

LÉKAŘSKÁ FAKULTA UNIVERZITY PALACKÉHO  
V OLOMOUCI  
I. INTERNÍ KLINIKA - KARDIOLOGICKÁ

PŘEDNOSTA: prof. MUDr. Miloš Táborský, CSc., FESC,

FACC, MBA

PLAZMATICKÉ HLADINY A RNA EXPRESE ADIPOKINŮ  
V LEUKOCYTECH PERIFERNÍ KRVE U MLADÝCH  
PACIENTŮ PO INFARKTU MYOKARDU, S METABOLICKÝM  
SYNDROMEM A U ZDRAVÝCH KONTROL

Disertační práce

MUDr. Aleš Smékal

OLOMOUC 2017

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracoval samostatně a že jsem uvedl veškerou použitou literaturu.

V Olomouci dne 26.11.2017

.....

MUDr. Aleš Smékal

**Poděkování:**

Děkuji svému školiteli Doc. MUDr. Janu Václavíkovi, Ph.D., FESC za odborné vedení, cenné rady a metodické připomínky. Dále děkuji prof. MUDr. Miloši Táborskému, CSc., FESC, FACC, MBA a Doc. MUDr. Petru Heincovi, Ph.D., za podporu ve vědecko-výzkumné činnosti na I. interní klinice Fakultní nemocnice Olomouc. Za statistické zpracování výsledků děkuji RNDr. Jiřímu Jarkovskému Ph.D. V neposlední řadě děkuji své přítelkyni Tereze za trpělivost a pomoc s grafickou úpravou práce.

<b>Obsah</b> .....	4
<b>Seznam zkratk</b> .....	6
<b>1. Přehled problematiky</b> .....	9
1.1 Adipokiny a kardiovaskulární onemocnění .....	9
1.1.1 Perivaskulární a epikardiální tuk .....	10
1.1.2 Role kortizolu a renin-angiotensin-aldosteronového systému při vývoji zánětlivého stavu v tukové tkáni .....	11
1.1.3 Distribuce tukové tkáně .....	14
1.1.4 Složení tukové tkáně .....	14
1.1.5 Obezita, inzulinorezistence a kardiální steatóza .....	16
1.2 Významné adipokiny s kardiovaskulárními efekty .....	19
1.2.1 Leptin .....	19
1.2.2 Visfatin .....	21
1.2.3 Rezistin .....	21
1.2.4 Adipocyte fatty binding protein (AFABP) .....	22
1.2.5 Omentin .....	23
1.2.6 Apelin .....	23
1.2.7 Adiponektin .....	27
1.2.8. Další adipokiny s důležitými kardiovaskulárními efekty .....	32
1.3. Předčasná ateroskleróza a akutní infarkt myokardu u mladých pacientů .....	34
<b>2. Cíle práce</b> .....	37

<b>3. Metodika</b> .....	38
3.1 Stanovení exprese adipokinů v leukocytech periferní krve .....	39
3.2 Stanovení koncentrace adipokinů v séru .....	40
3.3 Statistická analýza .....	41
<b>4. Výsledky</b> .....	42
4.1 Exprese adipokinů.....	42
4.2 Stanovení koncentrace adipokinů v séru .....	43
4.3 Porovnání exprese adipokinů v leukocytech a v tuku .....	46
4.4 Vztah koncentrace adipokinů v séru a exprese mRNA v leukocytech periferní krve.....	45
4.5 Vztah koncentrace adipokinů v séru a CAD .....	49
4.6 Vztah exprese mRNA adipokinů a CAD.....	49
<b>5. Diskuze</b> .....	52
<b>6. Závěr</b> .....	55

**Anotace v českém jazyce**

**Summary in English**

**Přílohy**

**Literatura**

**Publikace**

**Kongresové prezentace**

## Seznam zkratk

ACE	angiotenzin konvertující enzym
ACEi	ACE inhibitory
AdipoR	adiponektinový receptor
A-FABP	adipocyte fatty acide binding protein
AIM	akutní infarkt myokardu
Akt	protein kinase B
AMP	adenosine monophosphate
AMPK	adenosine monophosphate-activated protein kinase
Ang	angiotensin
ANP	adiponektin
APJ	apelin receptor
APOE	apolipoprotein E
AT1	receptor 1 pro angiotenzin 2
AUC	area under the curve
BLRT	blokáda levého tawarova raménka
BMI	body mass index
BNP	brain natriuretic peptid
cDNA	complementary DNA
CABG	coronary artery bypass grafting
CAD	coronary artery disease
CK-MB	myokardiální isoenzym kreatinkinázy
CPAP	continuous positive airway pressure
CRP	C-reaktivní protein
CT	počítačová tomografie
cTn	cardiac troponin
CV	variační koeficient
CVD	cardiovascular disease

DM	diabetes mellitus
ESC	European Society of Cardiology
FABP4	fatty acide binding protein 4
FN	fakultní nemocnice
FS	fibrilace síní
FGF	fibroblast growth factor
GIT	gastrointestinální trakt
HDL	high density lipoprotein
HMW	high molecular weight
HRP	křenová peroxidáza
hsCRP	high sensitivity CRP
IL	interleukin
ICHS	ischemická choroba srdeční
IM	infarkt myokardu
IR	inzulinorezistence
Iv	intravenozní
KV	kardiovaskulární
KVO	kardiovaskulární onemocnění
LDL	low density lipoprotein
LK	levá komora
LMW	low molecular weight
MCP	monocytární chemotaktický protein
mRNA	messenger RNA
NO	oxid dusnatý
NSTEMI	infarkt myokardu bez ST elevací
NYHA	New York Heart Association
PCI	perkutánní koronární intervence
PCR	polymerázová řetězová reakce
PCSK9	Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

PPAR	peroxisome proliferator-activated receptor
PVAT	perivaskulární tuková tkáň
qPCR	kvantitativní PCR
RAAS	renin-angiotenzin-aldosteronový systém
RBP4	retinol binding protein 4
ROC	Receiver Operating Characteristic
SAT	subkutánní tuková tkáň
Sc	subkutánní
SOCS3	Suppressor of cytokine signaling 3
SS	srdeční selhání
STEMI	infarkt myokardu s ST elevacemi
TAG	triacylglyceroly
TK	krevní tlak
TMB	tetramethylbenzidine
TNF	tumor necrosis factor
VAT	viscerální tuková tkáň
ZAG	Zinc-alpha2-glycoprotein



# 1. Přehled problematiky

## 1.1 Adipokiny a kardiovaskulární choroby

Adipokiny jsou hormony tvořené tukovou tkání, které se uplatňují v energetické homeostáze, metabolismu cukrů a tuků, kontrole termogeneze, reprodukce, imunity a také ve vlivu na kardiovaskulární funkce jednak přímým ovlivněním cévní stěny pomocí parakrinních efektů, jednak ovlivněním endoteliální funkce prostřednictvím změny plazmatické hladiny (a tím i tkáňové hladiny) adipokinu úměrné celkové mase tukové tkáně v organismu (1). Mezi tradiční funkce tukové tkáně je řazena tepelná izolace, mechanická ochrana a také je považována za zásobárnu energie. V 90. letech minulého století byly objeveny první hormony produkované tukovou tkání, pohled na tukovou tkáň jako na pouhou pasivní zásobárnu energie se tak začal měnit a do popředí zájmu se dostala její endokrinní funkce v lidském organismu. Z hlediska vlivu na kardiovaskulární systém mohou být rozděleny na kardioprotektivní adipokiny (protizánětlivé) a adipokiny negativně ovlivňující kardiovaskulární systém (prozánětlivé). Toto rozdělení ovšem není zcela přesné, jelikož, jak je popsáno níže, u velké části adipokinů jsou popisovány jak protektivní tak škodlivé efekty a jejich globální funkce není zcela definována. Stejně tak dříve užívané dělení působků tukové tkáně na cytokiny, produkované stromavaskulární frakcí buněk, a adipokiny, produkované adipocyty, není opodstatněné, jelikož některé adipocytokiny (rezistin, apelin) jsou produkovány oběma typy buněk. Velké množství adipokinů je hojně produkováno také mimo tukovou tkáň, což dělá klasifikaci těchto látek ještě složitější. Pouze malá část adipokinů je tvořena výlučně tukovou tkání.

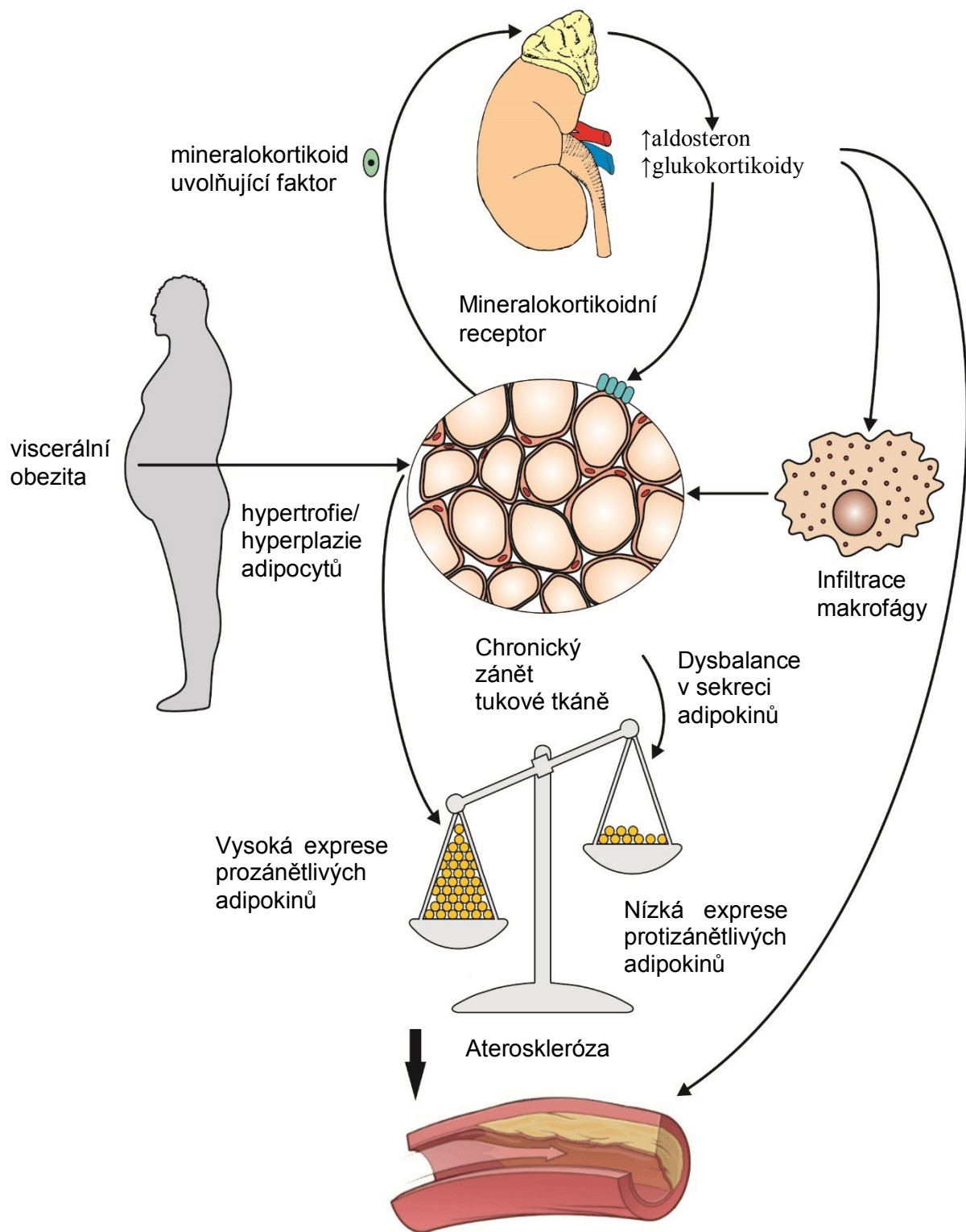
### 1.1.1 Perivaskulární a epikardiální tuk

Parakrinními efekty se uplatňují adipokiny produkované zejména perivaskulární tukovou tkání (PVAT). Na rozdíl od podkožní tukové tkáně se perivaskulární tuk liší tím, že má větší množství méně diferencovaných adipocytů, jež produkují ve zvýšené míře prozánětlivé cytokiny (např. IL-6, IL-8 a MCP-1) (2). Naopak produkce adiponektinu je v PVAT snížena (2). PVAT je svým endokrinním vlivem zapojena také v proliferaci a migraci hladkých svalových buněk cév, konkrétně jde pravděpodobně o parakrinní efekt některých adipokinů (např. visfatinu a resistinu) (3,4). V odpovědi na vazokonstrikci reagují adipocyty PVAT uvolněním adipokinů, jež navozují antikrakovilní efekty na hladké svalové buňky sousedících cév (5).

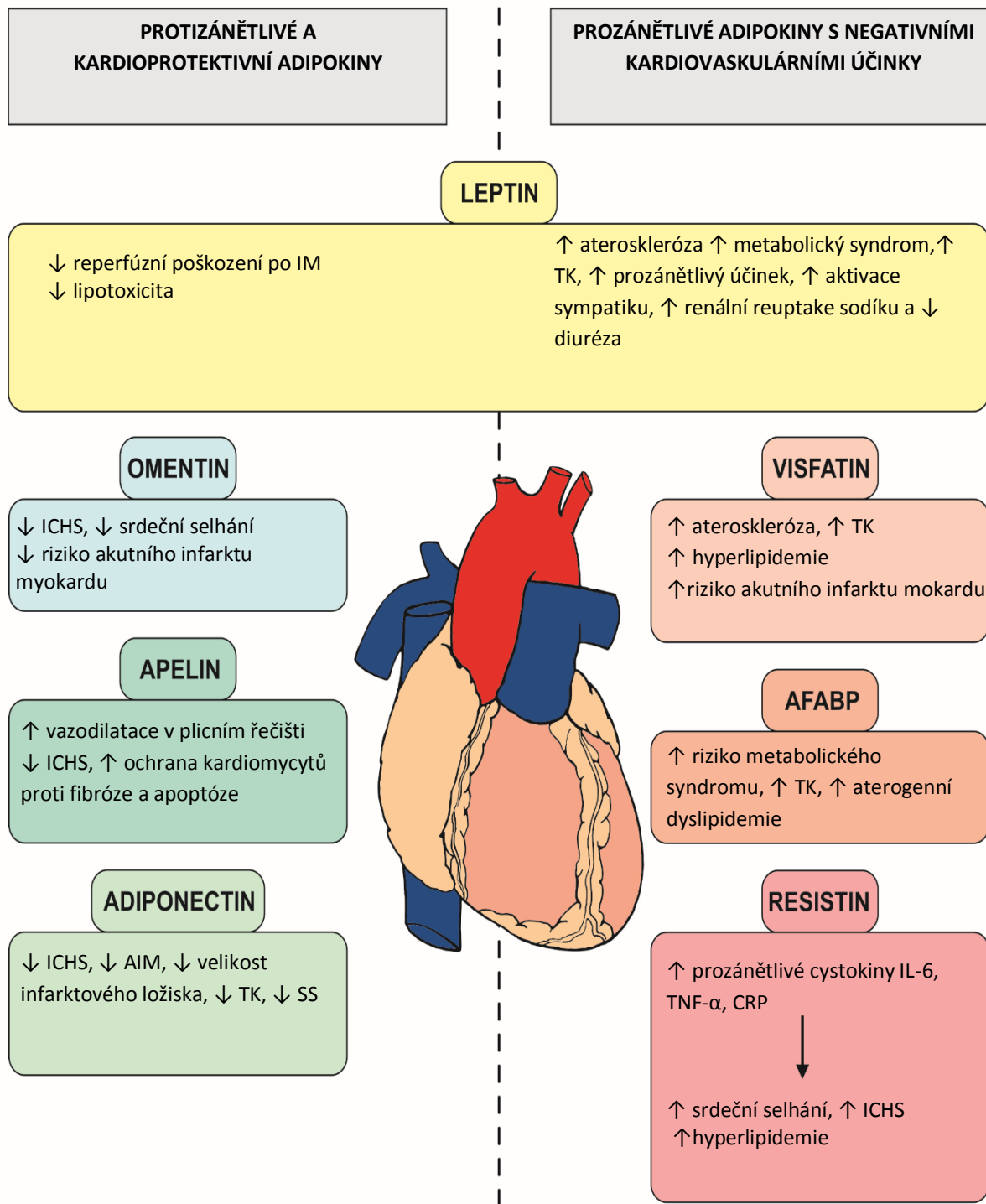
Epikardiální tuk je druhem perivaskulární tukové tkáně, pokrývá povrch srdce a obklopuje adventicii koronárních arterií. K jeho ukládání dochází více na pravostranných srdečních oddílech než levostranných. Okura a spol. zhodnotil perikardiální tuk pomocí CT a prokázal, že objem perikardiálního tuku je přímo úměrný závažnosti koronární srdeční nemoci u pacientů se zachovanou ejekční frakcí (6). Dle výsledků jiné velké studie bylo zjištěno, že koronární kalcifikace koreluje s množstvím perikardiálního tuku a že tato korelace predikuje další rozvoj aterosklerózy u osob s nízkým počtem kalcifikací na počátku sledování (7). Zvýšené množství makrofágů, T-lymfocytů a mastocytů v epikardiálním tuku, ale nikoliv v tuku podkožním, bylo prokázáno u pacientů s koronární nemocí několika výzkumníky nezávisle na sobě (8,9). Regrese epikardiálního tuku byla pozorována u osob, které snížily váhu (10), cvičily (11), užívaly atorvastatin (12), ezetimib (13) atd. Není prozatím jasné, zdali tato regrese vede i ke snížení kardiovaskulárního rizika. Vliv epikardiálního tuku na vznik kardiovaskulárních chorob je dosud nedostatečně prozkoumaný a zasluhuje intenzivní výzkum, v současné době je epikardiální tuk (zhodnocený pomocí echokardiografického vyšetření) považován za marker viscerálního tuku a také kardiovaskulárního rizika (14,15).

