyselin, skladování TAG, zatímco katecholaminy

a glukagon podporují hydrolýzu a odtok intracelulárních lipidů, binding proteins jsou určeny právě k usnadnění intracelulárního nakládání s těmito lipidy, i když přesný mechanismus výměny lipidů je většinou neobjasněn. <sup>(74)</sup>

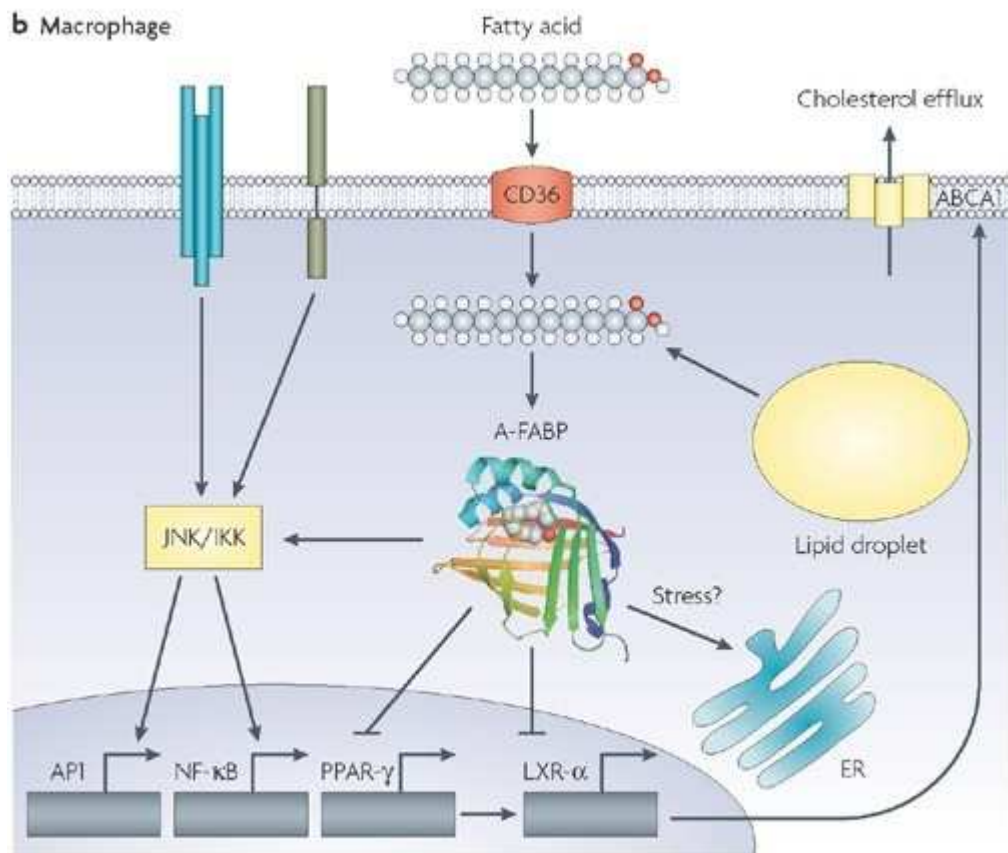
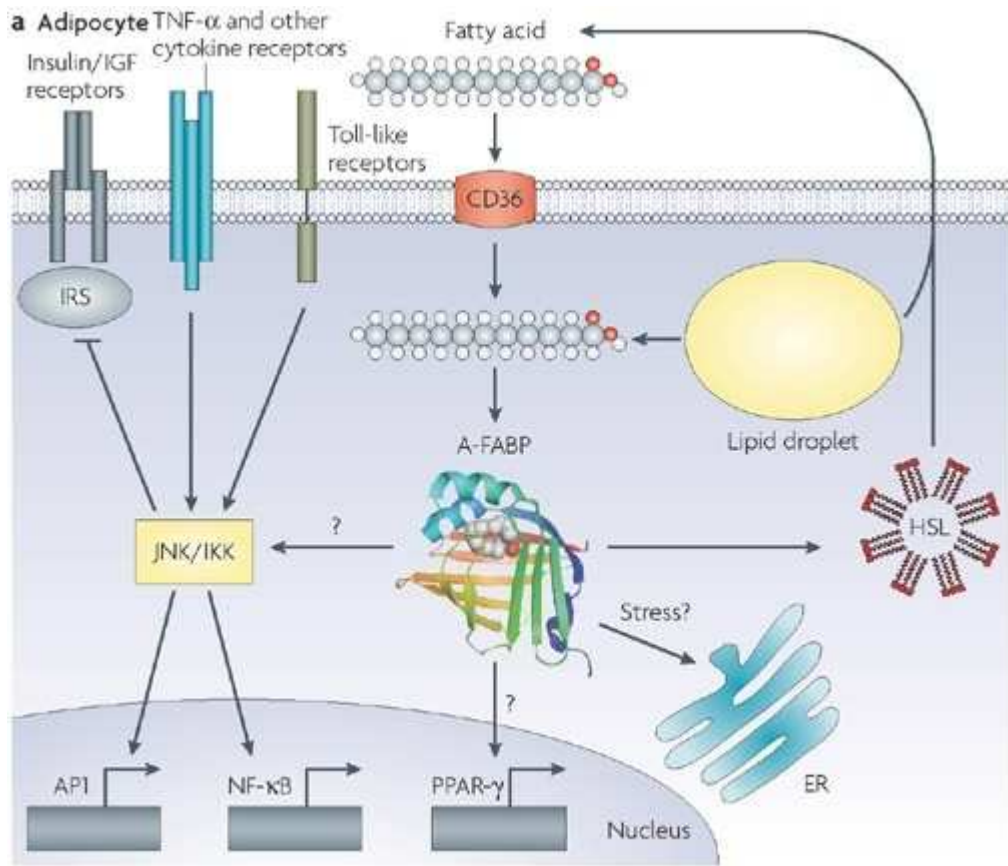
A-FABP a je ve velké míře sekretován tukovou tkání. Ve zralých adipocytech tvoří až 6% všech produkovaných proteinů. A přestože je A-FABP považován za čistě cytosolický protein, nedávno byla jeho přítomnost prokázána i v krevním řečišti. Jako u ostatních proteinů tukové tkáně je u něj prokázána spojitost s inzulínovou senzitivitou, lipidovým a glukózovým metabolismem. Myši s deficientním A-FABP (-/-) jsou chráněny před rozvojem hyperglykemie, hyperinzulinemie a IR u obezity. Adipocyty těchto myší vykazují výrazně nižší účinnost lipolýzy *in vivo* a *in vitro* a produkují 2 - až 3-násobně nižší množství VMA, což naznačuje, že A-FABP zprostředkovává eflux mastných kyselin v normální fyziologii. Dále bylo u těchto A-FABP deficientních myší zjištěno potlačení akutní sekrece inzulínu při  $\beta$ -adrenergní stimulaci. <sup>(75)</sup>

A-FABP je přítomný i v makrofázích, které jsou adipocytům biologicky a funkčně podobné. Tento protein má významnou roli v rozvoji aterosklerózy. Exprese A-FABP v makrofázích může být vyvolána oxidovanými LDL a stimulací Toll-like receptorů, potlačena může být statiny. V těchto buňkách A-FABP moduluje tvorbu zánětlivých cytokinů a akumulaci esterů cholesterolu. U myší s deficiencí apo E poskytuje ablace A-FABP genu pozoruhodnou ochranu proti ateroskleróze, která je pro tento kmen myší typická. Studie na zvířatech ukazují, že A-FABP, prostřednictvím integrace metabolických a zánětlivých cest, poskytuje klíčové spojení mezi různými složkami metabolického syndromu. Nicméně klinický význam těchto nálezů je třeba teprve potvrdit. <sup>(74),(75)</sup>

Obr.20: Schéma buněčných funkcí A-FABP v adipocytech a makrofázích

- a) Tuková buňka:  
Kromě regulace přísunu VMA má A-FABP další možné funkce, jako je ovlivnění katalytické aktivity hormon-senzitivní lipázy (HSL), interakce s několika signálními kaskádami, které kontrolují zánětlivé reakce (potenciálně přes JNK/inhibitor kapa kinázy [IKK]) a zprostředkování působení inzulínu v tukových buňkách.
- b) Makrofág:  
A-FABP reguluje zánětlivé reakce přes IKK-nukleární faktor-kappaB (NF-kappaB) dráhy a zmírňuje eflux cholesterolu prostřednictvím inhibice peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gama), jáaterního X receptoru alfa (LXR-alfa)
- c) Makrofág i adipocyt:  
A-FABP má rozhodující roli při buněčné odpovědi na lipidy, a to zejména v endoplazmatickém retikulu (ER). <sup>(77)</sup>





### 2. 2. 8. 3. Protein vázající retinol 4

Retinol binding protein 4 (RBP4) náleží do větší rodiny RBP a jako jediný z nich se nachází v plazmě. Transportuje aktivní metabolity vitamínu A-retinoidy, což jsou látky s mnoha významnými funkcemi (např. podíl na embryogenezi). RBP proteiny solubilizují a navazují na sebe malé hydrofobní molekuly retinoidů s velkou afinitou. Tradičně se předpokládalo, že jejich jedinou funkcí je transport retinoidů v hydrofilním prostředí, nicméně v poslední době se stále více potvrzuje, že mají i mnoho jiných fyziologických funkcí.<sup>(58),(79)</sup>

U RBP4 byla kromě transportní funkce prokázána i spojitost s DM2 a inzulinovou rezistencí. Zvýšená exprese nebo podání rekombinantního RBP4 syntetického analoga vyvolává inzulinovou rezistenci, pokles hladin zvyšuje citlivost k inzulinu. Po podání antidiabetik se koncentrace RBP4 normalizuje. U myši s knockoutovaným GLUT4 receptorem (tukové GLUT4 -/-) s projevy DM a IR jsou hladiny RBP4 prokazatelně zvýšeny. Stejně tak po injekci rekombinantního RBP4 dochází k IR. Naopak delece genu pro RBP4 (Rbp4) zvyšuje inzulinovou senzitivitu. Fenretinid, syntetický retinoid zvyšuje vylučování RBP4, normalizuje hladiny RBP4 a zlepšuje inzulinovou rezistenci a glukózovou intoleranci u myši s obezitou po hypertučně stravě. Tyto výsledky naznačují, že by snížení RBP4 mohlo být novou strategií pro léčbu diabetu 2. typu.