### **1.1.2 Role kortizolu a renin-angiotensin-aldosteronového systému při vývoji zánětlivého stavu v tukové tkáni**

V lidské tukové tkáni je tvořen hormon kortizol z inaktivního prekurzoru kortizonu. Výsledky některých studií svědčí pro to, že zvýšená produkce kortizolu ve viscerálním tuku u obézních může mít klíčový vliv při vzniku jaterní inzulínové rezistence a diabetu mellitu 2. typu. Takto tvořený kortizol se portální cirkulací dostává přímo do jater, kde může zvyšovat glukoneogenezi, syntézu triglyceridů atd. (16). U pacientů s viscerální obezitou byla také popsána up-regulace systému renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS) (17) charakterizovaná vysokou plasmatickou reninovou aktivitou a vysokou hladinou aldosteronu, po poklesu hmotnosti se hladiny těchto hormonů normalizují (18). Některé komponenty RAAS systému jsou produkovány v tukové tkáni, např. angiotenzinogen (17). Zablokování systému renin-angiotenzin-aldosteron ACE-inhibitory, AT1-blokátory a ev. spironolaktonem je jedním ze základních přístupů v léčbě arteriální hypertenze, srdečního selhání a ischemické choroby srdeční. Některé studie naznačují, že mineralokortikoidní receptor v adipocytech usnadňuje expresi zánětlivých adipokinů a umožňuje uplatnění proadipogenního efektu aldosteronu a glukokortikoidů (21). Inhibice těchto receptorů v experimentálních studiích snižuje expresi prozánětlivých faktorů v tukové tkáni a zvyšuje expresi adiponektinu v srdci a tukové tkáni (19). Tuková tkáň produkuje dosud neidentifikovaný mineralokortikoid uvolňující faktor, který stimuluje produkci aldosteronu a glukokortikoidů (obrázek č. 1). Oba tyto hormony potencují cestou mineralokortikoidního receptoru v adipocytech makrofágovou infiltraci a adipogenezi, což jsou důležité faktory umožňující tvorbu prozánětlivě působících adipokinů (19). Soused patologicky působící osy můžeme tedy zjednodušeně popsat takto: rostoucí viscerální tuková tkáň indukuje produkci aldosteronu a glukokortikoidů, tyto hormony pak následně přispívají k rozvoji chronického zánětu v tukové tkáni s nadprodukcí škodlivých adipokinů (obrázek č. 1, obrázek č. 2)



**Obrázek č. 1.** Patofyziologické souvislosti mezi tukovou tkání, adipokiny, systémem renin-angiotenzin-aldosteron a aterosklerózou



**Obrázek č. 2.** Přehled pozitivních a negativních kardiovaskulárních účinků nejvýznamnějších adipokinů

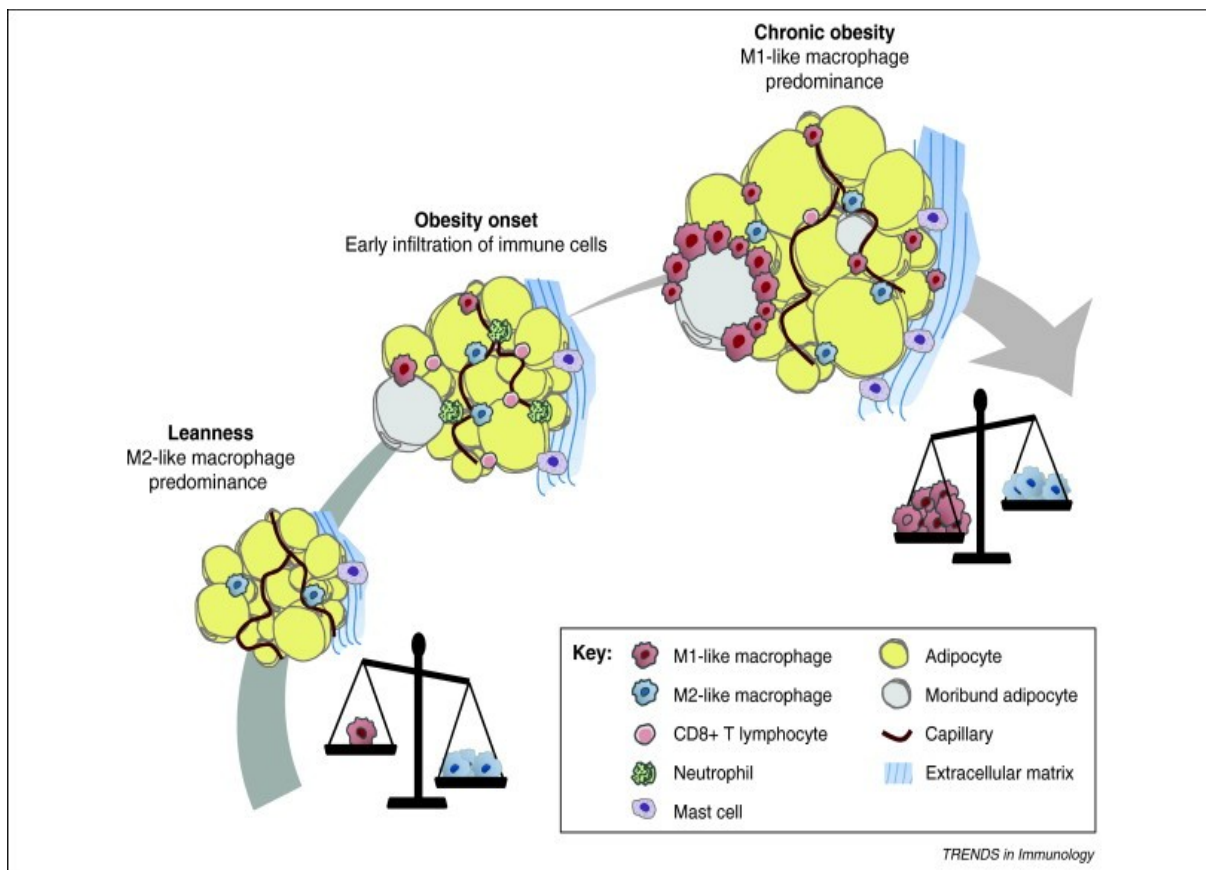
### **1.1.2. Distribuce tukové tkáně**

Obézní, u kterých převažuje tuková expanze v subkutánní tukové tkáni (SAT) nad viscerální tukovou tkání (VAT), mají obecně příznivější kardiovaskulární rizikový profil. Je to proto, že obezita s převládající podkožní tukovou tkání je spojena s lepší sensitivitou insulinu, lipidovými parametry a cytokinovými profily nežli obezita spojená s nadbytkem viscerálního tuku. Ta je naopak běžnější u osob s androidní obezitou než u lidí s gynoidní obezitou. Extrémními případy postižené distribuce tuku jsou kongenitální a získané formy lipodystrofie, jež vedou ke ztrátě nebo nedostatečnému rozvoji periferní tukové tkáně a jejímu hromadění abdominálně. Pacienti s touto diagnózou jsou predisponováni k rozvoji aterosklerózy a KVO v mladém věku. Insulinová rezistence, diabetes, hyperlipidémie, steatóza jater, hypertenze i srdeční hypertrofie jsou zcela běžné v mladém věku. Hladiny adiponektinu a leptinu bývají u takto postižených jedinců velmi nízké (20). Podávání leptinu u těchto osob vedlo ke zlepšení metabolické kompenzace, snížení příjmu potravy, poklesu glykémie a hladin volných mastných kyselin a triglyceridů (21). Došlo také prakticky k vymizení jaterní steatózy a k významnému zlepšení inzulínové senzitivity v jaterní i svalové tkáni (16).

### **1.1.3. Složení tukové tkáně**

I když je tuková tkáň tvořena zejména adipocyty (okolo 50% buněk) (20), její nedílnou součástí jsou i ostatní typy buněk (lymfocyty, makrofágy, fibroblasty, vaskulární buňky), které mají důležitou roli v kontrole funkčního stavu této tkáně. Obézní jedinci mají v porovnání se štíhlými více makrofágů v tukové tkáni a zvýšené hladiny prozánětlivých adipokinů jako je rezistin, IL-6, TNF-A, visfatin (22), snížena je naopak hladina adiponektinu a apelinu. Štíhlí lidé mají adipocyty malé, kdežto u obézních jedinců je větší objem adipocytů v důsledku hromadění lipidů. Velikost adipocytů významně ovlivňuje jejich metabolismus, např. u velkých adipocytů dochází ke snížení citlivosti na účinky insulinu, stejně

tak zvětšený poměr mezi makrofágy/adipocyty je asociován s inzulínorezistencí. Většina prozánětlivých adipokinů má úzký vztah k rozvoji inzulínorezistence, která má široké dopady na různé orgány vč. srdečního svalu (23). Mění se také fenotyp makrofágů (převaha M1 nad M2 makrofágy) (Obrázek č.3).

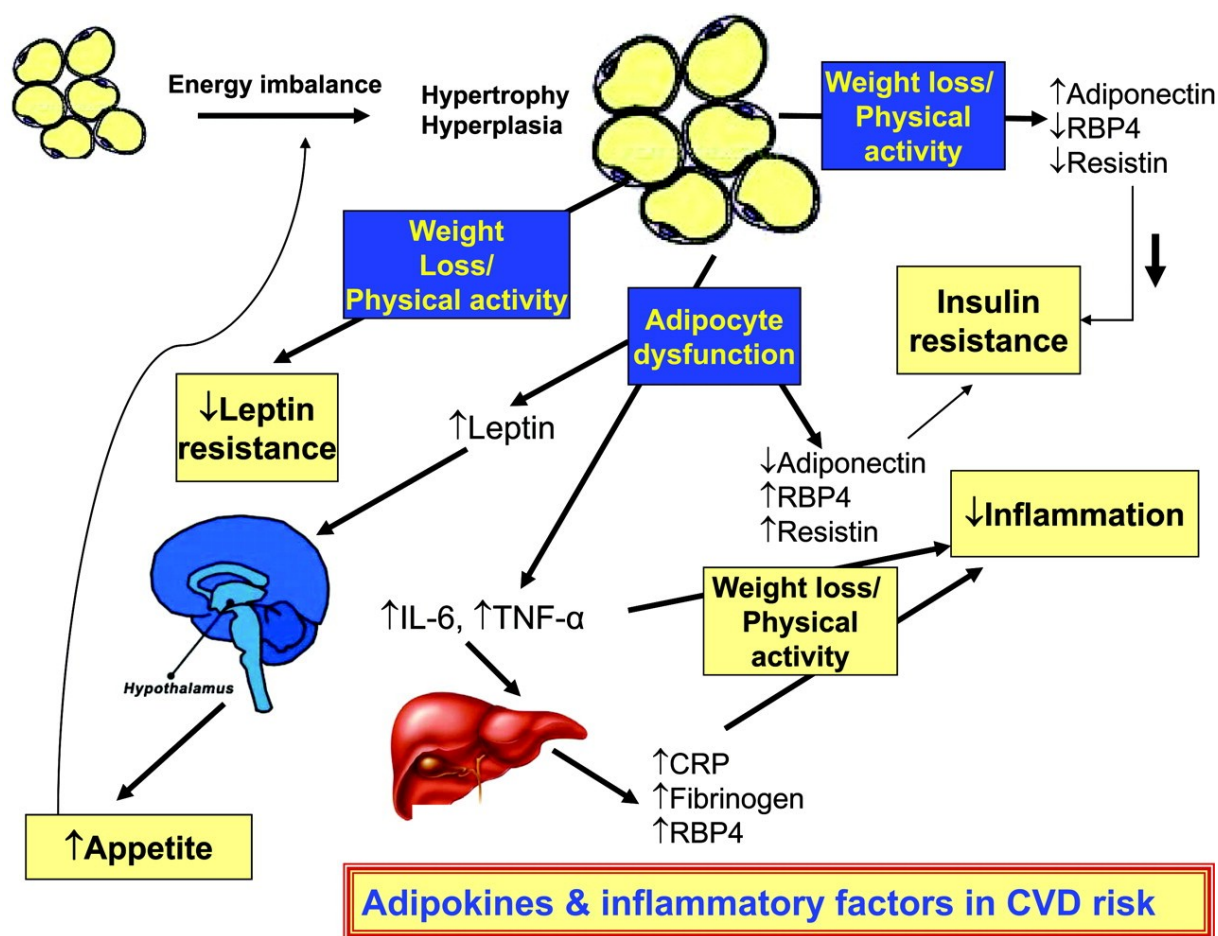


**Obrázek č. 3:** Změna složení tukové tkáně s přibývající hmotností.

Zdroj: [http://www.cell.com/trends/immunology/fulltext/S1471-4906\(11\)00076-7](http://www.cell.com/trends/immunology/fulltext/S1471-4906(11)00076-7)

### 1.1.4 Obezita, inzulinorezistence a kardiální steatóza

Obezita je považována za významný rizikový faktor rozvoje aterosklerózy a kardiovaskulárních chorob, je považována za stav mírného chronického zánětu a může tvořit mezičlánek v patogenezi rozvoje metabolického syndromu a aterosklerózy (obrázek č. 4).