K hlavní produkci RBP4 dochází v játrech, ale byla popsána i syntéza adipocyty.<sup>(58),(80)</sup>

### 2. 2. 8. 4. Další nové proteiny tukové tkáně

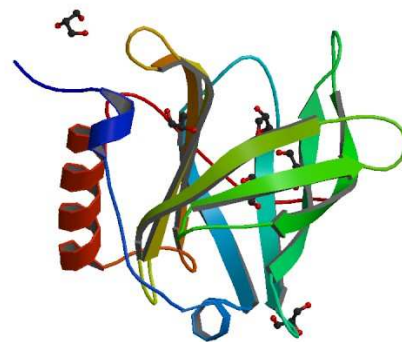
**Adiponutrin** byl popsán v bílé tukové tkáni, jeho funkce zůstávají nejasné, s předpokládaným účinkem na IR. Je zkoumána jeho spojitost s nealkoholickými onemocněními jater.<sup>(82)</sup>

**Hepcidin** byl poprvé popsán jako močový antimikrobiální peptid. Jeho hladiny se zvyšují s obezitou a korelují se hladinami CRP a IL-6. Hepcidin reguluje homeostázu železa tím, že zabraňuje uvolňování železa z makrofágů, vstřebávání železa do enterocytů a transport železa přes placentu.<sup>(83)</sup>

**Angiopoetin-like peptid-4** indukuje PPAR-a v játrech a PPAR-c v tukové tkáni. Poprvé byl identifikován jako místo zásahu antidiabetik ze skupiny thiazolidionů. Jeho hladiny korelují s hladinami lipoproteinů. Jeho injekční aplikace zvýšila hladiny TAG, což ukazuje na jeho místo v signální dráze, která reguluje metabolismus lipidů a jejich skladování.<sup>(83),(84)</sup>

**Apelin** je produkován adipocyty, cévními stromálními buňkami, a srdcem. Jeho hladiny se zvyšují s rostoucí hladinou inzulinu a také s obezitou. Hladiny srdečního apelinu jsou sníženy angiotenzinem II a zvyšovány blokátoty AT1. Apelin má pozitivní hemodynamické účinky.<sup>(83)</sup>

Jak již bylo zmíněno v úvodu, tuková tkáň produkuje obrovské množství různých proteinů, z nichž většina zůstává neprozkoumána. Z těch nejnověji objevených je to například Agouti protein, chemerin/Tig-2, serpin A8/angiotensinogen, serpin E1/PAI-1 a mnohé další.<sup>(85)</sup>



Obr.21: Struktura RBP-4, s navázanými molekulami retinolu<sup>(81)</sup>

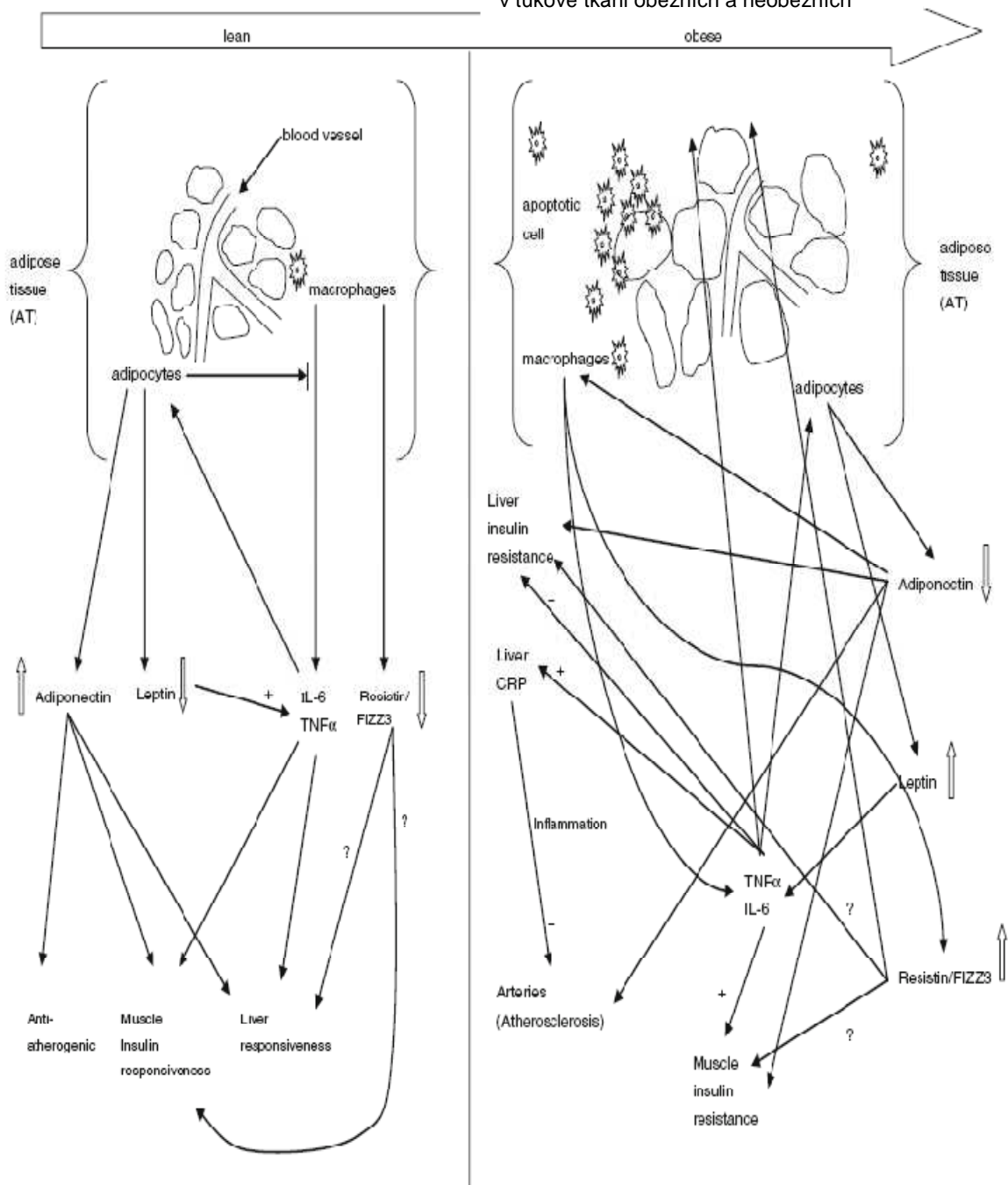


## 2. 2. 9. Rozdíly v produkci proteinů v tukové tkáni obézních a neobézních

Na závěr kapitoly jsou v přehledném schématu (obr.22) shrnuty nejvýraznější rozdíly v produkci proteinů v tukové tkáni obézních a neobézních.

Na levé straně obrázku jsou adipocyty štíhlého člověka. Mají pravidelnou velikost a zdravou úroveň počtu makrofágů v tukové tkáni (AT). Na pravé straně jsou adipocyty obézního člověka. Buňky jsou rozšířené, mnohé prochází různými stadii apoptózy a viditelné je i velké množství makrofágů. U štíhlého jsou vysoké hladiny adiponektinu, nízké hladiny leptinu a rezistinu, játra a svalovina jsou schopny udržet zdravou homeostazu aterogenního působení lipidů. Oproti tomu u obézních jedinců jsou hladiny adiponektinu nízké, hladina rezistinu a visfatinu vysoká. Tento aterogenní stav dále prohlubují IR ve svalcích a játrech. <sup>(86)</sup>

Obr.22: . Rozdíly v produkci proteinů v tukové tkáni obézních a neobézních <sup>(86)</sup>



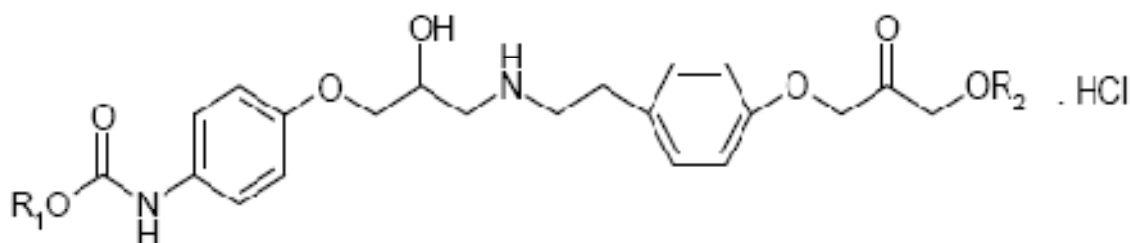
### 3. Experimentální část

### 3. 1. Testované látky

V současné době probíhá na Ústavu humánní farmakologie a toxikologie Farmaceutické fakulty VFU Brno testování látek typu aryloxyaminopropanolu na myších modelech jako potenciálních  $\beta_3$  – adrenergických agonistů. Tyto látky jsou syntetizovány na Ústavu chemických léčiv.

Po chemické stránce se jedná o hydrochloridy esterů, resp. kyselin 4-{2-[(2-hydroxy-3-(4-alkylkarbamoyl)fenoxypropyl)amino]ethyl}fenoxyoctových. V tabulce č.4 jsou tyto deriváty shrnuty, pro zjednodušení práce s výsledky, budou látky označeny jako C a D, v diskuzi a závěru pro větší názornost užiji jejich delšího označení C511 a D525 (propyl a butyl derivát).