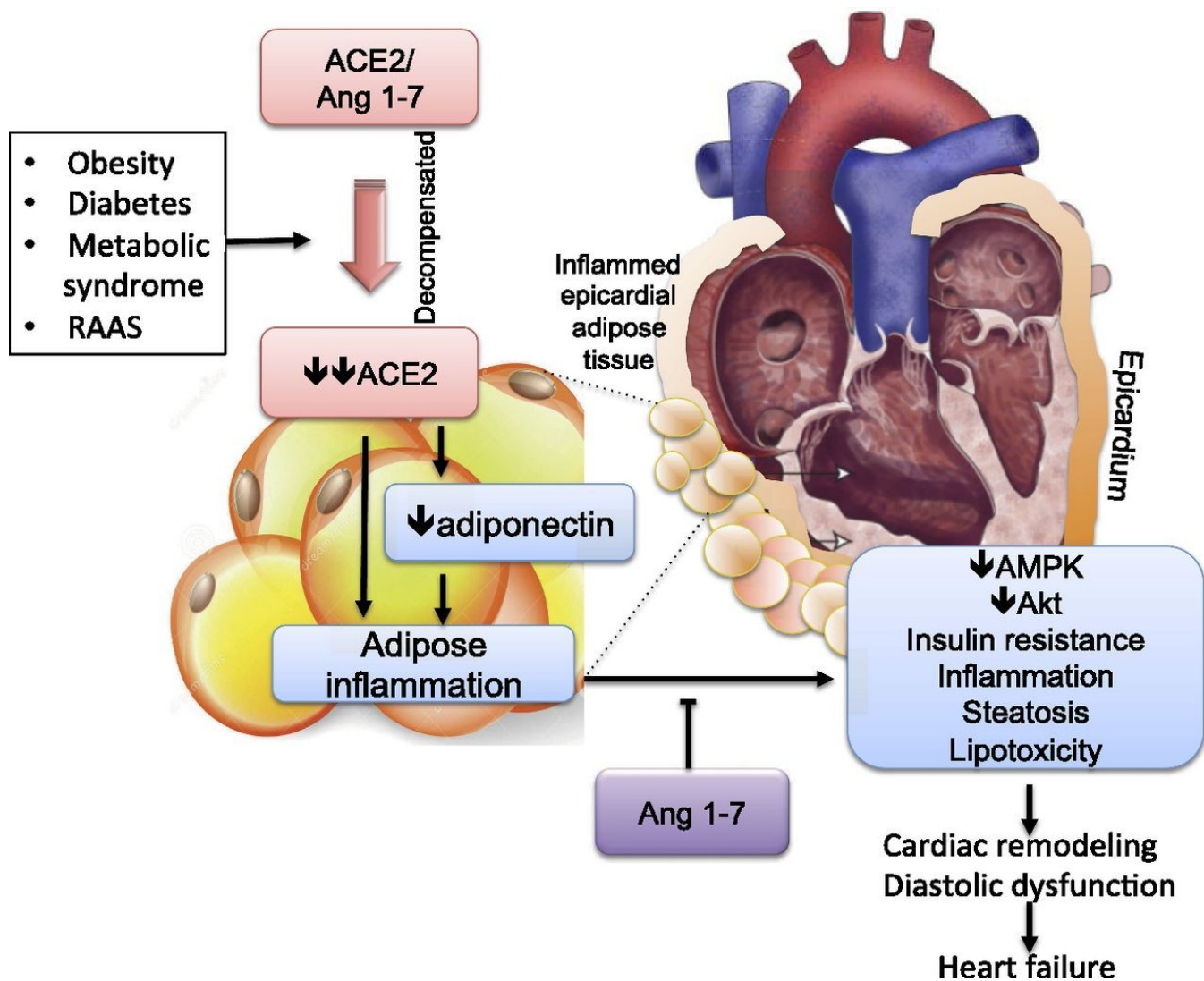


**Obrázek č. 4:** Vliv obezity a prozánětlivých faktorů na rozvoj kardiovaskulárních chorob.

Zdroj: <http://circ.ahajournals.org/content/123/23/2749#T3>



Obezita a inzulinorezistence vedou ke zvýšení lipidogeneze v játrech a zvyšují lipolýzu v adipocytech, které dohromady resultují v nárůst cirkulujících hladin triglyceridů a volných mastných kyselin. Hyperlipidemie a hyperinzulinemie následně vede k transportu volných mastných kyselin do myocytů, kde se uplatňují svými lipotoxickými efekty (24). Tyto efekty iniciují postižení myokardu různými mechanismy. Zahrnují tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů, produkci ceramidu, pokles kontraktility ovlivněním zásob  $Ca^{2+}$  v sarkoplasmatickém retikulu, postižení inzulinové signalizace a rozvoj mitochondriální dysfunkce. Svoji patogenetickou roli sehrává patrně také lokální aktivace systému renin-angiotenzin-aldosteron v myokardu. (obrázek č.5). Hladiny angiotenzinu v kardiomyocytech jsou vyšší u diabetiků a obézních. Adipozita a inzulinorezistence může také vést k akumulaci triglyceridů v myokardu a vzniku kardiální steatózy, která přispívá k rozvoji diastolické dysfunkce LK (20). Rozsah kardiální steatózy může zhodnotit magnetická rezonance.



**Obrázek č. 5:** Patofyziologický algoritmus rozvoje kardiální steatózy a diastolické dysfunkce.

Zdroj: <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/65/1/19>

## 1.2 Významné adipokiny s kardiovaskulárními efekty

### 1.2.1 Leptin

Jedná se o první objevený adipokin (v r. 1994). Leptin potlačuje hlad, snižuje příjem potravy a urychluje metabolismus. V současné době je prokázáno, že hladiny leptinu pozitivně korelují s obsahem tuku v organismu a u obézních inzulinorezistentních jedinců jsou jeho koncentrace zvýšené, naopak snížené hladiny jsou u osob štíhlých (25). Tento paradox zvýšených hladin leptinu u obezity může být částečně vysvětlen leptinorezistencí zapříčiněnou vyššími hladinami SOCS3, což je inhibitor v signální dráze leptinu (26). Vyšší hladiny leptinu a leptinorezistence se ovšem patogeneticky na rozvoji obezity uplatňují jen stěží a spíše jsou jen jejím průvodním jevem.

Při hladovění hladina leptinu rychle klesá (až o 50% během jednoho týdne). Tvorba hormonů štítné žlázy se omezí a ve zvýšené míře se tvoří stresové hormony. Je tedy možné, že hlavním účinkem leptinu je adaptační reakce na hladovění a nikoli tlumení příjmu potravy (27). U malnutričních stavů, typicky u pacientek s mentální anorexií, způsobuje snížení jeho hladin děje vedoucí k šetření energie, jedním z těchto dějů je rozvoj centrální amenorey. Podávání leptinu u těchto pacientek vedlo k navrácení menstruace (28). Nitrožilní podávání leptinu lidem v redukčním režimu vedlo ve srovnání s placebem k poklesu tělesné hmotnosti (29). Redukční dieta vede k útlumu metabolismu (nižší hladina hormonů štítné žlázy, nižší denní kalorický výdej), v jiné studii byl proto leptin podáván na jejím konci, což vedlo podle předpokladů k rychlejší normalizaci utlumeného metabolismu (30). Ačkoli exogenní aplikace leptinu má dle výše uvedených studií určitý pozitivní vliv jak na adaptační reakci organismu při hubnutí, tak na samotné hubnutí, jeho podávání se dle současných vědeckých poznatků nejeví jako opodstatněné z několika důvodů: nákladnost, nutnost subkutánního (sc) nebo intravenózního (iv) podávání, v literatuře popisované negativní efekty na kardiovaskulární systém

(např. rozvoj hypertenze při iv podávání) a zejména to, že samotný efekt podávání leptinu v běžné populaci není dostatečný a nenaplnil očekávání. Zajímavějších výsledků by mohlo být dosaženo podáváním leptinu určitým vybraným skupinám obézních, např. obézním osobám s nízkými hladinami leptinu, kde by se dal očekávat významnější vliv na pokles hmotnosti. Tento přístup ovšem vyžaduje další klinický výzkum. Prozatím tedy jedinými stavy, kde dosáhla aplikace leptinu významných úspěchů, bylo jeho použití u lipoatrofického diabetu (16) a u obézních s mutací genu pro leptin (31), což vedlo téměř k normalizaci hmotnosti.

V literatuře jsou popisované jisté kardioprotektivní účinky leptinu, mezi které jsou řazeny zmenšení rozsahu IM a ochrana proti reperfučnímu poškození lokálním autokrinním působením na srdce (srdce samo také produkuje leptin), kdy se zřejmě uplatňují vazodilatační účinky zprostředkované pomocí NO a také antilipotoxické efekty (32). Nicméně většinou odborníků je leptin považován za 'bad' adipokin ve svém vlivu na KV systém. Hyperleptinemie je totiž obecně v populaci spojena s aterosklerózou, hypertenzí a metabolickým syndromem (33). Tyto efekty na kardiovaskulární systém jsou zprostředkovány vlivem leptinu na krevní tlak, aktivaci sympatiku, inzulinorezistenci, agregaci trombocytů a jeho prozánětlivými účinky.

Chronické intravenózní podávání leptinu zvyšuje srdeční frekvenci a střední arteriální krevní tlak (34). Toho je dosaženo aktivací sympatického nervového systému a zvýšeným uvolňováním katecholaminů (35). Dalším popisovaným mechanismem v rozvoji leptinem indikované hypertenze je snížení diurézy a zvýšení zpětného vychytávání sodíku v ledvinách (18).

Zvýšené koncentrace leptinu jsou asociovány s prodělaným infarktem myokardu a cévní mozkovou příhodou nezávisle na tradičních rizikových kardiovaskulárních faktorech a obezitě (35) a také jsou spojeny s kalcifikací koronárních arterií bez ohledu na pohlaví (36).

### 1.2.2 Visfatin

Jedná se o adipokin objevený v roce 2005 týmem doktora Fukuhary, jenž dostal své jméno složením slov visceral fat adipokin. Jeho hladiny jsou zvýšeny u obézních osob, u osob s inzulinovou rezistencí a diabetem 2. typu (37). Svými inzulin-mimetickými účinky má vliv na snížení hladin krevní glukózy (38), mechanismus tohoto jevu však není dosud spolehlivě objasněn. Jeho hladiny korelují s množstvím podkožního ale i viscerálního tuku. Jeho produkce byla očekávaně potvrzena i v epikardiálním a paraaortálním tuku a to ve stejných koncentracích jako v tuku abdominálním. Visfatin může tedy působit svými parakrinními efekty přímo na kardiovaskulární systém. Ve studii srovnávající hladiny visfatinu u 54 pacientů se STEMI infarktem myokardu, námahovou anginou a u osob bez kardiovaskulárního onemocnění byly hladiny visfatinu signifikantně zvýšené u pacientů se STEMI ve srovnání s ostatními skupinami (39). Hladiny dosahovaly peaku po 24h od PCI a hodnot odpovídajících pásnu kontrolní skupiny dosáhli po 1 týdnu. Hladina visfatinu korelovala s hodnotou BNP, troponinu I, CK-MB a počtem bílých krvinek. Toto dočasné zvýšení koncentrace visfatinu v prvním týdnu po STEMI a jeho korelace se vzrůstem kardiálních enzymů ukazují tedy na to, že hladina visfatinu v plasmě odpovídá rozsahu myokardiálního poškození.

Obecně můžeme shrnout, že visfatin je pravděpodobně zapojen nejen v patogenezi diabetu mellitu, obezity, dyslipidemie, hypertenzi, renálního selhání, ale i aterosklerózy (40) a roste klinická evidence podporující roli visfatinu jako potenciálního markeru zánětu a endoteliálního poškození jak u metabolických chorob (41), tak u akutního koronárního syndromu (39)

### 1.2.3 Rezistin

V minulosti byly zkoumány účinky rezistinu zejména v souvislosti s rozvojem inzulinorezistence, podle některých prací byla také zjištěna pozitivní korelace mezi obezitou a hladinami rezistinu (42). Další výzkum ovšem ukázal, že výsledky studií v této oblasti jsou nekonzistentní a často protichůdné.

Nadměrná produkce rezistinu při akutních i chronických zánětlivých stavech (43) ukazuje na jeho těsnější vztah k rozvoji zánětlivých stavů, nežli k obezitě a inzulinorezistenci. Tomu napovídá i fakt, že rezistin je produkován zejména makrofágy mimo tukovou tkáň, nežli samotnými adipocyty (44).

V několika studiích byl popsán vliv zánětlivých cytokinů na expresi a hladinu rezistinu. A naopak je možné, že rezistin může působit jako signální molekula iniciující imunitní odpověď a produkci prozánětlivých cytokinů (IL-6, TNF, CRP) a např. také PCSK9 a přispět tak k progresi aterosklerózy. U neobězních nemocných s chronickou ischemickou chorobou srdeční jsou zvýšené hladiny rezistinu asociovány s vyšší hladinou proteázy PCSK9 (45), jejíž inhibice vede k výraznému poklesu LDL cholesterolu. Sérové koncentrace rezistinu jsou zvýšené u osob se srdečním selháním a jeho hladiny pozitivně korelují se závažností srdečního selhání dle NYHA klasifikace (46). Zajímavé je, že opačných výsledků bylo dosaženo v případě omentinu (viz níže).

#### **1.2.4 Adipocyte fatty-acid-binding protein (A-FABP)**

Mezi adipokiny negativně ovlivňující kardiovaskulární systém řadíme také Adipocyte fatty-acid-binding protein (A-FABP). Koncentrace A-FABP je u lidí pozitivně asociována s přítomností obezity, bylo ověřeno, že A-FABP je markerem metabolického syndromu (47). Hladiny A-FABP jsou také pozitivně asociovány nejen s metabolickými a zánětlivými kardiovaskulárními rizikovými faktory, jež zahrnují aterogenní dyslipidemii, hyperglykemii, hypertenzi, ale také s některými laboratorními ukazateli zánětu (s-CRP a IL-6). U osob s preexistující ischemickou chorobou srdeční vyšší koncentrace A-FABP signifikantně predikují zvýšené riziko kardiovaskulární smrti, nefatálního infarktu myokardu nebo cévní mozkové příhody (48).

Exprese genu pro Adipocyte fatty-acid-binding protein (FABP4) v makrofázích může být indukována oxidovaným LDL cholesterolem a snížena podáváním hypolipidemik (statinů), které

inhibují syntézu cholesterolu (49). Léčba pacientů s obstrukční spánkovou apnoe pomocí CPAP příznivě ovlivňuje i hladinu A-FABP (50).

### **1.2.5 Omentin**

Omentin je adipokin objevený v roce 2004. Je produkován stromavaskulárními buňkami viscerální tukové tkáně, exprese v subkutánní tukové tkáni je zanedbatelná (51). Jeho genová exprese a sérové hladiny jsou sníženy u obézních osob a negativně korelují s BMI, obvodem pasu, inzulinovou rezistencí a také koronární nemocí. Pozitivní je naopak korelace s hladinou sérového adiponektinu a HDL (52). Omentin také zvyšuje inzulinem indukovaný reuptake glukózy a podílí se na regulaci inzulinové senzitivity (51) a může tak zabraňovat zhoršení inzulinové rezistence.

Pokud jde o vliv omentinu na kardiovaskulární systém, byly popsány, jak je uvedeno výše (str. 22), nižší hladiny omentinu u osob s koronární aterosklerózou (53). U srdečního selhání byly hladiny omentinu signifikantně nižší u osob, které měly ve sledovaném období více kardiálních příhod (rehospitalizace, smrt) a také u osob s funkční klasifikací NYHA IV ve srovnání s NYHA II, III (54).

### **1.2.6 Apelin**

V roce 1992 byl objeven receptor pro apelin tzv. APJ (také znám jako angiotensin-like receptor), který se svou strukturou nápadně podobá receptoru pro angiotenzin (55). Angiotenzin nicméně není schopen tento receptor aktivovat, a tak se až do roku 1998, kdy byl objeven apelin (56), nazýval receptorem sirotčím. Apelin je považován za kardioprotektivní faktor, protože vykazuje opozitní efekty vůči RAAS systém. Je exprimován v řadě orgánů včetně hypotalamu, vaskulárního endotelu, srdce, plic, ledvin, tukové tkáně, GIT. APJ receptor je exprimován hojně v endoteliu, hladké svalovině a myocytech. V systémové cirkulaci apelin navozuje NO-dependentní vasodilataci, brání vasokonstrikci způsobené angiotensinem II (57), má pozitivní inotropní a kardioprotektivní efekty (Obrázek č. 6).

Plasmatické hladiny apelinu jsou signifikantně nižší u osob s fibrilací síní (FS) v porovnání se zdravými kontrolami (62). Recentní studie ukazují na vyšší riziko rekurence FS u osob s nižšími hladinami apelinu (58,59). Standardním biomarkerem FS je BNP, pacienti s nízkými hladinami apelinu a vysokými hladinami BNP mají vyšší riziko rekurence FS, než ti, kteří mají buď jenom nízký apelin nebo vysoké BNP. Apelin a BNP také klesá u osob po verzi FS na sinusový rytmus (60). Apelin je tedy vhodným prediktorem rekurence a prognózy FS.

Hladina apelinu klesá časně po IM. Následně po několika dnech jeho hladiny opět rostou, ale zůstávají sníženy ještě ve 24. týdnu po IM. Tento pokles je nezávislý na stupni ventrikulární dysfunkce a prognóze pacienta (61,62). Obecně jsou hladiny apelinu nižší u osob s ICHS ve srovnání s kontrolními skupinami. U pacientů s nestabilní anginou a infarktem myokardu jsou hladiny apelinu nižší, nežli u osob se stabilními formami ICHS a hladiny též negativně korelují se závažností koronárních stenóz (63). Některé práce také prokazují pozitivní efekt v redukcii reperfúzního poškození po infarktu myokardu (64). V další fázi výzkumu je nutné provést prospektivní sledování hladin apelinu, které rozhodne o možném využití apelinu jako prognostického markeru kardiovaskulárních chorob (adiponektin tento potenciál do nynější doby nenaplnil – viz str. 27).

U osob s chronickým srdečním selháním byla v jedné studii prokázána zvýšená exprese a produkce apelinu v levé komoře srdeční, naopak snížena byla síňová produkce a sérové koncentrace apelinu, stejně tak jako exprese apelinového receptoru AJP (65). Další studie potvrdily sníženou hladinu apelinu u srdečního selhání (66). Zajímavé je, že zvýšená exprese a tkáňová produkce byla prokázána také u osob po implantaci levokomorové mechanické srdeční podpory (67).

Podle některých animálních studií je regulace apelinu ovlivňována hypoxií, kdy v úvodní fázi po hypoxii roste produkce apelinu, ta je potom vystřídána fází s normalizací nebo poklesem v jeho produkci (68). Chen a spol. ve své studii prokázal vyšší hladiny apelinu u pacientů s nízkým stupněm NYHA klasifikace než u zdravých kontrol (67), u vyšších stupňů byly naopak hladiny nízké,

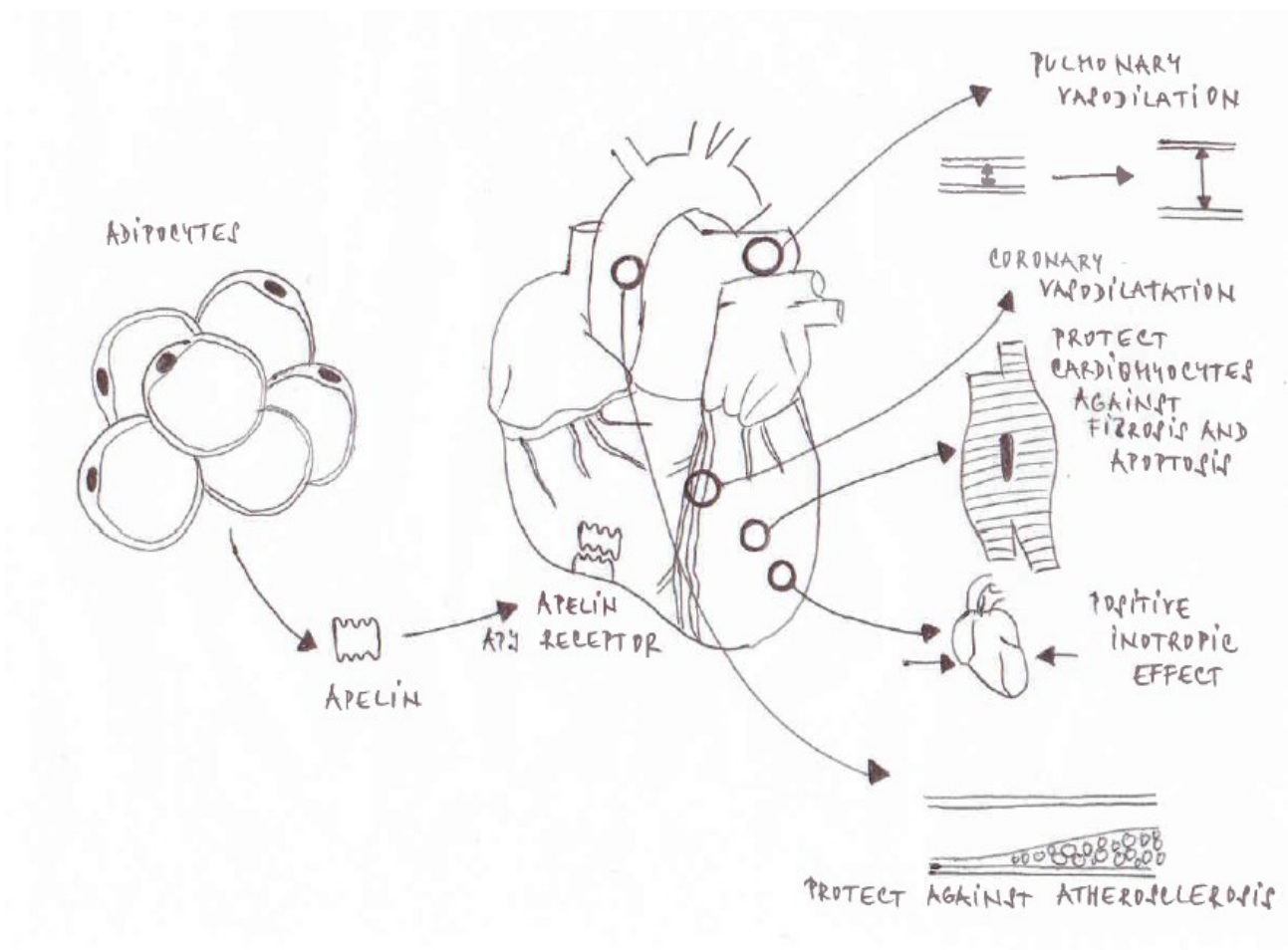


což by odpovídalo bifázické odpovědi na hypoxii navrhované Andersenovou. Pozitivní inotropní efekt byl prokázán na izolovaných perfundovaných krysích srdcích a byl závislý na dávce infuzně podaného apelinu (69). Akutní podávání apelinu u lidí se srdečním selháním vyvolalo zvýšení koronárního průtoku, pokles v krevním tlaku a zvýšení srdečního výdeje (70). Další studie prokázala zvýšení srdečního indexu a ejekční frakce, která přetrvávala zvýšená po dobu šestihodinové infuze, ke zvýšení tepové frekvence docházelo pouze po dobu 1 hodiny od podání apelinu (71). U žádné látky s pozitivním inotropním efektem dosud nebyl prokázán jednoznačný benefiční efekt na přežívání u srdečního selhání se systolickou dysfunkcí LK ačkoli bylo provedeno mnoho klinických studií s těmito látkami. Apelin se jeví jako potenciální atraktivní kandidát k přidání ke standardní terapii chronického srdečního selhání bez zásadních obav z reflexní tachykardie a závažné hypotenze. Slibné se zdají být zejména jeho opozitní účinky na RAAS systém, což je i vlastní terapeutický cíl dosud běžně používaných medikamentů v léčbě srdečního selhání. Ve prospěch apelinu by mohly hrát roli i jeho zmírňující účinky jak na angiotensinem-2 indukovanou srdeční fibrózu (72), tak na apoptózu kardiomyocytů následkem ischemie (73).

### **Apelin a plicní arteriální hypertenze**

Pacienti s plicní arteriální hypertenzí mají nižší plasmatické hladiny apelinu a sníženou expresi apelinu v plicních endoteliálních buňkách (74). Chronická terapie apelinem zmírňuje plicní hypertenzi a zvyšuje kontraktilitu selhávající pravé komory srdeční u myší s plicní hypertenzí navozenou monocrotalinem a hypoxií (68). Není nicméně jasné, zdali je tento efekt způsoben poklesem v cévní vaskulární rezistenci a tlaku v pravé komoře srdeční nebo přímým efektem na svalovinu pravé komory srdeční (72). Akutní vasodilatační efekt apelinu na plicní arterie je nízký (10-17%) a ještě nižší je u osob s plicní hypertenzí, což ovšem nevylučuje, že chronické podávání apelinu může přinést dobré výsledky v léčbě plicní arteriální hypertenze, jak prozatím ukázaly animální studie.

U pacientů s esenciální a maskovanou arteriální hypertenzí byly prokázány vyšší hladiny apelinu ve srovnání s normotenzními osobami (75). Podávání apelinu krysám s deoxykortikosteronem indukovanou hypertenzí vedlo k poklesu krevního tlaku inhibicí RAAS (renin-angiotenzin-aldosteron) systému (76). I přes spoustu nezodpovězených otázek se jeví terapeutický potenciál apelinu značný a to zejména v léčbě srdečního selhání a plicní hypertenze.



**Obrázek č. 6:** Vliv apelinu na srdce a cévy

### 1.2.7 Adiponektin

Adiponektin (ANP) je považován za antiaterosklerotický faktor, který inhibuje proliferaci a migraci hladkých svalových buněk, inhibuje přeměnu makrofágů na pěnové buňky, potlačuje produkci reaktivních kyslíkových radikálů a zvyšuje produkci NO. Adiponektin působí protektivně proti rozvoji chorob spojených s obezitou. Některé studie demonstrovaly inverzní vztah mezi hladinami adiponektinu a markery zánětu včetně CRP. Hladiny adiponektinu jsou pozitivně asociovány s HDL, negativně s TAG. Ve většině studií jsou hladiny adiponektinu sníženy u osob s obezitou oproti štíhlým osobám. Pokud se obezita kombinuje s diabetem mellitem 2. typu, případně s prokázanou koronární aterosklerózou, dosahují hladiny adiponektinu ještě nižších hodnot (77,78). U pacientů s angiograficky dokumentovanou koronární aterosklerózou nebo akutním koronárním syndromem byla zjištěna hypoadiponektinémie (79,80). Tato asociace platí retrospektivně u pacientů s již prokázanou koronární aterosklerózou, jiná je ovšem situace u prospektivního sledování, kde jsou výsledky studií značně nekonzistentní. Podle některých metaanalýz neexistuje asociace mezi hladinou adiponektinu a rizikem kardiovaskulárních chorob (81-83), jiné ukazují na opak (84,85) (Obrázek č. 7). V současné době tedy nelze považovat adiponektin jako prediktor kardiovaskulárních chorob. Vysvětlení pro tento fenomén by mohlo tkvět v rozdílných efektech jednotlivých forem adiponektinu na kardiovaskulární systém. Struktura adiponektinu je komplexní, vyskytuje se v několika isoformách – nízkomolekulární hexamer (LMW, low molecular weight) a vysokomolekulární formy (HMW, high molecular weight, nejčastěji 8mer). Je produkován adipocyty a v séru dosahuje mnohonásobně vyšších koncentrací, nežli je tomu u ostatních adipokinů. Je vázán třemi receptory - AdipoR1, AdipoR2 a T-cadherinem. AdipoR1 se vyskytuje zejména v kosterním svalstvu, zatímco adipoR2 je exprimován především v játrech. Role AdipoR1 a AdipoR2 u srdečního svalu není zatím zcela objasněna. T-cadherin je exprimován ubikvitózně, nejvyšší exprese dosahuje v aortě, karotidách, ilických a ledvinných tepnách a také v sarkolemě kardiomyocytů, kde váže adiponektin s vysokou molekulární hmotností (86). U T-cadherin

deficientních myší nedochází k asociaci adiponektinu s myokardem a jeho hladiny dramaticky rostou v cirkulaci. Tlakové přetížení (indukované transaortickou konstrikcí) vede u T-cadherin deficientních myší k exacerbaci hypertrofie LK stejně tak jako u adiponektin deficientních myší. Tento rozdíl je statisticky významný v porovnání se zdravými kontrolami (86). Během ischemicko-reperfúzního poškození zvyšuje absence T-cadherinu rozsah IM podobně jako absence adiponektinu (86).

T-cadherin je více exprimován v aterorezistentních, nežli na aterosklerózu citlivých koronárních arteriích (87). Výzkum naznačuje, že protektivní funkci zastává HMW (čemuž nasvědčuje i to, že T-cadherin váže pouze HMW – viz výše) a naopak je pravděpodobné, že LMW má škodlivé a prozánětlivé účinky a je také spojován s IR. Je proto vhodné měřit poměr HMW k celkovému adiponektinu (88). Rozdílné funkce a vlivy isomerů ANP by mohli přispět k vysvětlení diskrepancí v klinických studiích.

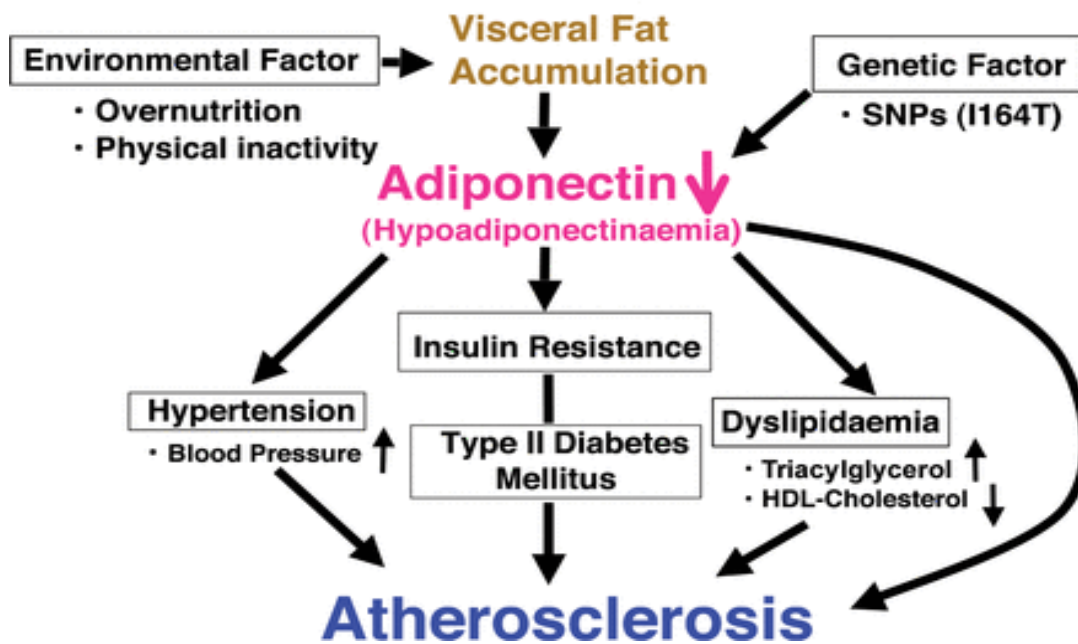
Snížené hladiny ANP jsou asociovány s hypertenzí prostřednictvím různých mechanismů, jež zahrnují hyperaktivitu systému renin-angiotenzin-aldosteron a sympatického nervového systému, endoteliální dysfunkci a postižení renální tlakové natriurézy. Očekávalo by se, že hypoadiponektinemie by měla být spojena s hypertenzí u obézních osob, některé práce ovšem prokázaly, že hypoadiponektinemie by mohla vést k rozvoji hypertenze i u osob štíhlých (89). Léčba vysokými dávkami candesartanu je spojena se signifikantním poklesem poměru leptin/adiponektin v séru (LA-ratio) a vede ke zvýšení cirkulujících hladin adiponektinu (90). V další studii bylo prokázáno zvýšení ANP jak při užívání AT1 blokátoru, tak při užívání ACEi (91). Další terapeutické intervence, které mohou ovlivnit produkci adiponektinu, shrnuje obrázek č. 8.

Přes výše popsané kardioprotektivní vlivy adiponektinu byly popsány nemoci a patologické stavy, které korelovaly pozitivně s hladinami ANP. Zajímavý je průkaz zvýšených hladin adiponektinu u pacientů s chronickým srdečním selháním (92,80). Zde se nabízí vysvětlení hned několik, jedním z nich by mohla být rezistence k adiponektinu (92). U pacientů s chronickým srdečním selháním je

zvýšena exprese ANP ve skeletálních svalech a cestou deaktivace PPAR/AMP signálu je naopak snížena exprese AdipoR1. Vysoké hladiny ANP by tak mohly být vysvětleny rezistencí k ANP. Také byla prokázána pozitivní korelace mezi hladinou ANP a natriuretických peptidů a podle některých studií natriuretické peptidy dokonce zvyšují sekreci ANP (93).