Základní struktura aryloxyaminopropanolového typu:



Tab.4: Přehled potenciálních  $\beta_3$  – adrenergických agonistů: <sup>(87)</sup>

Pracovní název	Označení v experimentu	R1	R2	Sumární vzorec	Mr
A482		-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	482,96
B496		-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>24</sub> H <sub>33</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	496,99
C468		-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	468,93
A482A		-CH <sub>3</sub>	-H	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	454,91
B496A		-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	468,93
C511	Látka C	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>25</sub> H <sub>35</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	511,01
D525	Látka D	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>26</sub> H <sub>37</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	525,04

## **3. 2. Cíl práce**

Cílem našeho experimentu navazujícího na skupinu předchozích experimentů, bylo navození stavu podobnému MS u myši kmene C57B1/6N a zhodnocení účinku látek jim per os podaných (potenciální  $\beta$ 3 – adrenergní agonisté). Sledovány byly hlavní markery dyslipidemie (tj. celkový cholesterol, HDL, LDL a TAG), adiponectin a glukóza.

Látka C (C511) a látka D (D525) byly testovány v dávkách 10mg/kg/diety.

## **3. 3. Materiál a metodika**

### **3. 3. Materiál a metodika**

#### **3. 3. 1. Zvířata**

V experimentu byl použit soubor 40 myši kmene C57Bl/6J SPF, jenž je náchylný k dietou navozené obezitě, DM2 a AS. Myši byly samčího pohlaví, podobně staré (cca 5 týdnů) a měly podobnou hmotnost ( $19 \pm 1$ g). Experiment probíhal v laboratoři splňující zásady Správné laboratorní praxe a byl schválen a kontrolován odbornou komisí VFU Brno, v souladu s příslušnými ustanoveními zákona č. 77/2004 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů

#### **3. 3. 2. Instrumentální vybavení**

K odběru vzorků bylo použito klasické laboratorní vybavení: pitevní misky, nůžky, skalpely skleněné zkumavky, nálevky, mikrozkuavky, mikropipety a centrifuga. Hlavní klinické markery jsme stanovovali sety firmy BioVendor® s.r.o. spektrofotometricky na poloautomatickém analyzátoru Stardast. Stanovení adiponectinu jsme provedli spektrofotometricky metodou ELISA na readeru s použitím kitů firmy BioVendor® s.r.o.

#### **3. 3. 3. Ukončení pokusu**

Pokus byl ukončen po 8 týdnech. Zvířata byla po 12-ti hodinovém lačnění usmrcena dekapitací, s následným odběrem krve (exsanguinací ze srdce), která byla posléze předmětem biochemického vyšetření.

Odebraná plná krev byla pro biochemické vyšetření upravena centrifugací po dobu 10 minut při 3500 otáčkách, za konstantní laboratorní teploty. Získané sérum bylo odpipetováno, zmraženo a později použito k biochemickému vyšetření sérové hladiny cholesterolu, HDL, LDL, triacylglycerolů, glukózy a adiponectinu.

### 3. 3. 4. Vlastní experiment – preanalytická fáze

Soubor 40 výše zmíněných laboratorních myší byl po přibližně týdenní aklimatizaci rozdělen metodou randomizovaného výběru do 4 skupin po 10 zvířatech (viz tabulka č. 5)

Skupina číslo 1 (kontrolní/intaktní) byla krmena standardní dietou pro malá laboratorní zvířata (SPF M1). Zbylé skupiny dostávaly pro navození inzulinorezistence a obezity speciální hypertučnou/hypercukernou dietou (dále jen „tučná“, složení v tab.6) ad libitum.

Tabulka č. 5. Rozdělení jednotlivých skupin myší, jejich dieta a označení v experimentu

Skupina	Dieta	Označení
1, normální/ kontrolní	standardní	N
2, tučná / kontrolní	tučná	T
3	tučná + 10 mg látky C/1 kg diety	C
4	tučná + 10 mg látky D/1 kg diety	D

Tabulka č. 6. Složení krmné směsi – hypertučná/hypercukerná dieta.<sup>(96)</sup>

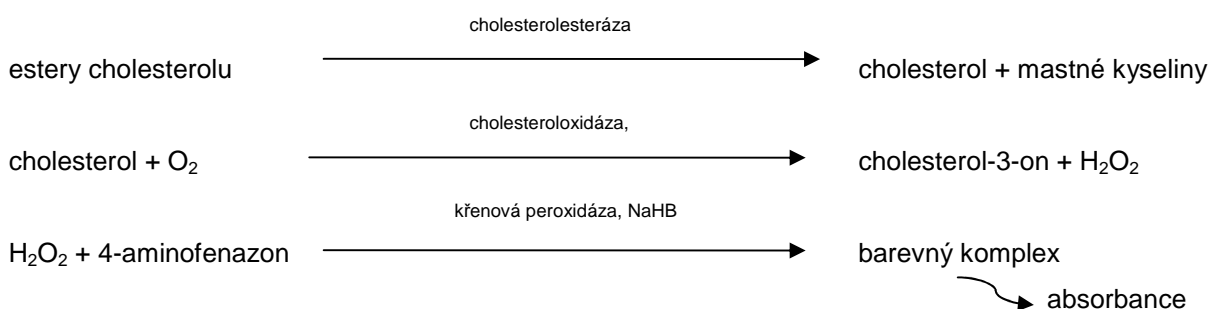
Látka	Procentuální zastoupení
Sacharóza	60
kompletní krmná směs MYPO	35
sójový extrudovaný škrob z GM bobů, částečně loupáný	2
Cholesterol	1,5
Dikalciumfosfát	1
premix doplňkových látek	0,5
vit. A	25000 UI/kg
vit. D <sub>3</sub>	25000 UI/kg
vit. E	90 UI/kg
měď ve formě CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	15 mg/kg

### 3. 3. 5. Analytická fáze; biochemická stanovení

Všechna stanovení byla provedena na Ústavu humánní farmakologie a toxikologie na VFU.

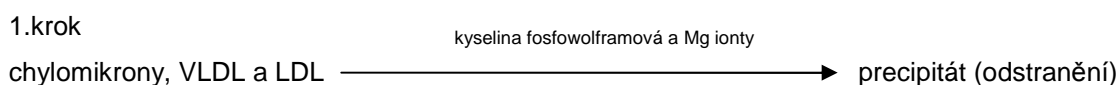
#### 3. 3. 4. 1. Stanovení koncentrace celkového cholesterolu v séru

Použit byl enzymatický kolorimetrický test. Nejdříve se estery cholesterolu v nehemolytickém séru enzymem cholesterolesterázou hydrolyzovaly na cholesterol a mastné kyseliny. Další přítomný enzym cholesteroxidáza za katalýzy  $O_2$  vytváří cholesterol-3-on a  $H_2O_2$ . 4 – aminofenazon pak s  $H_2O_2$  v přítomnosti hydroxybenzoátu sodného (NaHB) a za katalýzy křenovou peroxidázou (HRP) tvoří barevný komplex (s absorpčním maximem při 500 nm), jehož intenzita zabarvení je úměrná množství celkového cholesterolu v séru.



#### 3. 3. 4. 2. Stanovení koncentrace HDL cholesterolu v séru

HDL se stanovuje homogenním způsobem eliminační metodou. Nejdříve se ze vzorku séra odstraní chylomikrony, VLDL a LDL, tak že se oxidují (cholesterolesteráza, cholesteroxidáza) na cholesterol a  $H_2O_2$ , který kataláza převede na vodu. Zbývající HDL je podroben po sérii enzymatických reakcí (cholesterolesteráza, cholesteroxidáza, peroxidáza) v přítomnosti povrchově aktivních látek a je spektrofotometricky stanoven jako barevná seskupení (tzv. quinone pigment) při vlnové délce 600 nm.



2.krok

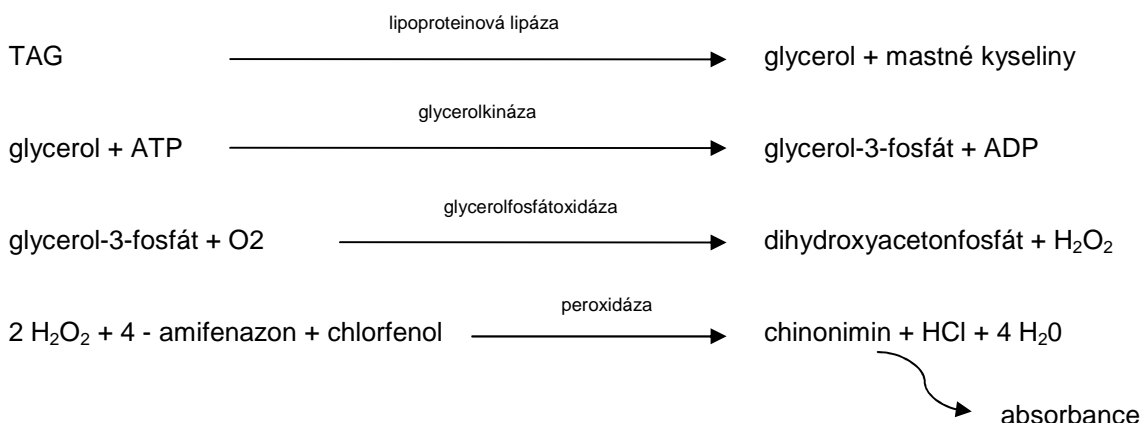
HDL v supernatantu stanoven stejným principem jako celkový cholesterol

#### 3. 3. 4. 3. Stanovení sérové koncentrace LDL cholesterolu v séru

Princip stanovení LDL je stejný jako stanovení HDL, postup se liší v eliminační metodě, kdy se ze vzorku za specifických podmínek odstraňují chylomikrony, VLDL a HDL.

### 3. 3. 4. 4. Stanovení sérové koncentrace TAG

Pro stanovení TAG byl použit enzymatický kolorimetrický test. Principem je reakce glycerolu (vzniklého rozštěpením TAG lipoproteinovou lipázou) s ATP za katalýzy glycerolkinázou a hořečnatými ionty za vzniku glycerol-3-fosfátu a ADP. Glycerol-3-fosfát je glycerolfosfátoxidázou oxidován na dihydroxyacetonfosfát a  $H_2O_2$ . Z  $H_2O_2$  vzniká barevný komplex, jenž po reakci s chlorfenolem a 4-aminphenazonem a umožňuje spektrofotometrické vyhodnocení.