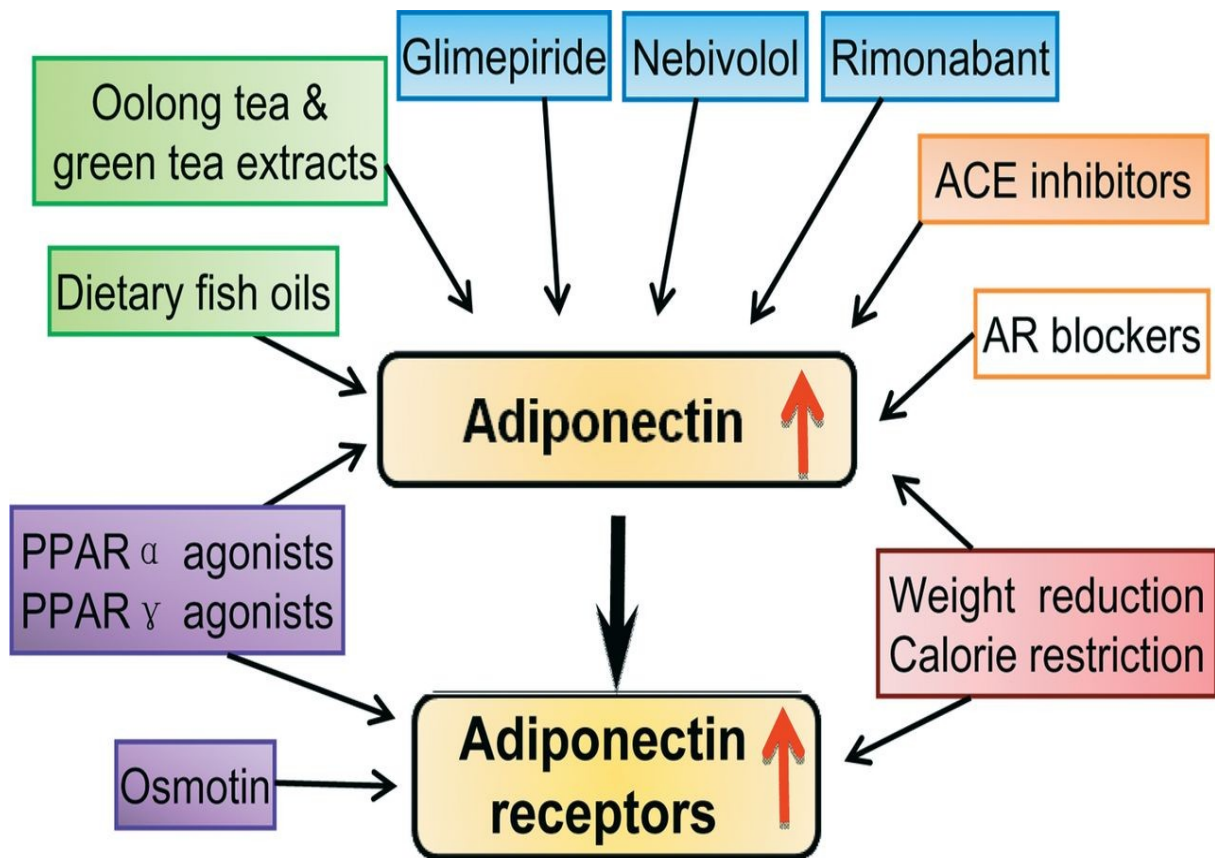
Snížená biologická odpověď na ANP se zřejmě může uplatnit i v úvodní periodě po IM, kdy dochází k rozvoji remodelace LK a srdečního selhání. Wang a Gao prokázali, že se po infarktu myokardu fosforyluje AdipoR1, což brání efektu ANP, ten tak nemůže v myokardu uplatnit svou metabolickou regulaci i protizánětlivé a kardioprotektivní účinky (94). U pacientů s renální dysfunkcí je snížena clearance ANP a jeho hladiny jsou zvýšené a korelují s hladinou celkového cholesterolu. Toto zvýšení hladiny adiponektinu by mohlo mít pozitivní vliv ve zmírnění endoteliálního poškození spouštěného dyslipidemií a ostatními rizikovými faktory (95).

# Metabolic Syndrome



Obrázek č. 7: Schéma rozvoje a potenciálních klinických dopadů hypoadiponektinémie

Zdroj: <http://www.clinsci.org/content/110/3/267.figures-only>



**Obrázek č. 8:** Intervence ovlivňující produkci adiponektinu nebo up-regulaci adiponektinového receptoru. Zdroj: <http://www.clinsci.org/content/114/5/361>

### 1.2.8 Další adipokiny s potenciálně významnými kardiovaskulárními efekty

**Fibroblastový růstový faktor (FGF-21)** je faktor uplatňující se v metabolismu lipidů a sacharidů a je považován za marker metabolického syndromu a srdečních chorob. Je produkován tukovou tkání, játry a dle nejnovějších výzkumů také kardiomyocyty, kde se může uplatnit autokrinním působením. FGF-21 zlepšuje inzulínovou sensitivitu, glukózový reuptake, snižuje lipogenezi a oxidaci lipidů (96). Zvýšené hladiny FGF-21 jsou asociovány s přítomností aterosklerózy, ischemické choroby srdeční, kardiální hypertrofie, diabetické kardiomyopatie (96). Zvýšená exprese FGF-21 je odpovědí na kardiální infarkt, kterým je např. experimentálně vyvolaná hypertrofie myokardu nebo srdeční infarkt v animálních studiích (97). Jeho hladiny se tedy velmi pravděpodobně zvyšují z důvodu zabránění další progresi kardiálního poškození či dokonce jeho zvrácení.

**Chemerin** reguluje diferenciaci adipokinů, hraje roli v chemotaxi dendritických buněk a makrofágů do místa zánětu (98). Jeho hladiny jsou pozitivně korelovány s BMI, krevním tlakem, triacylglyceroly, LDL, negativně s HDL (99). Vzhledem ke svému chemotaktickému působení na makrofágy, vlivu na hladinu cholesterolu a triacylglycerolů a snížení produkce NO (100) je chemerin považován za adipokin úzce spjatý s rozvojem aterosklerózy. Některé studie udávají pozitivní korelaci mezi hladinou chemerinu a ICHS, jiné prokázaly zvýšené hladiny chemerinu pouze u akutního koronárního syndromu a nikoliv u pacientů s chronickou ICHS (101).

**C-reaktivní protein (CRP)** je protein akutní fáze. Dříve byly za místo jeho produkce považovány výhradně játra, později se ukázalo, že je exprimován i v tukové tkáni. Pro účely stanovení rizika kardiovaskulárních onemocnění se experimentálně stanovuje tzv. hsCRP (high sensitivity CRP), kdy hodnoty 1-3mg/l značí střední riziko kardiovaskulárního onemocnění, hodnoty nad 3mg/l riziko vysoké. Rozdíly v individuálním kardiovaskulárním riziku byly v minulosti popsány v rozsáhlých epidemiologických studiích, naproti tomu novější data z genetických studií kauzativní roli CRP v rozvoji kardiovaskulárních chorob zpochybňují (102). Problémem je, že koncentrace hsCRP souvisí



s většinou rizikových faktorů kardiovaskulárních nemocí. Roste se vzrůstající hmotností, je vyšší u mužů než u žen a také vyšší u kuřáků. Snížení hladin CRP užíváním CRP inhibitorů v kontrolovaných klinických studiích je jednou z mála možností, jež by mohla potvrdit nebo vyvrátit kauzativní roli CRP v rozvoji kardiovaskulárních chorob (103).

**Retinol binding protein 4 (RBP4)** je adipokin, který hraje důležitou roli v rozvoji inzulinové rezistence a diabetu mellitu 2. typu. V krvi působí jako nosič retinolu, který přenáší z jater do periferních tkání. Jeho hladiny jsou zvýšené u pacientů s ICHS. Dokonce bylo prokázáno, že 1 z polymorfismů genu pro RPB4 je spojen s ICHS v čínské populaci. Zde je ovšem na místě zmínit, že přítomnost tohoto lokusu nevyovídala o závažnosti koronární aterosklerózy (104).

**Vaspin** patří do rodiny serinových proteáz a je produkován převážně viscerální tukovou tkání. Jeho hladiny jsou zvýšené u osob s DM a obezitou (105). U diabetiků zlepšuje citlivost tkání k inzulinu. Experimentální podávání vaspinu obézním myším snižovalo inzulinorezistenci, normalizovalo krevní glukózu a snižovalo příjem potravy (106). U diabetiků s ICHS jsou jeho hladiny signifikantně zvýšeny v porovnání s diabetiky bez ICHS (107).

### 1.3 Předčasná ateroskleróza a akutní infarkt myokardu u mladých pacientů

Kardiovaskulární choroby, především ischemická choroba srdeční, jsou v rozvinutých zemích nejčastější příčinou úmrtí. Roční incidence akutního infarktu myokardu je 1 na 250-500 obyvatel (108).

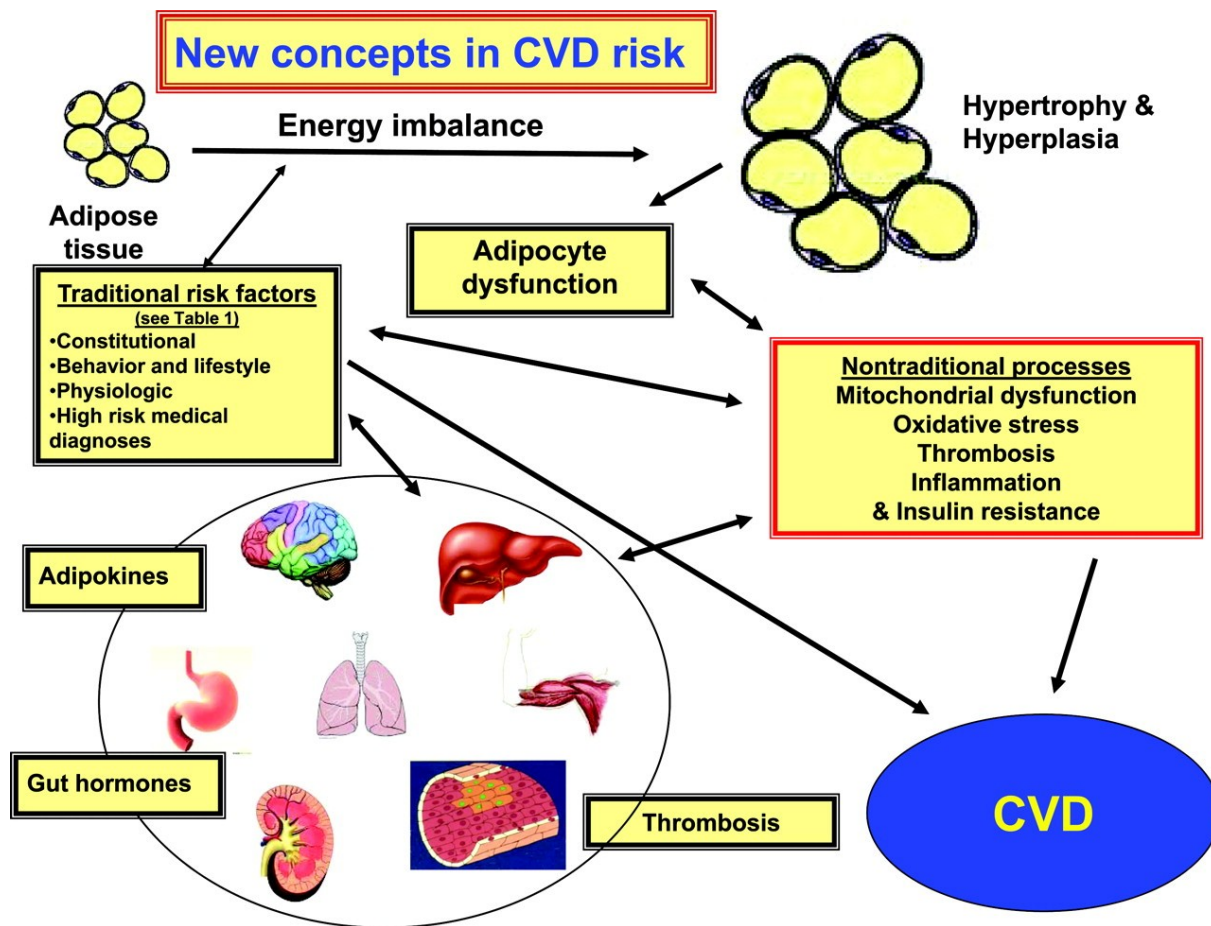
Infarkt myokardu častěji vzniká při ruptuře nestabilního a mladšího plátu, nežli v oblasti chronické léze více zužující lumen koronární tepny a tento fakt má v patogenezi IM u mladých osob zásadní význam. Čerstvé aterosklerotické pláty, které většinou nezužují významně lumen tepny, inklinují více k nestabilitě. Důvodem je větší lipidové jádro a tenký kryt s menším množstvím kolagenu nežli u chronických stabilních plátů. K infarktu myokardu u mladých osob tedy může dojít, a většinou také dochází, bez přítomnosti těžké chronické koronární aterosklerózy (výjimkou mohou být např. pacienti s familiární hypercholesterolemií či diabetem mellitem 1. typu). Postižena bývá často pouze jedna koronární tepna, u části pacientů se setkáváme dokonce s absencí makroskopického postižení koronárních arterií (angiograficky hladkostěnné tepny) (109,110). Jelikož nebývá vytvořeno kolaterální řečiště, je velmi často prvním projevem ICHS u mladých osob akutní infarkt myokardu, což může mít značně devastující následky. S klasickými projevy postupně se zhoršující anginy pectoris, jež může vyústit v IM, se setkáváme u mladých lidí zřídka.

Mezi rizikové faktory infarktu myokardu u mladých osob bez významných aterosklerotických změn koronárních tepen patří kouření, abusus drog (amfetamin, kokain), užívání anabolických steroidů, abusus alkoholu, akutní zánětlivé onemocnění, užívání hormonální antikoncepce u mladých žen, hyperkoagulační stavy (111,112). Je důležité si uvědomit, že relativní výskyt těchto rizikových faktorů je mnohem častější v mladší věkové skupině nežli u starších osob s IM a jejich účinky jsou aditivní. U pacientů s pokročilou aterosklerózou koronárních tepen se rizikové faktory pro AIM u mladých osob významně neliší od běžných rizikových faktorů pro aterosklerózu. U většiny pacientů zpravidla zjistíme dva nebo i více přítomných rizikových faktorů současně. Patří mezi ně zejména

genetická predispozice (např. familiární hypercholesterolemie), diabetes mellitus, arteriální hypertenze, abdominální obezita (obrázek č.8) a v neposlední řadě kouření.

Kouření je nejčastější rizikový faktor infarktu myokardu v mladší populaci. Kouření narušuje endotel, zvyšuje tonus sympatiku, podporuje agregaci trombocytů, zvyšuje celkový cholesterol, snižuje HDL cholesterol a narušuje stabilitu aterosklerotických plátů. U pacientů s minimálním nebo žádným aterosklerotickým postižením může způsobit spasmus nebo trombózu koronární arterie. Tyto děje jsou iniciovány zejména narušeným endotelem v důsledku dlouhodobého kouření. U pacientů s IM pod 45 let se procento kuřáků pohybuje mezi 60-80%, ve všeobecné populaci se přitom vyskytuje cca 30% kuřáků. Riziko kouření spočívá zejména v počtu vykouřených cigaret. Většina lidí začíná kouřit v dospívání a infarkt myokardu vznikne po 20-30 letech expozice dříve, než se začne manifestovat diabetes mellitus 2. typu nebo hypertenze.

Patofyziologie koronární aterosklerózy je multifaktoriální a tak je nutné pohlížet i na genetickou predispozici pro ni, tedy nikoliv klasicky pohledem mendelovské dědičnosti určitých genů pro aterosklerózu, ale zkoumáním genových polymorfismů pro kodování konkrétních proteinů spjatých s metabolickými procesy hrajícími roli v procesu aterosklerózy. Jako příklad můžeme uvést např. polymorfismus pro APO-E4, který je spojen s několikanásobně vyšším rizikem AIM v důsledku zvýšené hladiny sérového cholesterolu. Jedním z takových polymorfismů by mohl být i polymorfismus pro adipokiny. Obecně se má za to, že u většiny adipokinů převažují spíše efekty negativní (viz výše a obrázek č. 9). Doposud bylo objeveno jenom málo adipokinů s jednoznačně prokázanými pozitivními kardioprotektivními (protizánětlivými a antiaterosklerotickými) vlivy jako např. adiponektin, omentin a apelin (113).