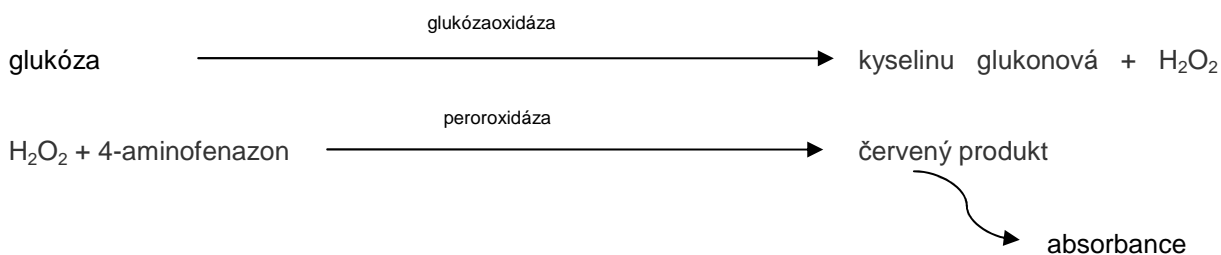


### 3. 3. 2. 5. Stanovení koncentrace adiponectinu v séru

Adiponectin jsme stanovili imunochemicky metodou ELISA na ELISA readeru. Použity byly mikrotitrační destičky (BioVendor Mouse Adiponectin) s monoklonálními protilátkami proti myššímu adiponectinu. Po 60-ti minutové inkubaci a oplachu se přidávají polyklonální protilátky proti myššímu adiponectinu, a křenová peroxidáza (HRP) a inkubují se 60 minut spolu s adiponectinem, který je navázán v jamkách mikrotitrační destičky. Po dalším oplachu navázaná HRP se konjuguje s roztokem substrátu (TMB). Následně se měří absorbance výsledného žlutého produktu spektrofotometricky při 450 nm. ELISA je přímou imunochemickou metodou a proto je absorbance přímo úměrná koncentraci myššího adiponectinu.

### 3. 3. 2. 6. Stanovení koncentrace glukózy v séru

Glukóza se stanovuje oxidací na kyselinu glukonovou za vzniku  $H_2O_2$ , katalyzované enzymem glukózaoxidázou. Vznikající  $H_2O_2$  reaguje s 4-aminofenazon v přítomnosti fenolu, za katalýzy peroxidázou. Intenzita červeného zbarvení produktu je přímo úměrná koncentraci glukózy v původním vzorku a může být stanovena fotometricky při vlnové délce kolem 500 nm.



### **3. 3. 6. Statistické vyhodnocení experimentu**

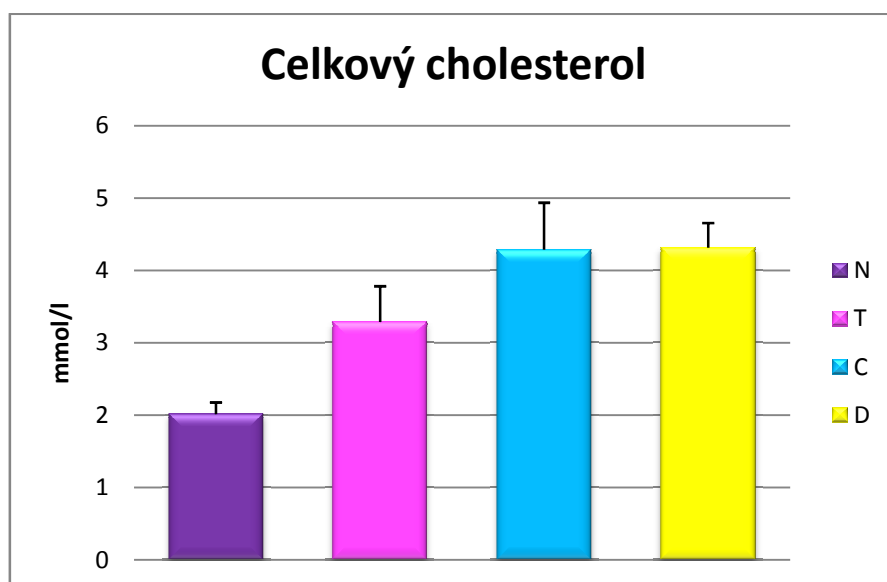
Statistické vyhodnocení experimentu bylo provedeno v programu Microsoft Office Excel. Odlehlé hodnoty byly nalezeny na základě F-testu, a vyřezeny Dean-Dixonovým testem. Pro porovnání rozdílů mezi jednotlivými skupinami byl použit nepárový Studentův t-test. Získaná data reprezentují průměry  $\pm$  SD (směrodatná odchylka), data v grafech pak představují průměry  $\pm$  SEM (směrodatná chyba průměru),  $p \leq 0,05$  byla užitá jako kritérium statistické významnosti (viz dále) je označena +,  $p \leq 0,01$  je ++ a  $p \leq 0,001$  je +++.



### 3. 4. Výsledky

#### 3. 4. 1. Celkový cholesterol

Graf 1. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SEM) koncentrace celkového cholesterolu v krevním séru



Výsledek pokusu prokázal statisticky významný vzestup sérových koncentrací cholesterolu u skupiny T oproti skupině N na hladině statistické významnosti  $p \leq 0,01$ .

U látky C došlo k signifikantnímu vzestupu hladin celkového cholesterolu oproti skupině T, statisticky velmi významně ( $p \leq 0,01$ ). V porovnání se skupinou N byl vzestup hladin cholesterolu více jak dvojnásobný a statisticky vysoce významný ( $p \leq 0,001$ ).

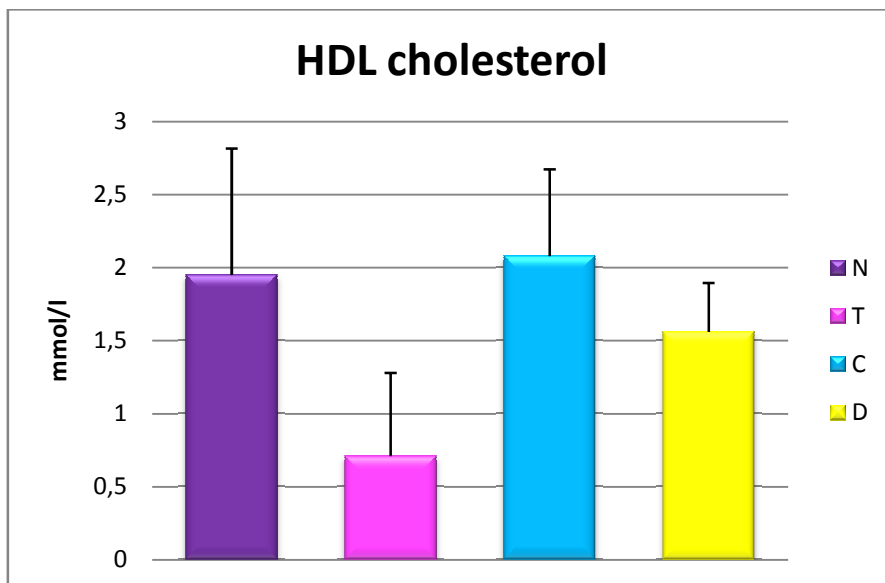
Látka D statisticky vysoce významně zvyšovala hladiny celkového cholesterolu oproti skupině T ( $p \leq 0,001$ ). (Viz graf 1. a tab. 7.)

Tab. 7. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SD) koncentrace celkového cholesterolu v krevním séru

	N	T	C	D
celkový CH [mmol/l]	2,02 $\pm$ 0,160	3,29 $\pm$ 0,495	4,29 $\pm$ 0,641	4,32 $\pm$ 0,339
T vs.:		++	++	+++
N vs.:		+++	+++	+++

### 3. 4. 2. HDL-cholesterol

Graf 2. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SEM) koncentrace HDL-cholesterolu v krevním séru



Výsledek pokusu prokázal signifikantní pokles sérové koncentrace HDL-cholesterolu u skupiny T oproti skupině N na hladině statistické významnosti  $p \leq 0,01$ .

Látka C signifikantně zvyšovala hladiny HDL v porovnání se skupinou T ( $p \leq 0,001$ ). Mezi hladinami HDL u skupiny C a sk. N nebyl statistický rozdíl.

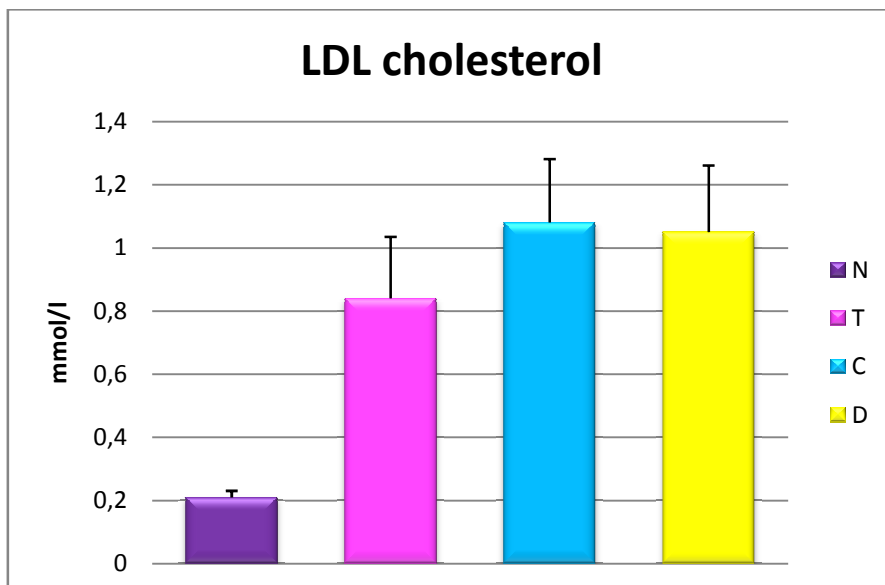
Látka D statisticky velmi významně zvyšovala hladiny HDL v porovnání se skupinou T. ( $p \leq 0,001$ ) Mezi hladinami HDL u skupiny D a skupinou N nebyl statistický rozdíl. (graf 2., tab. 8.).

Tab. 8. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SD) koncentrace HDL-cholesterolu v krevním séru

	<b>N</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>HDL [mmol/l]</b>	1,95 $\pm$ 0,865	0,71 $\pm$ 0,569	2,08 $\pm$ 0,593	1,56 $\pm$ 0,335
T vs.:		++	+++	+++
N vs.:		++	NS	NS

### 3. 4. 3. LDL-cholesterol

Graf 3. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SEM) koncentrace LDL-cholesterolu v krevním séru



Výsledek pokusu prokázal statisticky velmi významný vzestup sérové koncentrace LDL cholesterolu u skupiny T oproti skupině N na hladině statistické významnosti  $p \leq 0,001$ .

U látky C byl zaznamenán statisticky významný ( $p \leq 0,05$ ) vzestup hladin LDL cholesterolu oproti skupině T. V porovnání se skupinou N byl vzestup hladin LDL u skupiny C ještě markantnější a statisticky vysoce významný. ( $p \leq 0,001$ )

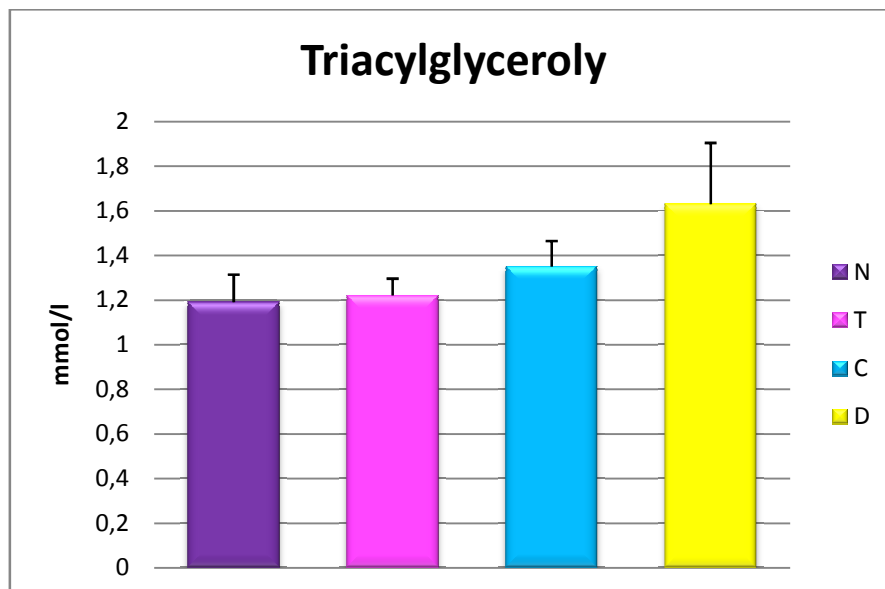
Látka D statisticky zvýšila hladiny LDL na statisticky významné hladině vůči skupině T ( $p \leq 0,05$ ). V porovnání se sk. N byl vzestup LDL statisticky velmi významný ( $p \leq 0,001$ ). (graf 3., tab. 9.)

Tab.9. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SD) koncentrace LDL-cholesterolu v krevním séru

	N	T	C	D
LDL [mmol/l]	0,21 ± 0,021	0,84 ± 0,195	1,08 ± 0,201	1,05 ± 0,211
T vs.:		+++	+	+
N vs.:		+++	+++	+++

### 3. 4. 4. Triacylglyceroly

Graf 4. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SEM) koncentrace TAG v krevním séru



Výsledek pokusu neprokázal statisticky významný rozdíl hladin triacylglycerolů mezi sk. N a T.

U látky C se objevil statisticky vysoce významný vzestup ( $p \leq 0,01$ ) sérových koncentrací TAG v porovnání se skupinou T.

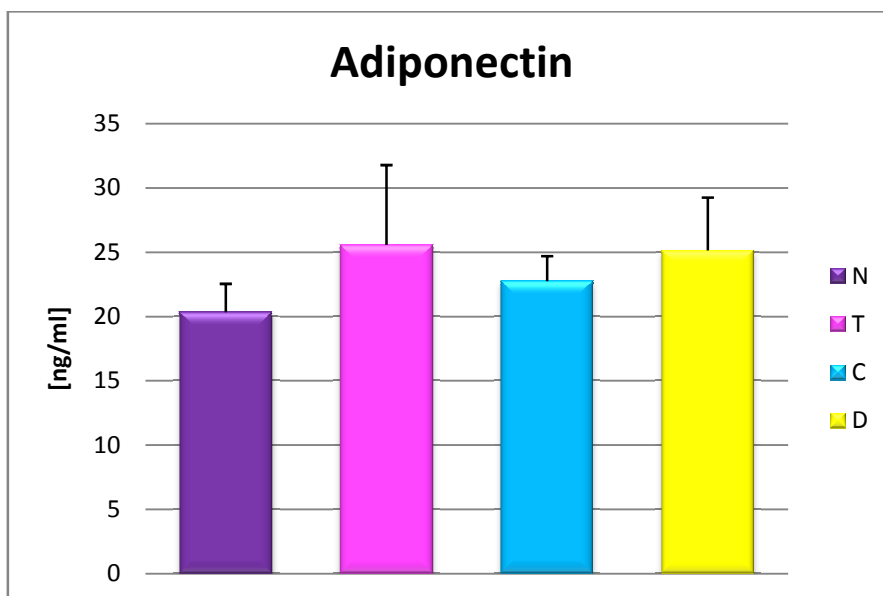
Látka D statisticky vysoce významně zvyšovala hladiny TAG v porovnání se sk.T. ( $p \leq 0,01$ ) (graf 4. a tab. 10.).

Tab.10. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SD) koncentrace TAG v krevním séru

	N	T	C	D
TAG [mmol/l]	1,19 $\pm$ 0,124	1,22 $\pm$ 0,076	1,35 $\pm$ 0,114	1,63 $\pm$ 0,274
T vs.:		NS	++	+++
N vs.:		NS	+	+++

### 3.4.5. Adiponectin

Graf 5. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SEM) koncentrace adiponectinu v krevním séru



Hladiny adiponectinu byly u skupiny T statisticky významně zvýšené oproti skupině N na hladině významnosti  $p \leq 0,05$ .

U skupiny C v porovnání se skupinou T nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v hladinách adiponectinu. V porovnání se sk.N látka C statisticky významně zvyšuje hladiny adiponectinu ( $p \leq 0,05$ ).

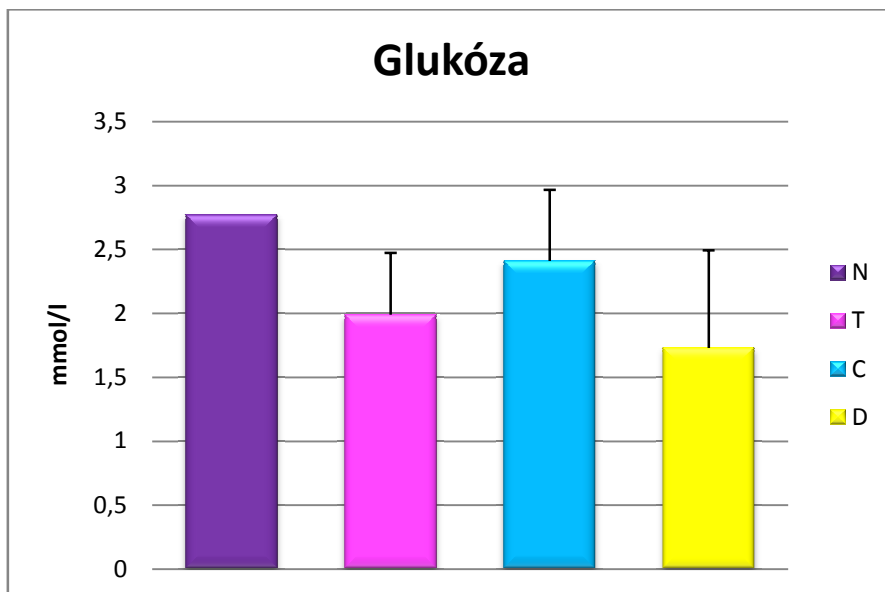
U skupiny D v porovnání se skupinou T nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v hladinách adiponectinu. U látky D byl prokázán statisticky významný rozdíl v porovnání se sk.N, kde došlo k st. vysoce významnému zvýšení hladin adiponectinu ( $p \leq 0,01$ ). (graf 5. a tab. 11.).

Tab. 11. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SD) koncentrace adiponectinu v krevním séru

	<b>N</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>adiponectin [ng/ml]</b>	20,33 $\pm$ 2,21	25,56 $\pm$ 6,21	22,76 $\pm$ 1,93	25,13 $\pm$ 4,12
T vs.:		+	NS	NS
N vs.:		+	+	++

### 3. 4. 6. Glukóza

Graf 6. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SEM) koncentrace glukózy v krevním séru



Výsledek pokusu prokázal signifikantní změnu sérové koncentrace glukózy u skupiny T oproti skupině N na hladině významnosti  $p \leq 0,01$ .

U látky C se na hladině významnosti ( $p \leq 0,05$ ) objevil vzestup glykemie ve srovnání se sk.T. Rozdíl mezi skupinou N a C je nesignifikantní.

U skupiny D v porovnání se skupinou T nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v hladinách glukózy. U skupiny D došlo k statisticky velmi významnému poklesu hladin glykemie ve srovnání se skupinou N ( $p \leq 0,01$ ). (graf 6. a tab. 12.).

Tab. 12. Průměrné hodnoty ( $\pm$  SD) koncentrace glukózy v krevním séru

	<b>N</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>glukóza [mmol/l]</b>	2,77 $\pm$ 0,682	1,84 $\pm$ 0,483	2,41 $\pm$ 0,556	1,73 $\pm$ 0,763
T vs.:		++	+	NS
N vs.:		NS	NS	++

## 4. Diskuze

### 4. 1. Syntéza a testování látek s potenciálním $\beta$ 3-adrenergním působením na Ústavu humánní farmakologie a toxikologie VFU

Na Ústavu humánní farmakologie a toxikologie VFU Brno již několik let probíhá výzkum látek s potenciálním  $\beta$ 3-adrenergním působením ze skupiny na zvířatech.