**Obrázek č. 9:** Procesy podílející se na rozvoji kardiovaskulárních chorob v přítomnosti obezity. Následkem obezity dochází brzy na celulární úrovni k rozvoji dysfunkce adipocytů, ta může vést v důsledku vývíjející se mitochondriální dysfunkce, oxidativního stresu, trombózy, zánětu a inzulínové rezistence k manifestaci kardiovaskulárních chorob již v mladém věku. Zdroj: <http://circ.ahajournals.org/content/123/23/2749#T1>

## 2. Cíle práce

Hlavním cílem této práce bylo zjistit, zda nízká genová exprese protektivních adipokinů a vysoká exprese rizikových může být jednou z příčin předčasné manifestace ischemické choroby srdeční formou akutního infarktu myokardu. Tyto genové polymorfismy pro adipokiny nebyly doposud ve vztahu k akutnímu infarktu myokardu zkoumány.

Dalšími cíli bylo porovnání vztahu mezi mRNA genů pro adipokiny a jejich produkty (tedy koncentracemi příslušných adipokinů v séru) a zhodnocení, zda sérové hladiny cirkulujících adipokinů mohou sloužit jako ukazatel patologických stavů a chorob spojených s obezitou, metabolickými a kardiovaskulárními chorobami.

Jednotlivé konkrétní cíle práce byly stanoveny takto:

1. Prokázat, zda lze stanovit expresi adipokinů v leukocytech periferní krve.
2. Porovnat expresi adipokinů v leukocytech periferní krve u pacientů po infarktu myokardu, pacientů s metabolickým syndromem a zdravé kontrolní skupiny.
3. Porovnat sérové hladiny adipokinů v leukocytech periferní krve u pacientů po infarktu myokardu, pacientů s metabolickým syndromem a zdravé kontrolní skupiny.
4. Porovnat exprese adipokinů v leukocytech periferní krve s hladinami adipokinů v séru.
5. Porovnat exprese adipokinů v leukocytech a v periferní tukové tkáni.

### 3. Metodika

Prospektivně bylo vyšetřeno 65 pacientů, kteří prodělali akutní infarkt myokardu v mladém věku (muži ve věku 18-45 let a ženy 18-55 let). Akutní infarkt myokardu byl definován dle standardních kritérií (dle ESC guidelines) jako detekce vzestupu a/nebo poklesu hodnot srdečních biomarkerů (nejlépe srdečního troponinu [cTn]), když alespoň jedna hodnota přesahuje 99. percentil pro normální referenční populaci a je přítomen alespoň jeden z následujících: symptomy ischemie myokardu, nové nebo předpokládaně nové významné změny úseku ST – vlny T (ST–T) nebo nově vzniklá blokáda levého Tawarova raménka (BLRT); vývoj patologických kmitů Q v EKG záznamu; zobrazení nové ztráty viabilního myokardu či nové regionální poruchy hybnosti srdeční stěny; identifikace intrakoronárního trombu při angiografii nebo pitvě (114).

Jedná se o pacienty, kteří byli hospitalizováni na I. Interní klinice - kardiologické FN Olomouc pro akutní infarkt myokardu v období od roku 2006 po rok 2013. Z celkového počtu 65 pacientů prodělalo 52 pacientů akutní infarkt myokardu s ST elevacemi (STEMI) a zbývajících 13 akutní infarkt myokardu bez ST elevací (NSTEMI). Krevní odběry byly provedeny 31 pacientům v době hospitalizace pro akutní infarkt myokardu (tedy v akutní fázi), 34 pacientům byla krev odebrána během ambulantní kontroly v chronické fázi ischemické choroby srdeční s odstupem několika měsíců až let od infarktu myokardu. Kontrolní soubor tvořilo 125 pacientů dispenzarizovaných na Metabolické ambulanci nemocnice Prostějov - 75 pacientů s metabolickým syndromem a 50 zdravých kontrol (Tabulka 1). Projekt byl schválen etickou komisí, všichni zařazení pacienti podepsali informovaný souhlas.

**Tabulka 1.** Soubor vyšetřených pacientů s infarktem myokardu a v kontrolní skupině

Infarkt myokardu		Kontrolní skupina	
STEMI	NSTEMI	Metabolický syndrom	Zdravá kontrolní skupina
52	13	75	50

### 3.1. Stanovení exprese adipokinů v leukocytech periferní krve

Pacientům byla odebrána krev z kubitální žíly do stabilizačních zkumavek Tempus po několika minutách klidu vsedě. Periferní krev byla uložena do zkumavek (Tempus, Qiagen) se stabilizačním roztokem. Pro izolaci RNA byl použit Tempus Spin RNA isolation reagent kit (Qiagen), vyzolovaná RNA byla přepsána do cDNA (transcription kit iSGRIPT, BioRad). Vyšetřili jsme expresi adipokinů v leukocytech periferní krve a v podkožním tuku pomocí qPCR komerčních sad v reálném čase s použitím TaqMan detekční sondy (LC 480II, BioVendor kity). Každý vzorek byl analyzován ve dvou vyhotoveních. Parametry PCR cyklu jsou uvedeny v tabulce 2. Pro výpočet konečných výsledků jsme použili metodu absolutní kvantifikace. Analýza exprese mRNA z leukocytů periferní krve byla provedena a zpracována u následujících 24 genů: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein (AFABP, FABP4), Leptin, Leptin receptor, Adiponectin, Adiponectin receptor 1, Adiponectin receptor 2, Angiopoien-like 3, Angiopoien-like 4, Chemerin, Fibroblast growth factor 19, Fibrioblast growth factor 21, Glucagon-like peptide 1, Insulin, Insulin receptor, Interleukin 6, Lipocalin 2, MCP-1, Omentin-1, Resistin, Retinol binding protein 4, TNF-alfa, Vaspin, Visfatin, ZAG a jako housekeeping gen byl vyšetřen Beta-2-microglobulin.

**Tabulka 2.** Parametry PCR cyklu

		Teplota (°C)	Čas	Cykly
Iniciace		95	3min	1
Denaturace		95	10s	50
Elongace	Fluorescenční akvizice	60	30s	50

### 3.2. Stanovení koncentrace adipokinů v séru

Sérové koncentrace adipokinů byly stanoveny metodou ELISA u následujících 11 adipokinů:

Adipocyte fatty-acid-binding protein (AFABP, FABP4), Adiponektin, Leptin, Leptin receptor,

Fibriblast growth factor 21, Omentin-1, Resistin, Retinol binding protein 4, Vaspin, Visfatin, ZAG2.

Vzorky séra byly odděleny v chlazené odstředivce (4 °C) při 3000g za dobu 20 minut a uchovány při -80 °C. Čas mezi odběrem krve a centrifugací byl standardizován v rozmezí 15-30 min. Sérové hladiny adipokinů byly stanoveny kvantitativně sendvičovou analýzou ELISA (Max002 Dynatech, Biovendor, Brno, Česká republika).

Standards, kontroly kvality a vzorky byly inkubovány při 37 °C v mikrotitračních jamkách předem potažených polyklonálními anti-humánními adipokinovými protilátkami. Po 120 minutách inkubace a promývání byl přidán biotin označený polyklonální anti-humánní protilátkou a inkubován při 37 °C se zachycenými adipokiny po dobu 30 minut. Po dalším promývání byl přidán konjugát streptavidin-HRP. Po 30 minutách inkubace při 37 °C a po posledním promývání jsme nechali zbývající konjugát reagovat s roztokem substrátu (TMB). Reakce byla zastavena přidáním kyselého roztoku a byla změřena absorbance výsledného žlutého produktu. Pro testování spolehlivosti testu jsme testovali limit detekce a přesnost testu. Meze detekce testu byla 0,5 mg/l a mez kvantifikace (analytický limit detekce vynásobený zředěním vzorku) byla 1,1 mg/l; intra-assay variační koeficient (CV) byl menší než 6% a inter-assay variační koeficient (CV) byl vždy nižší než 12%.



### 3.3 Statistická analýza

K analýze byly použity standardní popisné statistické metody - medián doplněný o 5. - 95. percentil nebo min-max rozsah byl použit pro všechny kontinuální proměnné. V analýze byly použity neparametrické testy z důvodu nenormální distribuce proměnných; Kruskal-Wallisův a Mann-Whitneyův test pro srovnání mezi skupinami pacientů, Wilcoxonův párový test pro analýzu párových dat a Spearmanův korelační koeficient a jeho statistická významnost pro analýzu vztahu mezi kontinuálními proměnnými. Prediktivní hodnota sérové koncentrace adipokinů a mRNA exprese adipokinů pro onemocnění koronárních tepen byla analyzována pomocí ROC analýzy a popsána pomocí standardní sady parametrů (AUC a její statistická významnost, senzitivita, specificita, mezní hodnota s nejvyšším součtem senzitivity a specificity). Analýza byla provedena pomocí softwaru SPSS 25.0.0.0 (IBM Corporation, 2015) a za statisticky významnou byla považována hodnota  $P < 0,05$ .

## 4. Výsledky

Postupně budou rozebrány výsledky stanovení exprese adipokinů, stanovení koncentrace adipokinů v séru, porovnání exprese adipokinů v leukocytech a v tuku, vztah koncentrace adipokinů v séru a exprese mRNA v leukocytech periferní krve, vztah koncentrace adipokinů v séru a ICHS, vztah exprese mRNA adipokinů a ICHS.

### 4.1. Exprese adipokinů

Pomocí Kruskal-Wallisova testu jsme porovnávali exprese mRNA u tří kohort pacientů: 65 jedinců s akutním infarktem myokardu (AIM), 75 jedinců s metabolickým syndromem a 50 zdravých osob (tabulka 3). U řady adipokinů nebyla jejich exprese mRNA v leukocytech periferní krve detekovatelná: Adiponektin, Angiopoien-like 4, Chemerin, Fibrioblast growth factor 19, Glucagon-like peptide 1, Vaspin a a-ZAG.

Prokázali jsme významné zvýšení exprese AFABP u osob s ICHS i metabolickým syndromem oproti zdravým jedincům. Medián hodnot mRNA exprese AFABP ve skupině s infarktem myokardu byl 83 ng/μl, u pacientů s metabolickým syndromem 69 ng/l a ve skupině zdravých kontrol 13ng/l ( $P<0,01$ ). Nebyla nalezena korelace mezi expresí genu pro AFABP a hladinou jeho produktu (AFABP) v séru u pacientů s akutním infarktem myokardu.

Osoby s ICHS měly signifikantně vyšší koncentrace mRNA leptinového receptoru, které byly signifikantně vyšší také u osob s metabolickým syndromem oproti zdravým kontrolám ( $P<0,01$ ). Pacienti po prodělaném infarktu myokardu měli významně vyšší expresi Retinol Binding Proteinu 4 oproti pacientům s metabolickým syndromem a zdravým kontrolám.

## 4.2. Stanovení koncentrace adipokinů v séru

Koncentrace adipokinů v séru jsou uvedeny v tabulce 4. Nalezli jsme zvýšené koncentrace visfatinu u osob s ICHS (medián 2,3  $\mu\text{g/l}$ ) oproti pacientům s metabolickým syndromem (median 1,6  $\mu\text{g/l}$ ) a zdravým kontrolám (median 0,7  $\mu\text{g/l}$ ) ( $P < 0,001$ ). Dále byly nalezeny významně snížené koncentrace omentinu-1 v séru u pacientů s předčasnou ICHS (103.1  $\mu\text{g/l}$ ) ve srovnání se skupinou s metabolickým syndromem (587,0  $\mu\text{g/l}$ ) a skupinou zdravých kontrol (552,3  $\mu\text{g/l}$ ) ( $P < 0,001$ ). Podobných výsledků bylo dosaženo také u ZAG2 (45,5 vs. 72,5 vs. 77,1  $\text{mg/l}$ ,  $P < 0.001$ ). U pacientů, kterým byly krevní vzorky odebrány v akutní fázi infarktu myokardu ( $n = 28$ ;  $110.3 \pm 82.4 \mu\text{g/L}$ ) se hladiny omentinu-1 významně nelišily od hladin u pacientů vyšetřených v chronické fázi několik měsíců až let po infarktu myokardu ( $n = 33$ ;  $97.0 \pm 39.3 \mu\text{g/L}$ ) ( $P = 0,41$ ). Za povšimnutí stojí také vysoké koncentrace AFABP, FGF-21 a leptinu v séru ve skupině s metabolickým syndromem ve srovnání se skupinou zdravých kontrol. Leptin a FGF-21 měli ale na rozdíl od AFABP zvýšené hladiny i ve skupině s ICHS.

**Tabulka 3.** Hodnoty exprese adipokinové mRNA v leukocytech periferní krve

	Medián (5-95% kvantil)			P <sup>1</sup>
	Pacienti po AIM (N=65)	Pacienti s metabolickým syndromem (N=75)	Zdraví dárce krve (N=50)	
Beta-2-micro housekeepg gen	716 000 (109-6 790 000) <sup>a</sup>	2 230 000 (339 000-4 570 000) <sup>b</sup>	640 000 (342 000-2 710 000) <sup>a</sup>	< <b>0,001</b>
Adipocyte FABP	83 (0-2 090) <sup>a</sup>	69 (0-3 180) <sup>a</sup>	13 (0-1 150) <sup>b</sup>	<b>0,002</b>
Adiponectin	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000
Adiponect receptor 1	391 000 (0-5 510 000)	387 000 (214 000-3 690 000)	330 500 (153 000-1 890 000)	0,063
Adiponect receptor 2	17 100 (0-3 310 000)	17 400 (0-2 310 000)	13 550 (0-1 420 000)	0,268
Angiopoin-like 3	26 (0-1 030)	27 (0-1 110)	22 (0-756)	0,991
Angiopoin-like 4	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,098
Chemerin	0 (0-89)	0 (0-73)	0 (0-5,0)	0,255
Fibrioblast growth factor 19	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000
Fibroblast growth factor 21	0 (0-1 270)	0 (0-498)	0 (0-208)	0,209
Glucagon-like peptide 1	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,459
Insulin	0 (0-449)	0 (0-495)	0 (0-250)	0,153
Insulin receptor	9 240 (0-147 000)	9 150 (1 760-115 000)	10 225 (2 140-309 000)	0,344
Interleukin 6	55 (0-2 180)	68 (0-2 530)	65 (0-278)	0,196
Leptin	16 400 (0-97 600)	11 900 (0-110 000)	17 200 (0-80 400)	0,814
Leptin receptor	5 690 (0-3 850 000) <sup>ab</sup>	6 300 (0-5 180 000) <sup>a</sup>	1 750 (0-988 000) <sup>b</sup>	<b>0,001</b>
Lipocalin 2	5 240 (0-153 000)	8 200 (1 410-189 000)	4 740 (1 790-40 400)	0,087
MCP-1	46 (0-2 310)	127 (0-1 010)	66 (0-1 260)	0,077
Omentin-1	1 520 (0-13 000)	1 180 (0-9 770)	910 (0-4 780)	0,855
Resistin	9 030 (0-58 400)	5 590 (0-111 000)	5 100 (0-68 300)	0,533
Retinol Binding Protein 4	393 (0-6 030) <sup>a</sup>	129 (0-3 350) <sup>ab</sup>	35 (0-1 710) <sup>b</sup>	<b>0,013</b>
TNF-alfa	116 000 (0-1 920 000)	113 000 (24 200-1 560 000)	112 500 (34 500-1 000 000)	0,921
Vaspin	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,382
Visfatin	294 000 (51-3 000 000)	218 000 (84 000-1 940 000)	189 500 (82 300-553 000)	0,069
a-ZAG	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,648

<sup>1</sup> p-hodnota Kruskalova-Wallisova testu

<sup>a, b</sup> Stejná písmena značí nesignifikantní rozdíl mezi dvěma skupinami (p-hodnota Mannova-Whitneyho testu > 0,05)

**Tabulka 4.** Koncentrace adipokinů v séru

	Medián (5-95% kvantil)			p <sup>1</sup>
	Pacienti po AIM (N=65)	Pacienti s metabolickým syndromem (N=75)	Zdraví dárce krve (N=50)	
AFABP ELISA (ug/l)	12,3 (2,7-28,4) <sup>a</sup>	22,3 (8,8-49,8) <sup>b</sup>	10,8 (1,0-27,7) <sup>a</sup>	< <b>0,001</b>
Adiponektin ELISA (mg/l) x10	6,0 (2,4-15,1)	6,6 (2,4-14,8)	8,6 (1,0-17,5)	0,393
LEPTIN ELISA (ug/l)	7,0 (1,0-30,3) <sup>ab</sup>	12,2 (2,5-61,4) <sup>a</sup>	3,3 (0,6-21,2) <sup>b</sup>	< <b>0,001</b>
Leptin Receptor ELISA (ug/l)	14,8 (7,5-26,5) <sup>a</sup>	9,5 (4,1-25,2) <sup>b</sup>	14,5 (1,0-23,8) <sup>ab</sup>	<b>0,001</b>
FGF-21 ELISA (ng/l) x2	197,1 (49,8-1 481,7) <sup>ab</sup>	344,6 (85,6-1 102,1) <sup>b</sup>	124,2 (9,5-520,9) <sup>a</sup>	< <b>0,001</b>
RESISTIN ELISA (ug/l)	4,0 (2,3-13,2) <sup>a</sup>	5,2 (3,0-9,3) <sup>b</sup>	4,0 (1,9-6,9) <sup>a</sup>	<b>0,003</b>
VASPIN ELISA (ug/l) x3	0,1 (0,1-0,4)	0,1 (0,0-0,8)	0,1 (0,0-0,3)	0,055
RBP4 ELISA (mg/l) x100	45,9 (21,1-78,7)	47,4 (27,3-79,4)	47,8 (18,6-81,9)	0,853
Omentin ELISA (ug/l) x40	103,1* (36,3-206,7) <sup>b</sup>	587,0 (236,6-1 256,8) <sup>a</sup>	552,3 (268,9-1 750,2) <sup>a</sup>	< <b>0,001</b>
Visfatin ELISA (ug/l)	2,3 (0,3-20,3) <sup>a</sup>	1,6 (0,2-8,2) <sup>ab</sup>	0,7 (0,2-2,4) <sup>b</sup>	< <b>0,001</b>
ZAG2 ELISA (mg/l) x 1000	45,5 (33,0-74,0) <sup>b</sup>	72,5 (25,1-112,9) <sup>a</sup>	77,1 (52,4-106,6) <sup>a</sup>	< <b>0,001</b>

<sup>1</sup> p-hodnota Kruskalova-Wallisova testu

<sup>a, b</sup> Stejná písmena značí nesignifikantní rozdíl mezi dvěma skupinami (p-hodnota Mannova-Whitneyho testu > 0,05)

\*Hodnocení koncentrace omentinu v séru bylo provedeno u 61 pacientů po AIM

### **4.3. Porovnání exprese adipokinů v leukocytech a v tuku**

Celkem deseti pacientům s ICHS byl odebrán perikardiální tuk během kardiochirurgické operace (CABG) a současně u nich byla odebrána krev ke stanovení exprese adipokinů v leukocytech periferní krve a v perikardiálním tuku. Některé adipokiny byly více exprimovány v leukocytech, jiné v tuku (tabulka 5). Příčiny nejsou jasné, je ovšem třeba přihlídnout k faktu, že výsledky mohou být ovlivněny malými počty pacientů v porovnávaných skupinách (N=10)

### **4.4. Vztah koncentrace adipokinů v séru a exprese mRNA v leukocytech periferní krve**

Srovnali jsme také vztah mezi expresí mRNA genů pro adipokiny a koncentracemi jejich produktů (adipokinů) v séru (tabulku 6). Byla zjištěna statisticky významná pozitivní korelace ve zdravé skupině mezi expresí mRNA a koncentrací visfatinu ( $p < 0,001$ ), receptoru pro adiponektin 2 ( $P < 0,002$ ), u omentinu-1 byla pozitivní korelace ve skupině s metabolickým syndromem ( $p < 0,04$ ), dále negativní korelace u leptinu ve zdravé skupině ( $p = 0,049$ ). Zjistili jsme také negativní souvislost mezi koncentrací adiponektinu a expresí receptorů pro adiponektin 1 a 2 ve skupině s metabolickým syndromem ( $p < 0,001$  a  $p = 0,04$ ).

**Tabulka 5.** Rozdíl mezi expresí adipokinů v periferní krvi a v tuku (N=10)

	Medián (min-max)		p <sup>1</sup>
	Periferní krev	Tuk	
<b>Beta-2-micro housekeepg gen</b>	684 000 (393 000-947 000)	46 550 (22 600-66 800)	<b>0,005</b>
<b>Adipocyte FABP</b>	52 (4-593)	905 000 (497 000-2 360 000)	<b>0,005</b>
<b>Adiponectin</b>	0 (0-0)	2 307 500 (1 640 000-5 785 000)	<b>0,005</b>
<b>Adiponect receptor 1</b>	398 500 (164 000-650 000)	3 050 (1 370-9 020)	<b>0,005</b>
<b>Adiponect receptor 2</b>	11 800 (117-56 700)	11 750 (4-43 800)	0,959
<b>Angiopoien-like 3</b>	112 (15-1 360)	88 (17-1 380)	0,721
<b>Angiopoien-like 4</b>	0 (0-0)	24 900 (12 400-41 400)	<b>0,005</b>
<b>Chemerin</b>	0 (0-0)	17 175 (10 285-50 250)	<b>0,005</b>
<b>fibrioblast growth factor 19</b>	0 (0-0)	0 (0-0)	-
<b>Fibroblast growth factor 21</b>	0 (0-0)	0,0 (0-10)	0,157
<b>Glucagon-like peptide 1</b>	0 (0-0)	0 (0-0)	-
<b>Insulin</b>	0 (0-15)	0 (0-15)	0,715
<b>Insulin receptor</b>	5 635 (2 300-19 500)	8 980 (3 180-23 100)	0,203
<b>Interleukin 6</b>	36 (10-198)	41 (11-142)	0,575
<b>Leptin</b>	24 800 (3 180-167 000)	11 880 (2 910-115 000)	0,059
<b>Leptin receptor</b>	1 485 (155-4 800)	463 000 (182 000-905 000)	<b>0,005</b>
<b>Lipocalin 2</b>	3 730 (1 670-13 200)	45 (0-427)	<b>0,005</b>
<b>MCP-1</b>	26 (0-1 630)	1 365 (483-16 700)	<b>0,007</b>
<b>Omentin-1</b>	1 555 (411-2 580)	17 (0-1 030)	<b>0,005</b>
<b>Resistin</b>	1 527 (0-7 900)	0 (0-0)	<b>0,028</b>
<b>Retinol Binding Protein 4</b>	42 (0-314 000)	210 000 (99 700-383 000)	<b>0,022</b>
<b>TNF-alfa</b>	145 000 (74 600-215 000)	4 125 (370-13 800)	<b>0,005</b>
<b>Vaspin</b>	0 (0-0)	0 (0-0)	-
<b>Visfatin</b>	282 500 (82 600-672 000)	3 320 (1 580-6 220)	<b>0,005</b>
<b>a-ZAG</b>	0 (0-0)	1 840 000 (104 000-13 300 000)	<b>0,005</b>

<sup>1</sup> p-hodnota párového Wilcoxonova testu

**Tabulka 6.** Vztah koncentrace adipokinu v séru a exprese mRNA v leukocytech periferní krve

	AIM	MetSy	Kontrola
<b>AFABP ELISA (ug/l)</b>			
<b>Adipocyte FABP</b>	0,172	-0,220	-0,010
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,189	0,156	0,953
<b>Adiponektin ELISA (mg/l) x10</b>			
<b>Adiponect receptor 1</b>	-0,104	-0,315	0,301
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,430	<b>0,040</b>	0,071
<b>Adiponect receptor 2</b>	0,089	-0,545	0,497
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,497	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>
<b>LEPTIN ELISA (ug/l)</b>			
<b>Leptin</b>	-0,092	-0,039	-0,318
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,485	0,803	<b>0,049</b>
<b>Leptin Receptor ELISA (ug/l)</b>			
<b>Leptin receptor</b>	0,026	-0,159	0,338
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,842	0,309	0,063
<b>FGF-21 ELISA (ng/l) x2</b>			
<b>Fibroblast growth factor 21</b>	-0,120	0,041	-0,227
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,360	0,792	0,184
<b>RESISTIN ELISA (ug/l)</b>			
<b>Resistin</b>	0,176	-0,237	0,183
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,182	0,127	0,271
<b>VASPIN ELISA (ug/l) x3</b>			
<b>Vaspin</b>	-0,099	/	/
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,452	/	/
<b>RBP4 ELISA (mg/l) x100</b>			
<b>Retinol Binding Protein 4</b>	0,005	0,134	-0,077
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,973	0,393	0,641
<b>Omentin ELISA (ug/l) x40</b>			
<b>Omentin-1</b>	-0,244	0,436	0,122
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,060	<b>0,004</b>	0,458
<b>Visfatin ELISA (ug/l)</b>			
<b>Visfatin</b>	0,160	0,077	0,515
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,222	0,625	<b>0,001</b>
<b>ZAG2 ELISA (mg/l) x 1000</b>			
<b>a-ZAG</b>	0,184	0,284	-0,029
<i>p</i> <sup>1</sup>	0,159	0,065	0,862

Spearmanův korelační koeficient je zobrazen v bílé linii, příslušné hodnoty P korelací ve žlutých řádcích



#### **4.5. Vztah koncentrace adipokinů v séru a ICHS**

Vztah koncentrace adipokinů v séru a ICHS je uveden v tabulce 7. Po provedení kalkulací ploch pod křivkou (AUC) bylo zjištěno, že pro diagnostiku ICHS má **největší diagnostickou efektivitu stanovení omentinu-1, ZAG2 a visfatinu s hodnotami AUC 0,972, 0,894 a 0,737 (P<0,001)**.

#### **4.6. Vztah exprese mRNA adipokinů a ICHS**

Vztah exprese mRNA adipokinů a ICHS je uveden v tabulce 8. Statisticky významný vztah byl nalezen pouze u Retinol Binding Proteinu 4 s nízkou diagnostickou hodnotou (AUC=0,614, P=0,01).

**Tabulka 7.** Vztah koncentrace adipokinu v séru a ICHS

	AUC (95% CI) <sup>1</sup>	<i>p</i> <sup>2</sup>	cut off	senzitivita	specificita
AFABP ELISA (ug/l)	0,611 (0,519; 0,703)	<b>0,024</b>	≤18,9	81,7	43,9
Adiponektin ELISA (mg/l) x10	0,542 (0,446; 0,638)	0,395	≤8,5	75,0	57,5
LEPTIN ELISA (ug/l)	0,524 (0,428; 0,620)	0,620	≤1,2	20,0	93,9
Leptin Receptor ELISA (ug/l)	0,656 (0,564; 0,748)	<b>0,002</b>	≥9,8	86,7	44,6
FGF-21 ELISA (ng/l) x2	0,515 (0,417; 0,613)	0,763	≤150	43,3	65,8
RESISTIN ELISA (ug/l)	0,589 (0,492; 0,685)	0,072	≤4,2	58,3	63,4
VASPIN ELISA (ug/l) x3	0,599 (0,503; 0,695)	<b>0,045</b>	≥0,05	100,0	45,0
RBP4 ELISA (mg/l) x100	0,515 (0,418; 0,612)	0,757	≤46,3	51,7	56,1
Omentin ELISA (ug/l) x40	0,972 (0,938; 1,000)	<b>&lt;0,001</b>	≤222	96,7	97,6
Visfatin ELISA (ug/l)	0,737 (0,653; 0,821)	<b>&lt;0,001</b>	≥1,0	83,3	52,5
ZAG2 ELISA (mg/l) x 1000	0,894 (0,785; 0,913)	<b>&lt;0,001</b>	≤51,7	73,3	86,6

<sup>1</sup>AUC - "area under the curve" ROC analýzy

<sup>2</sup>statistická významnost AUC

**Tabulka 8.** Vzťah exprese mRNA a ICHS

	AUC (95% CI) <sup>1</sup>	<i>p</i> <sup>2</sup>	cut off	senzitivita	specificita
Beta-2-micro housekeepg gen	0,552 (0,451; 0,653)	0,244	≤52410	25,0	100,0
Adipocyte FABP	0,526 (0,432; 0,620)	0,557	≥392	30,8	88,0
Adiponect receptor 1	0,523 (0,425; 0,621)	0,607	≤1345·10 <sup>2</sup>	29,2	97,6
Adiponect receptor 2	0,509 (0,410; 0,607)	0,846	≥1875·10 <sup>3</sup>	27,7	93,6
Angiopoien-like 3	0,504 (0,420; 0,588)	0,763	≥22,4	60,0	49,6
Angiopoien-like 4	0,512 (0,426; 0,598)	0,786	≤66,5	100,0	2,4
Chemerin	0,517 (0,429; 0,604)	0,704	≥7,5	15,4	89,6
Fibroblast growth factor 21	0,519 (0,426; 0,612)	0,673	≥19,2	35,4	80,8
Glucagon-like peptide 1	0,515 (0,428; 0,603)	0,733	≥3,17	4,6	98,4
Insulin	0,557 (0,470; 0,644)	0,195	≥12,4	36,9	78,4
Insulin receptor	0,563 (0,470; 0,656)	0,155	≤654	27,7	97,6
Interleukin 6	0,575 (0,481; 0,670)	0,089	≤16,6	40,0	88,0
Leptin	0,504 (0,409; 0,598)	0,930	≤1630	29,2	89,6
Leptin receptor	0,515 (0,419; 0,610)	0,743	≥105·10 <sup>4</sup>	35,4	85,6
Lipocalin 2	0,535 (0,439; 0,631)	0,428	≤879	24,6	99,2
MCP-1	0,586 (0,494; 0,678)	0,052	≤0,05	35,4	88,0
Omentin-1	0,516 (0,421; 0,611)	0,723	≥3015	32,3	80,8
Resistin	0,511 (0,424; 0,598)	0,799	≥5705	62,5	50,8
Retinol Binding Protein 4	0,614 (0,529; 0,699)	<b>0,010</b>	≥301	57,8	64,0
TNF-alfa	0,504 (0,407; 0,601)	0,928	≤18750	26,2	99,2
Vaspin	0,508 (0,241; 0,595)	0,862	≥34,0	1,5	100,0
Visfatin	0,560 (0,460; 0,660)	0,176	≥1265·10 <sup>3</sup>	35,4	91,2
a-ZAG	0,512 (0,426; 0,599)	0,778	≤11340	100,0	3,2

<sup>1</sup> AUC - "area under the curve" ROC analýzy

<sup>2</sup> statistická významnosť AUC

## 5. Diskuze

U pacientů s předčasnou ICHS jsme prokázali významně zvýšené koncentrace visfatinu a snížené koncentrace omentinu-1 a ZAG2 ve srovnání se skupinou s metabolickým syndromem a skupinou zdravých kontrol. Dále jsme prokázali, že expresi mRNA adipokinů lze kvantifikovat i v leukocytech periferní krve. Periferní leukocyty bývají překvapivě zdrojem mRNA genů, jejichž exprese převažuje v úplně jiných typech buněk. Prokázali jsme v nich zvýšenou expresi AFABP, leptinového receptoru a RBP4 u pacientů s ICHS i metabolickým syndromem. Jejich mRNA analýza by mohla být v budoucnu nápomocna v diagnostice metabolického syndromu a ICHS. V současné době si lze ovšem stanovení této exprese v běžné klinické praxi z mnoha důvodů těžko představit a proto zatím postrádá klinický význam.

Detekce hladin visfatinu v séru může být užitečná pro diagnostiku předčasné ICHS. Zvýšené hladiny proinflammatorního adipokinů visfatinu byly popsány již v minulosti u pacientů se stabilní koronární nemocí [115]. Dle některých studií dokonce korelovala závažnost koronárních lézí s hladinou visfatinu [116]. V jiné studii srovnávající hladiny visfatinu u pacientů s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST úseku (STEMI), námahovou anginou a osob bez kardiovaskulárního onemocnění byly hladiny visfatinu signifikantně zvýšené u pacientů se STEMI ve srovnání s ostatními skupinami (39), podrobněji viz str. 48. Výsledky naší studie však signifikantní rozdíl mezi hladinou visfatinu u stabilní ICHS a u AIM neprokázaly.