Nejčastěji používanými kmeny zvířat byly inbrední myši C57B1/6J, silně náchylné k hypertučnou/hypercukernou dietnou navozené obezitě a lipidové dysbalanci a dále na laboratorních potkanech kmene Wistar.

Při prvním testování těchto látek na zvířatech (označen jako experiment č.1) se pokus podobal našemu. Použit byl kmen C57B1/6J, u něhož se navodil stav podobný metabolickému syndromu specifickou dietou a testovány byly látky A482, B496 a C468. Nejlepších výsledků dosáhla látka A482, která statisticky významně snižovala hladiny celkového cholesterolu a poměr celkového/HDL-cholesterolu. Signifikantně se zvýšila hladina adiponectinu, hladiny glukózy a triacylglycerolů sice poklesly, ale statisticky nevýznamně. Látka B496 se projevila podobně, ale hladiny adiponectinu neovlivnila. Látka C468 nevyvolala žádné signifikantní změny.<sup>(90)</sup>

Dalším důležitým experimentem (experiment č.2) s aryloxyaminopropanolovými deriváty, bylo hodnocení jejich lipolytické aktivity na izolované epidydimální tkáni potkanů kmene Wistar. Hodnotily se látky A482 a B496 (ve formě volných karboxylových kyselin) a jejich estery (A482A a B496A). Jejich aktivita byla porovnávána s izoprenalinem a komerčním selektivním  $\beta$ 3-agonistou BRL 37344. Současně byl sledován vliv osmítýdenního podávání těchto látek inbredním myším C57B1/6J (vysoce energetická dieta) na sérové koncentrace cholesterolu, triacylglyceridů, glukózy, adiponectinu, rezistinu a hmotnostní přírůstek. Látka vykazovala A482 silnou lipolytickou aktivitu, podobnou působení selektivního  $\beta$ 3-adrenergního agonisty BRL37344 a ukázala se účinným  $\beta$ 3-adrenergním agonistou. Látka B496 (ester i volná kyselina) se projevila pouze jako parciální  $\beta$ 3-adrenergní agonista.<sup>(91)</sup>

Látka A482 se projevila jako nadějný  $\beta$ 3-adrenergní agonista a proto byla podrobena dalšímu testování (experiment 3) ve čtyřech různých dávkách (tj. 5, 10, 15, 20 mg / 1 kg diety) s cílem určit závislost účinku této látky na dávce, resp. optimální terapeutickou dávku. Hodnocen byl ester i volná kyselina A482 a látka B496A na stejném kmenu myší (C57B1/6J) s dietně navozeným vzestupem celkového a LDL cholesterolu a poklesem HDL. Testované látky snižovaly hladiny celkového cholesterolu, nejvýrazněji látka B496A v dávce 10 a 15 mg/kg. V rozporu s dřívější studií byl vzestup hladin triacylglycerolů u skupin s léčivem, oproti skupině s normální stravou. Pro kontrolu toxicity byla hodnocena i AST, signifikantně se nezvýšila, což poukazuje na relativní bezpečnost těchto léčiv.<sup>(87),(92)</sup>

## 4. 2. Vlastní experiment

Náš experiment navazoval na předchozí práce s deriváty aryloxyaminopropanolu, hodnotili jsme terapeutický potenciál látky C511 (propylderivát) a D525 (butylderivát). Detailní popis experimentu je v kapitole 3.

Navodili jsme patofyziologický stav, simulující poruchy intermediárního metabolismu v rámci metabolického syndromu laboratorním myším C57B1/6J (hypertučná/hypercukerná dieta po dobu 8 týdnů). Navozené změny biochemických markerů, v porovnání se skupinou krmnou normální stravou (skupina N) a změny navozené přidáním látek C511 a D525 jsou přehledně seřazeny níže:

### 4. 2. 1. Celkový cholesterol, HDL a LDL cholesterol

Podáváním hypertučné stravy došlo, dle očekávání, u skupiny T k signifikantnímu zvýšení sérových hladin celkového cholesterolu ( $p \leq 0,01$ ) a LDL cholesterolu ( $p \leq 0,001$ ) a signifikantnímu poklesu sérových hladin HDL cholesterolu ( $p \leq 0,01$ ) vůči skupině N.

Hladiny celkového cholesterolu byly u obou hodnocených látek statisticky vysoce významně zvýšené ( $p \leq 0,01$ ), jak v porovnání s normálně krmnou skupinou N, tak v porovnání se skupinou T.

Hladiny HDL cholesterolu po podávání hypertučné stravy skupině T ve srovnání se skupinou N významně klesají ( $p \leq 0,05$ ). Látka C511 ve srovnání se skupinou T zvyšuje koncentrace HDL na hladině významnosti  $p \leq 0,01$ . Rozdíl v hladinách HDL u skupiny N a skupiny s látkou C511 je nesignifikantní, látka C511 tedy projevila schopnost upravovat hladiny HDL cholesterolu na úroveň zdravých jedinců. Látka D525 hladinu HDL upravuje, v porovnání s látkou C511 je vzestup sérových koncentrací HDL menší.

Obě testované látky statisticky významně zvyšovaly hladiny LDL cholesterolu ( $p \leq 0,05$ ).

Výsledky tohoto experimentu ukazují, že látky C511 i D525 mají schopnost ovlivňovat  $\beta_3$  receptory, pozitivním efektem, plynoucím z našeho vyhodnocení, je schopnost látky C511 i D525 zvyšovat hladiny HDL.

Částice HDL vychytávají z krevního řečiště přebytečný cholesterol, vysoké hladiny HDL působí protektivně proti rozvoji aterosklerózy. U metabolického syndromu je právě pokles hladin HDL typickým nálezem, což zhoršuje prognózu nemocného. V praxi je HDL jedním z parametrů pro stanovení tzv. aterogenního indexu plazmy, jednoho ze snadno dostupných, levných a poměrně přesných ukazatelů míry kardiovaskulárního rizika zejména u nemocných, jejichž hlavní lipoproteinovou odchylkou není dramatická elevace LDL (časté u obezity a metabolického syndromu). Stanovuje se jako logaritmus poměru (TAG/HDL) a charakterizuje kvalitativní zastoupení jednotlivých tříd lipoproteinů.<sup>(93)</sup>

### 4. 2. 2. Triacylglyceroly

V souladu s dříve publikovanými daty<sup>(90),(91),(92)</sup> nebyly hladiny triacylglycerolů hypertučnou stravou u skupiny T statisticky významně ovlivněny (v porovnání se skupinou N). V dřívějších pokusech byly hladiny triacylglycerolů lehce sniženy, naše sérové koncentrace byly lehce vyšší, ale rozdíl se pohybuje v řádu setin mmol/l a nejsou statisticky významné.



U obou testovaných látek (a stejně jako u dříve testovaných aryloxyaminopropanolů) došlo ke statisticky významnému vzestupu hladiny triacylglycerolů v porovnání se skupinou T. Látka C511 koncentrace TAG v porovnání se skupinou T zvyšovala na hladině statistické významnosti  $p \leq 0,01$ , látka D na hladině významnosti  $p \leq 0,001$ .

#### 4. 2. 3. Adiponectin

Hladina adiponectinu je typická svou negativní korelací s obezitou (velmi nízké jsou u morbidní obezity), diabetem a inzulinorezistencí. U zdravých lidí a zejména sportovců bývají hladiny adiponectinu poměrně vysoké.<sup>(49)</sup>

Na rozdíl od experimentů 2 a 3, kde hypertučná strava navodila u sk.T pouze statisticky nevýznamný pokles hladin adiponectinu, v našem pokusu došlo k významnému zvýšení koncentrace adiponectinu ( $p \leq 0,05$ ). Není jisté proč je u skupiny T ve srovnání se sk.N hladina adiponectinu zvýšena, jedním z možných vysvětlení je, že se jedná o kompenzační mechanismus a že by při delším trvání pokusu hladiny adiponectinu poklesly.

Látka C511 a D525 na koncentrace adiponectinu v porovnání se skupinou T statisticky významný efekt neměly. V porovnání se zdravou skupinou N bylo zvýšení hladin adiponectinu významné. Látka C511 zvyšovala hladiny adiponectinu ve srovnání se skupinou N na hladině významnosti  $p \leq 0,05$ . Látka D525 zvyšovala hladiny adiponectinu ve srovnání se skupinou N na hladině významnosti  $p \leq 0,01$ .

Ve starších studiích (experiment 3) se působení testovaných látek na hladiny adiponectinu výrazněji projevilo až při vyšších dávkách (15mg, 20mg), proto je možné, že by zvýšení terapeutických dávek mohlo vést k nápadnějšimu zvýšení koncentrace adiponectinu ve srovnání se skupinou N i T.

#### 4. 2. 4. Glukóza

U skupiny T byl zaznamenán statisticky významný pokles koncentrace glukózy oproti skupině N ( $p \leq 0,01$ ), to je v mírném rozporu s dříve publikovanými studii (experiment 2), kde se po dlouhodobém podávání hypertučné/hypercukerné stravy navodila statisticky vysoce významná hyperglykemie. Možnou příčinou snížené glykemie u sk. T je zvýšená hladina adiponectinu.

U látky C511 došlo k statisticky významnému vzestupu sérové hladiny glukózy ve srovnání se skupinou T ( $p \leq 0,05$ ). Oproti skupině N byl vzestup hladin glukózy u C511 statisticky nevýznamný.

U látky D525 došlo k mírnému, statisticky nevýznamnému poklesu glykemie ve srovnání se skupinou T. Ve srovnání D525 se sk. N došlo k statisticky poklesu hladin glukózy ( $p \leq 0,05$ ).

Nápadně se projevila také známá negativní korelace mezi hladinou adiponectinu a glykemií. U skupiny T hladina adiponectinu stoupala a hladina glukózy klesala (vztaženo na skupinu N), u látky C511 i D525 se projevil stejný trend (vztaženo na sk.N).

V krátkosti bych ráda připomněla známé spojitosti mezi hladinami adiponectinu a mnohými biochemickými markery. Adiponectin působí přes 5'-AMP-aktivovanou proteinkinázu, jež se aktivuje při poklesu buněčného ATP a mimo jiné v játrech snižuje endogenní produkci glukózy a snižuje množství jaterních TAG. Adiponectin také stimuluje vychytávání glukózy v játrech. Pokles hladin adiponectinu tedy vede ke zvýšení endogenní produkce glukózy a inzulinové rezistenci.<sup>(54)</sup>

## 5. Závěr

Tato diplomová práce shrnovala nynější poznatky o metabolickém syndromu, tukové tkáni a proteinech, které jsou zde produkovány.

V experimentální části jsme speciální hypertučnou a hypercukernou úspěšně navodili stav podobný metabolickému syndromu u myši kmene C57B1/6N, a to především hyperlipidemií. Změny biochemických markerů vyvolaných dietou jsme se pokusili upravit podáním nově syntetizovaných a dosud na ÚHFT VFU netestovaných látek C511 a D525 (potenciální  $\beta$ 3-agonisté ze skupiny aryloxypropanolu).

Testované látky projevily pozitivní vliv na hladiny HDL cholesterolu, dokázaly zvýšit hladiny HDL při podávání hypertučné/hypercukerné stravy až na úroveň normálně krmených jedinců. Dalším pozitivem byl vliv na zvyšování sérových koncentrací adiponektinu v porovnání s normálně krmenou skupinou. Látka C511 nepůsobila negativně na hladinu glukózy. Látky C511 a D525 zvyšovaly hladiny celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a triacylglycerolů.

Výsledky naší práce naznačují, že látky C511 a D525 mají terapeutický potenciál u zvyšování hladin HDL bez negativního vlivu na hladiny glykemie. Jejich prokázaná schopnost ovlivňovat hladiny adiponektinu by vyžadovala další hodnocení ve vyšších dávkách.

## 6. Seznam použitých zkratek

- AdipoR1, AdipoR2 adiponectinový receptor 1 a 2
- A-FABP adipocyte fatty acid binding protein
- AgRP agouti-peptidu
- AMPK 5'-AMP-aktivované proteinová kináza
- apo B apolipoprotein B
- ARH arcuate nucleus
- AS ateroskleróza
- ASP acylation stimulating protein
- AST aspartátaminotransferáza
- ATP adenosintrifosfát
- AT1 angiotensinový receptor 1
- BKK blokátory kalciových kanálů
- BMI body mass index
- CRP C-reaktivní protein
- DLP dyslipidemie
- DM2 diabetes 2.typu
- ED endoteliální dysfunkce
- ER endoplazmatické retikulum
- GIP gastric inhibitory polypeptide
- GLP 1 glucagon like peptid
- HbA<sub>1c</sub> glykovaný hemoglobin
- HDL high-density lipoprotein
- HSL hormon senzitivní lipáza
- HT hypertenze
- HRP křenová peroxidáza
- LDL low-density lipoprotein
- IFG hraniční glykemie nalačno

- IGT poruchy glukozové tolerance
- IL-6 interleukin 6
- IR inzulinové rezistence
- KVO kardiovaskulárních onemocnění
- LepRb leptinový receptor 2
- LPL lipoproteinová lipáza
- MP metabolická paměť
- MS metabolický syndrom
- NAD nikotinamidadenindinukleotidfosfát dinukleotid
- NaHB hydroxybenzoát sodný
- NAMPT nicotinamid-fosforibosyltransferáza
- NASH non-alkoholická steatohepatitida
- NMD nikotinamid-mononukleotid
- NO oxid dusnatý
- NPY neuropeptidu Y
- OGTT orální glukózový toleranční test
- PAI-1 inhibitor 1 plazminogenového aktivátoru
- PBEF pre-B-cell colony-enhancing factor
- PGT porucha tolerance glukózy
- PI3K fosfatidylinositol-3-kináza
- POMC pro-opiomelanokortin
- PPAR peroxisome proliferator-activated receptors
- RBP4 retinol binding protein 4
- REE klidový energetický výdej
- SU sulfonylurea
- VLDL very low-density lipoprotein
- VMK volné mastné kyseliny
- TK tlak krve
- TNF tumor necrosis factor

## 7. Seznam použitých zdrojů

- (1) Rosolová, H.: Metabolický syndrom. *Remedia* 2006, 16:130-132.
- (2) Rybka, J.: Trnitá cesta metabolického syndromu prosadit se v praxi. *Vnitřní lékařství* 2010; 56(7): 727-735.
- (3) Reaven, G.: Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37(12):1595-1607.
- (4) Kaplan, N.: The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Archives of Internal Medicine* 1989;149(7):1514-1520.
- (5) Karen, I., Souček, M., Bláha, V., Pelikánová, T., Rosolová, H. a kol.: Metabolický syndrom - diagnostika a léčba. *Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře*. 2010.
- (6) Shulman, G.: Cellular mechanisms of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation* 2000; 106(2):171-176.
- (7) Alberti, K., Eckel, R., Grund, E., et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120:1640-1645.
- (8) Vasilios, G., Ganotakis, E., et al.: The prevalence of metabolic syndrome using the National Cholesterol Educational Program and International Diabetes Federation definitions. *Current Medical Research and Opinion* 2005; 21(8):1157-1160.
- (9) Cameron, A., Shaw, J., et al. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America* 2004; 33(2): 351-375.
- (10) Sucharda, P.: Metabolický syndrom: Nová choroba nebo módní nálepka? *Interní medicína* 2006; 2: 94-95.
- (11) Simmon, R., Alberti, M., Gale, E., et al.: The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO Expert Consultation. *Diabetologia* 2009; 53(4),600-605.

- (12) Barter, P., Ballantyne M.: Apo B versus cholesterol in estimating cardiovascular risk and guiding therapy: report of thirty-person/tencountry panel. *Journal of Internal Medicine* 2006; 259, 247-258.
- (13) Soška, V.: Laboratorní markery metabolického syndromu v praxi. *Vnitřní Lékařství* 2009; 55(7&8): 666-669.
- (14) Štulc, T.: Hypolipidemická léčba a metabolický syndrom. *Interní Medicína* 2006; 5: 223–226.
- (15) Tenenbaum, A., Fisman, E.: "If it ain't broke, don't fix it": a commentary on the positive-negative results of the ACCORD Lipid study. *Cardiovascular Diabetology* 2010; 9:24.
- (16) Bays, H., Roth, E., Eli, M.: The Effects of Fenofibric Acid Alone and With Statins on the Prevalence of Metabolic Syndrome and Its Diagnostic Components in Patients With Mixed Dyslipidemia. *Diabetes Care* 2010; 33(9), 2113-2116.
- (17) Štulc, T., Češka, R.: Léčba dyslipidemie u metabolického syndromu. *Vnitřní Lékařství* 2009; 55(7&8): 626-630.
- (18) APO B: What is it? Dostupné na internetu: <http://www.highcholesterol.me.uk/apob.html>
- (19) Obezita, novodobá epidemie: Dostupné na internetu: [http://www2.edukafarm.cz/clanek\\_tisk.php?id=464](http://www2.edukafarm.cz/clanek_tisk.php?id=464) (22. 1. 2011)
- (20) Samková, D., Kvapil, M.: Metabolický syndrom a obezita. Dostupné na internetu: <http://www.edukafarm.cz/clanek.php?id=480> (8. 2. 2011)
- (21) obrázek BMI, dostupný na internetu: <http://www.hubnuti-jak.cz/bmi/index.php> (22. 1. 2011)
- (22) Riccardi, G., Rivellese, A.: Dietary treatment of the metabolic syndrome — the optimal diet. *British Journal of Nutrition* 2000; 83(1):143–148.
- (23) Svačinová, H., Matoulek, M.: Fyzická aktivita v léčbě obezity. *Vnitřní lékařství* 2010; 56(10): 1069-1073.
- (24) Fábryová, T.: Minulosť, prítomnosť budúcnosť farmakoterapie obezity. *Vnitřní lékařství* 2010; 56(10): 1058-1064.

- (25) Togreson, J., Hauptman., et al.: XENical in the Prevention of Diabetes in Obese Subjects (XENDOS) Study. *Diabetes Care* 2004; 27(1): 155-161.
- (26) Philip, W., James, T.: The SCOUT study: risk-benefit profile of sibutramine in overweight high-risk cardiovascular patients. *European Heart Journal* 2005; 7(suppl.L): L44-L48.
- (27) Tisková zpráva společnosti Abbott o sibutraminu, dostupná na internetu: <http://sibutramine.com/czech-republic/cs-cz#h30> (15.12.2010)
- (28) Svačina, Š.: Léčba obezity u metabolického syndromu. *Vnitřní lékařství* 2009; 55(7&8): 622-625.
- (29) Čierny, M.: Operační léčba těžké obezity - bariatrická chirurgie, dostupné na internetu: <http://www.plasticka-chirurgie.info/novinky/operacni-lecba-tezke-obezity-bariatricka-chirurgie> (30.2.2011)
- (30) obrázek gastrického bypassu, dostupný na internetu: [http://www.directhealthcare.com/uk/gastric\\_surgery.htm](http://www.directhealthcare.com/uk/gastric_surgery.htm) (30.2.2011)
- (31) Standards of Medical Care in Diabetes - 2009, *Diabetes Care* 2009; 32(1), 4-41.
- (32) obrázek glukometru, dostupný na internetu: <http://www.vseprozdravi.cz/nemoci/cukrovka.html> (30.1.2011)
- (33) Ceriello, A.: The metabolic memory. *Endocrine Abstracts* 2009;20:152.
- (34) Šmahelová, A.: Volba antidiabetik s přihlédnutím k metabolickému syndromu. *Interní medicína pro praxi* 2008; 10(9): 380–383
- (35) Kotolová, H.: přednáška diabetes mellitus, klinická farmakologie, 2010.
- (36) Informační dopis SÚKL o stažení přípravků Avandia, Avandamet. Dostupný na internetu: <http://www.sukl.cz/leciva/informacni-dopis-avandia-avandamet> (28.1.2011)
- (37) Pelikánová, T.: Léčba diabetu u metabolického syndromu. *Vnitřní lékařství* 2009; 55(7a8): 637-645.
- (38) Standardy péče o diabetes mellitus 2.typu. Standardy České diabetologické společnosti. 2009 dostupné na internetu: [www.diab.cz](http://www.diab.cz)

- (39) UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPD5 38. *British Medical Journal* 1998; 317: 703-713.
- (40) Dahlöf, B., Devereux, R.: Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol; *The Lancet*, 359(9311): 995-1003.
- (41) Widimský, J.: Léčba hypertenze u metabolického syndromu. *Vnitřní lékařství* 2009; 55(7a8): 631-635.
- (42) Widimský, J. jr., Cífková, R., Špinar, J. et al.: Doporučení diagnostických a léčebných postupů u arteriální hypertenze – verze 2007. *Doporučení České společnosti pro hypertenzi. CorVasa* 2008; 50: K5-K22.
- (43) Polák J., Klimčáková E.: Endokrinní funkce tukové tkáně v etiopatogenezi inzulinové rezistence. *Interní Med* 2006; 10: 443–446.
- (44) Albright, A., Stern, J.: Adipose tissue. In: Encyclopedia of Sports Medicine and Science Internet Society for Sport Science 1998.: <http://sportssci.org> (15.10.2010)
- (45) McCarty, M.: Paradox resolved: the postprandial model of insulin resistance explains why gynoid adiposity appears to be protective. *Medical Hypotheses*. 2003; 61(2):173-176.
- (46) Arner, P., et al.: Role of Antilipolytic Mechanisms in Adipose Tissue Distribution and Function in Man. *Acta Medica Scandinavica* 1987; 222 (S723): 147–152.
- (47) The adipose tissue: obrázek tukové buňky s popisem, dostupný na internetu: [www.hmgene.com/htmls1/obesity.htm](http://www.hmgene.com/htmls1/obesity.htm) (15.10.2010)
- (48) pojem lipogeneze, dostupný na internetu: <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/lipogeneze> (16.10.2010)
- (49) Haluzík, M., Trachta, P., Haluzíková D.: Hormony tukové tkáně. *Diabetologie* 2010; číslo 10.



- (50) Rosen, D., Spiegelman, B.: Review Article Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 2006; 444, 847-853.
- (51) Unger, RH.: Lipotoxic diseases. *Annu. Rev. Med.* 2002; 53: 319–36.
- (52) Kajikawa, Y., Ikeda, M., Takemoto, S., et al.: Association of circulating levels of leptin and adiponectin with metabolic syndrome and coronary heart disease in patients with various coronary risk factors. *Int Heart J.* 2011; 52(1) :17-22.
- (53) Škop V., Kontrová K. et al.: Adipocytokiny - nedávno objevené hormony tukové tkáně; *Chemické Listy* 2009; 103: 187–192.
- (54) Rabe K., Lehrke M. et.al.: Adipokines and Insulin Resistance. *Mol Med* 2008; 14(11-12): 741–751.
- (55) Barbour, K., Zmuda, J., et al: Adipokines and the risk of fracture in older adults. *Journal of Bone and Mineral Research* 2011; 10.
- (56) Bates, S., Myers, M.: The role of leptin receptor signaling in feeding and neuroendocrine function. *Trends Endocrinol. Metab* 2003; 14: 447–452.
- (57) Leshnan, Björhorn, M., et al.: Leptin Receptor Signaling and Action in the Central Nervous. *Obesity.* 2006; 14(5): 208S–212S.
- (58) Perfetto, F., Tarquini R., Cornélissen, G., et al.: Circadian phase difference of leptin in android versus gynoid obesity. *Peptides* 2004; 25 (8): 1297-1306.
- (59) Kramer, I.,: Signalling by leptin. active learning program – obesity project. Dostupné na internetu: <http://www.cellbiol.net/ste/alpobesity4.php> (26. 2. 2011)
- (60) Leptin. dostupné na internetu: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Leptin> (20 .2. 2011)
- (61) Struktura adiponectinu, dostupné na internetu: <http://en.wikibooks.org/wiki/Metabolomics/Hormones/Adiponectin> (16. 3. 2011)
- (62) Murray, I., Köhl, J., et al.: Acylation-stimulating protein (ASP): structure-function determinants of cell surface binding and triacylglycerol synthetic activity. *Biochemistry Journal* 1999; 342(Pt 1): 41–48.
- (63) Adeghate, E.: Visfatin: structure, function and relation to diabetes mellitus and other dysfunctions. *Current Medicinal Chemistry* 2008; 15(18): 1851-62.

- (64) Distribuce tuku v lidském těle, obrázek dostupný na internetu:  
<http://www.ordinace.cz/clanek/definice-a-vypocet-obezity/> (6. 4. 2011)
- (65) Kang, G., Bae, M., et al: Crystal structure of Rattus norvegicus Visfatin/PBEF/Nampt in complex with an FK866-based inhibitor. Dostupné na internetu:  
<http://www.caspases.org/showabstract.php?pmid=19533035> (14. 3. 2011)
- (66) Omentin, dostupné na internetu: <http://news.biovendor.com/article/omentin> (6. 2. 2011)
- (67) Cai, R., Wei, L.: Expression of omentin in adipose tissues in obese and type 2 diabetic patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2009; 89(6): 381-4.
- (68) Yamawaki, H., Tsubaki, N., Mukohda, M., et al.: Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochemical and Biophysical Research* 2010;393(4): 668-72.
- (69) Struktura omentinu. dostupné na internetu: <http://www.uscnk.com/directory/Omentin-0933.htm> (7. 3. 2011)
- (70) Ahrén, B., Havel, P., Pacini G.: Acylation stimulating protein stimulates insulin secretion. *International Journal of Obesity* 2003; 27: 1037–1043.
- (71) MacLaren, R., Cui, W., Cianflone, K.: Adipokines and the immune system: an adipocentric view. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2008; 632: 1-21.
- (72) Serpin, dostupné na internetu: <http://en.wikipedia.org/wiki/Serpin> (5. 2. 2011)
- (73) Struktura rezistinu, obrázek dostupný na internetu:  
<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Resistin.png> (16. 2. 2011)
- (74) Ribarik C., Simpson, M., Bernlohr, D.: Targeted disruption of the adipocyte lipid-binding protein (aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular fatty acid levels 1. *Journal of lipid research* 1999; 40: 967-972.
- (75) Chmurzyńska A.: The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. *Journal of Applied Genetics* 2006; 47(1): 39-48.
- (76) Aimin Xu, Yu Wang, Jian Yu Xu: Adipocyte Fatty-Acid Binding Protein Is a Plasma Biomarker Closely Associated with obesity and Metabolic Syndrome. *Clinical Chemistry* 2006; 52: 405-413.
- (77) Furuhashi, M., Hotamisligil, G.: Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery* 2008; 7: 489-503

- (78) Struktura A-FABP: obrázek dostupný na internetu:  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Adipocyte\\_protein\\_2](http://en.wikipedia.org/wiki/Adipocyte_protein_2) (17. 2. 2011)
- (79) Noa NOY: Retinoid-binding proteins : mediators of retinoid action. *Biochemistry Journal* 2000; 348: 481-495.
- (80) Yang, Q., Graham, T., Mody N.: Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005; 436: 356-362.
- (81) Struktura RBP-4, dostupná na internetu:  
<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1JYD> (10. 3. 2011)
- (82) Faraj, M., Beauregard, G., Loizon, E., et al.: Insulin regulation of gene expression and concentrations of white adipose tissue-derived proteins in vivo in healthy men: relation to adiponutrin. *Journal of Endocrinology* 2006;191(2): 427-35.
- (83) Wozniak, S., Laura Č., Gee, Ć.: Adipose Tissue: The New Endocrine Organ? *Digestive Diseases and Sciences* 2009; 54:1847
- (84) Mandard, S., Zandbergen, F., van Straten, E., et al.: The fasting-induced adipose factor/angiopoietin-like protein 4 is physically associated with lipoproteins and governs plasma lipid levels and adiposity. *Journal of Biological Chemistry* 2006; 281: 934–944.
- (85) Obesity, Adipocytokines, and Breast Cancer. *Cytokine Bulletin*. Date 11/20/2008
- (86) Wozniak, S., Gee, L., et al.: Adipose Tissue: The New Endocrine Organ? A Review Article. *Digestive Diseases and Sciences* 2009; 54:1847–1856
- (87) Tyleček, J.: *Preklinické testování – Metabolický syndrom*. Brno, 2010. 110 s. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Farmaceutická fakulta. Diplomová práce.
- (88) Bakris, G., Molitch, M., Zhou, Q., et al.: Reversal of Diuretic-Associated Impaired Glucose Tolerance and New-Onset Diabetes: Results of the STAR-LET Study. *Journal of the CardioMetabolic Syndrome* 2008; 3 (1) : 18–25.
- (89) Williams, GA., Callon, KE., Watson M., et al.: Skeletal phenotype of the leptin receptor-deficient db/db mouse. *Journal of Bone and Mineral Research* 2011.
- (90) Piekutowská, Z.: *Proteiny tukové tkáně a metabolický syndrom*. Brno, 2008. Diplomová práce (Mgr.). Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Farmaceutická fakulta, Ústav humánní farmakologie a toxikologie.

- (91) Krčmář J.; Kotolová, H.; Karpíšek, M. et al.: Lipolytic and hypolipidemic properties of newly synthesized aryloxypropanolamine derivatives. *Acta Vet. Brno.* 2008; 77, 589-94.
- (92) Landová, H.: *Syntéza a studium sloučenin s potenciálním  $\beta$ 3-agonistickým účinkem.* Brno, 2010. 67s. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Farmaceutická fakulta. Diplomová práce.
- (93) Metabolický syndrom, reziduální riziko a aterogenní index plazmy, dostupné na internetu: <http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha/metabolicky-syndrom-rezidualni-riziko-a-aterogenni-index-plazmy-422563> (1.4.2011)