U osob s ICHS jsme našli signifikantně nižší koncentrace antiinflammatorního adipokinů omentinu-1 v séru nežli u pacientů s metabolickým syndromem a u zdravých kontrol. Diagnostická efektivita stanovení omentinu-1 pro diagnózu ICHS byla excelentní s téměř absolutní pozitivní prediktivní hodnotou. Jeho koncentrace se nelišila u osob v časně fázi po IM a v chronické fázi po IM

(podobně jako u visfatinu). Podle našeho názoru byla naše skupina první skupinou, která hodnotila hladiny omentinu-1 u "mladých" pacientů s předčasnými projevy aterosklerózy (117). Naše výsledky jsou v souladu s předchozími studiemi u starších pacientů. Postmenopauzální ženy, které měly angiograficky prokázanou ICHS, měly výrazně sníženou hladinu omentinu v porovnání s ženami bez ICHS [118]. Podobně starší muži (středního věku 63 let) s ICHS měli výrazně nižší plazmatické hladiny omentinu-1 než kontrolní subjekty (53). U pacientů s metabolickým syndromem hladiny omentinu-1 nepřímo korelovaly s přítomností a angiografickou závažností ICHS (119). V jiné nedávné studii (KOZANI) měla výchozí skupina s infarktem myokardu v akutní fázi významně nižší hodnoty omentinu-1 ve srovnání se zdravými kontrolami ( $P < 0,05$ ) [120]. Po 6 měsících sledování se koncentrace omentinu-1 ve skupině s infarktem myokardu výrazně zvýšily. U zdravých dospělých bělochů středního věku byla zjištěna vynikající spolehlivost jednorázových měření omentinu-1, podobných hodnot bylo totiž dosaženo u stejných pacientů i o 4 měsíce později. Je pravděpodobné, že postačuje pouze jedna analýza omentinu-1 v séru a test se nemusí opakovat (121).

FGF 21 je faktor patřící do rodiny fibroblastových růstových faktorů, uplatňuje se v metabolismu lipidů a sacharidů a je považován za marker metabolického syndromu, stejně jako AFABP (122,47). Naš nález zvýšených hladin FGF-21 a AFABP koresponduje s výsledky z předchozích studií a potvrzuje tak jejich potenciální využití jako markerů metabolického syndromu. U leptinu bychom si jeho zvýšenou hladinu (a stejně tak jeho zvýšenou expresi v leukocytech – viz výše) mohli vysvětlit leptinorezistencí. Za nejlepší marker metabolického syndromu musíme na základě námi dosažených výsledků považovat AFABP, jelikož, na rozdíl od FGF21 a leptinu, jeho hladiny nejsou zvýšené u pacientů s ICHS oproti kontrolní skupině.

Po provedení kalkulací ploch pod křivkou (AUC) bylo zjištěno, že diagnosticky nejsilnější je stanovení omentinu-1 (AUC = 0,97), aZAG (AUC = 0,89) a visfatinu (AUC 0,74). Hodnoty AUC kolem 0,75 a více již svědčí pro dobrou diagnostickou efektivitu a považují se za klinicky využitelné.

Za nejvýznamnější nález naší studie považujeme zjištění, že stanovení omentinu-1 má téměř absolutní pozitivní prediktivní hodnotu pro ICHS. Je možné, že snížené sérové hladiny omentinu-1 mohou identifikovat zdánlivě zdravé osoby, které jsou v riziku kardiovaskulární příhody. Potenciální budoucí terapie, která by vedla k nárůstu hladin omentinu-1 by mohla mít ochranný účinek proti ICHS a dalším aterosklerotickým cévním onemocněním.

Potenciálně zajímavé výsledky jsme očekávali od srovnání mRNA genů pro adipokiny a koncentrací jejich produktů (adipokinů) v séru. Výsledky ovšem neukázaly žádný vztah, ze kterého by šlo vyvozovat nějakou klinicky relevantní informaci. U pacientů s ICHS jsme dokonce neprokázali žádnou signifikantní závislost mezi expresí mRNA a koncentracemi adipokinů. Zklamáním byla také absence statisticky významně změněné exprese genů pro adipokiny (zvýšené či snížené) ve skupině pacientů s ICHS oproti ostatním skupinám. Domníváme se tedy, že stanovení exprese adipokinů v leukocytech nemá pro diagnostické účely koronární aterosklerózy a ICHS žádný význam. Stejně tak nepřineslo žádnou zásadní informaci porovnání vztahu mezi expresí adipokinů v tuku a periferních leukocytech. Exprese mRNA mezi periferními leukocyty a tukem byla značně diferentní, příčiny tohoto jevu nejsou jasné. Je ovšem nutné přihlídnout k faktu, že porovnané skupiny (10 pacientů) jsou velice malé a tudíž se nelze k dosaženým výsledkům validně vyjádřit. Bude třeba další výzkum. Možnou limitací této studie je i malý vzorek pacientů ve skupině s infarktem myokardu (65) i v kontrolních skupinách (50 zdravých osob, 75 pacientů s metabolickým syndromem).

## 6. Závěr

Klinicky nejdůležitějším zjištěním je nález zvýšených sérových hladin visfatinu a snížených hladin omentinu-1 a ZAG2 u pacientů s ischemickou chorobou srdeční v porovnání s ostatními skupinami. Zejména stanovení omentinu-1 má vynikající diagnostickou efektivitu. V našem souboru se u omentinu-1 i visfatinu neliší koncentrace u osob v časně fázi po IM a v chronické fázi po IM. Sérové koncentrace omentinu a visfatinu úzce souvisí s přítomností koronární aterosklerózy a mohly by potenciálně sloužit jako její biomarker u zdánlivě zdravých osob. Stanovení exprese adipokinů v leukocytech periferní krve je možné, ale nemá, alespoň v současné době, pro diagnostiku koronární nemoci v praxi žádný význam.

## Anotace v českém jazyce

**Cíl:** V současné době jsou málo prozkoumány vlivy adipokinů na patogenezi aterosklerózy a časnou manifestaci akutního infarktu myokardu (AIM) v mladém věku. Cílem této studie bylo srovnat hladiny adipokinů a jejich expresi v leukocytech periferní krve u pacientů s předčasnou ischemickou chorobou srdeční, metabolickým syndromem a u zdravé kontrolní skupiny

**Soubor a metodika:** Prospektivně bylo vyšetřeno celkem 65 pacientů po prodělaném akutním infarktu myokardu v mladém věku (AIM; muži ve věku 18-45 let a ženy 18-55 let), 75 pacientů s metabolickým syndromem a 50 zdravých jedinců. Expresie mRNA v leukocytech periferní krve byla stanovena u 24 adipokinů, sérové koncentrace byly vyšetřeny celkem u 11 adipokinů.

**Výsledky:** U osob s ICHS jsme oproti pacientům s metabolickým syndromem a zdravým kontrolám našli zvýšené sérové koncentrace visfatinu (2,3 vs. 1,6 vs. 0,7  $\mu\text{g/l}$ ,  $P < 0,001$ ), snížené koncentrace omentinu (103,1 vs. 587,0 vs. 552,3  $\mu\text{g/l}$ ,  $P < 0,001$ ) a také ZAG2 (45,5 vs. 72,5 vs. 77,1  $\text{mg/l}$ ,  $P < 0,001$ ). Při ROC analýze měly tyto adipokiny pro stanovení diagnózy ICHS oproti kontrolním skupinám následující plochy pod křivkou AUC: omentin-1 AUC 0,97 (při cut-off  $\leq 222$   $\mu\text{g/l}$ ), ZAG2 AUC 0,89 (při cut-off  $\leq 51,7$   $\text{mg/l}$ ) a visfatin AUC 0,74 (při cut-off  $\geq 1,0$   $\mu\text{g/l}$ ) ( $P < 0,001$  pro všechny). U pacientů, kterým byly krevní vzorky odebrány v akutní fázi infarktu myokardu se hladiny visfatinu i omentinu významně nelišili od hladin u pacientů vyšetřených v chronické fázi několik měsíců až let po infarktu myokardu. U pacientů s ICHS jsme neprokázali žádnou signifikantní závislost mezi expresí mRNA a koncentracemi adipokinů.

**Závěr:** Stanovení sérových hladin omentinu-1, visfatinu a ZAG2 by mohlo sloužit jako biomarker předčasné koronární aterosklerózy u mladých zdánlivě zdravých osob.



## Summary in English

**Objectives:** Little is known about the role of adipokines in the pathogenesis of coronary artery disease in young patients. The aims of this study were to compare serum levels of adipokines and expression of adipokines in peripheral blood leukocytes in patients with premature coronary artery disease (CAD), metabolic syndrome and healthy individuals.

**Design and methods:** Sixty-five patients after acute myocardial infarction (men 18–45 years old and women 18–55 years old) formed the study group. The control groups were 75 patients with metabolic syndrome and 50 healthy individuals. For each group, mRNA expression in peripheral blood leukocytes was determined for 24 different adipokines and 11 adipokines were examined in serum.

**Results:** In individuals with CAD, serum visfatin levels were significantly higher than in metabolic syndrome and healthy controls (2.3 vs. 1.6 vs. 0.7  $\mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.001$ ) while both omentin-1 (103.1 vs. 87.0 vs. 552.3  $\mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.001$ ) and ZAG2 (45.5 vs. 72.5 vs. 77.1  $\text{mg/L}$ ,  $P < 0.001$ ) levels were lower. The receiver operating curve (ROC) analysis for testing the validity of these adipokines in the diagnosis of CAD compared to control groups provided the following areas under the curve (AUC): omentin-1 AUC 0.97 (cut-off  $\leq 222$   $\mu\text{g/L}$ ), ZAG2 AUC 0.89 (cut-off  $\leq 51.7$   $\text{mg/L}$ ) and visfatin AUC 0.74 (cut-off  $\geq 1.0$   $\mu\text{g/L}$ ) ( $P < 0.001$  in all cases). Visfatin and omentin-1 serum levels did not differ between the acute phase of myocardial infarction and the chronic phase of CAD. In patients with CAD, we found no significant relation between mRNA expression and adipokine concentration.

**Conclusion:** Serum omentin-1, visfatin and ZAG2 could serve as biomarkers of premature CAD in young apparently healthy people.

## Přílohy

### Seznam obrázků

Obrázek č.1: Patofyziologické souvislosti mezi tukovou tkání, adipokiny, systémem renin-angiotenzin a aterosklerózou.

Obrázek č.2: Přehled pozitivních a negativní kardiovaskulárních účinků nejvýznamnějších adipokinů.

Obrázek č.3: Změna složení tukové tkáně s přibývajícím hmotností.

Zdroj:[http://www.cell.com/trends/immunology/fulltext/S1471-4906\(11\)00076-7](http://www.cell.com/trends/immunology/fulltext/S1471-4906(11)00076-7)

Obrázek č.4: Vliv obezity a prozánětlivých faktorů na rozvoj kardiovaskulárních chorob.

Zdroj:<http://circ.ahajournals.org/content/123/23/2749#T3>

Obrázek č.5: Patofyziologický algoritmus rozvoje kardiální steatózy a diastolické dysfunkce.

Zdroj: <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/65/1/19>

Obrázek č.6: Vliv apelinu na srdce a cévy.

Obrázek č.7: Schéma rozvoje a potenciálních klinických dopadů hypoadiponektinemie.

Zdroj: <http://www.clinsci.org/content/110/3/267.figures-only>

Obrázek č.8.: Intervence ovlivňující produkci adiponektinu nebo up-regulaci adiponektinového receptoru. Zdroj: <http://www.clinsci.org/content/114/5/361>

Obrázek č.9: Procesy podílející se na rozvoji kardiovaskulárních chorob v přítomnosti obezity. Zdroj:

<http://circ.ahajournals.org/content/123/23/2749#T1>

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Soubor vyšetřených pacientů s infarktem myokardu a v kontrolní skupině

Tabulka 2: Parametry PCR cyklu

Tabulka 3: Hodnoty exprese mRNA

Tabulka 4: Koncentrace adipokinů v séru

Tabulka 5: Rozdíl mezi expresí adipokinů v periferní krvi a v tuku (N=10)

Tabulka 6: Vztah koncentrace adipokinů v séru a exprese mRNA v leukocytech periferní krve

Tabulka 7: Vztah koncentrace adipokinů v séru a AIM

Tabulka 8: Vztah exprese mRNA a AIM

## Literatura

1. Gualillo O, González-Juanatey JR, Lago F. The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc Med* 2007;17:275-283.
2. Chatterjee TK, Stoll LL, Denning GM, Harrelson A, Blomkalns AL, Idelman G, Rothenberg FG, Neltner B, Romig-Martin SA, Dickson EW, Rudich S, Weintraub NL. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes: influence of high-fat feeding. *Circ Res* 2009;104:541–549.
3. Takaoka M, Nagata D, Kihara S, Shimomura I, Kimura Y, Tabata Y, Saito Y, Nagai R, Sata M. Periadventitial adipose tissue plays a critical role in vascular remodeling. *Circ Res*. 2009;105:906–911.
4. Szasz T, Bomfim GF, Webb RC. The influence of perivascular adipose tissue on vascular homeostasis. *Vasc Health Risk Manag* 2013;9:105–116.
5. Gao YJ, Takemori K, Su LY, An WS, Lu C, Sharma AM, Lee RM. Perivascular adipose tissue promotes vasoconstriction: the role of superoxide anion. *Cardiov Res* 2006;71(2):363–373.
6. Okura K, Maeno K, Okura S, Takemori H, Toya D, Tanaka N, Miyayama S. Pericardial fat volume is an independent risk factor for the severity of coronary artery disease in patients with preserved ejection fraction. *J Cardiol* 2015;65(1):37–41.
7. Mahabadi AA, Lehmann N, Kälsch H, Robens T, Bauer M, Dykun I, Budde T, Moebus S, Jöckel KH, Erbel R, Möhlenkamp S. Association of epicardial adipose tissue with progression of coronary artery calcification is more pronounced in the early phase of atherosclerosis: results from the Heinz Nixdorf recall study. *JACC Cardiovasc Imaging* 2014;7(9):909–916.

8. Hirata Y, Tabata M, Kurobe H, Motoki T, Akaike M, Nishio C, Higashida M, Mikasa H, Nakaya Y, Takanashi S, Igarashi T, Kitagawa T, Sata M. Coronary atherosclerosis is associated with macrophage polarization in epicardial adipose tissue. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:248–55.
9. Yamada H, Sata M. The role of pericardial fat: The good, the bad and the ugly. *J Cardiol* 2015;65(1):2–4.
10. Iacobellis G, Singh N, Wharton S, Sharma AM. Substantial changes in epicardial fat thickness after weight loss in severely obese subjects. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1693–7.
11. Kim MK, Tomita T, Kim MJ, Sasai H, Maeda S, Tanaka K. Aerobic exercise training reduces epicardial fat in obese men. *J Appl Physiol* 2009;106:5–11.
12. Park JH, Park YS, Kim YJ, Lee IS, Kim JH, Lee JH, Choi SW, Jeong JO, Seong IW. Effects of statins on the epicardial fat thickness in patients with coronary artery stenosis underwent percutaneous coronary intervention: comparison of atorvastatin with simvastatin/ezetimibe. *J Cardiovasc Ultrasound* 2010;18:121–6.
13. Takase H, Dohi Y, Okado T, Hashimoto T, Goto Y, Kimura G. Effects of ezetimibe on visceral fat in the metabolic syndrome: a randomised controlled study. *Eur J Clin Invest* 2012;42:1287–94.
14. Iacobellis G, Assael F, Ribaldo MC, Zappaterreno A, Alessi G, Di Mario U, Leonetti F. Epicardial fat from echocardiography: a new method for visceral adipose tissue prediction. *Obes Res.* 2003 Feb;11(2):304-10.
15. Iacobellis G, Iacobellis G, Ribaldo MC, Assael F, Vecci E, Tiberti C, Zappaterreno A, Di Mario U, Leonetti F. Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Nov;88(11):5163-8.

16. Haluzík M, Trachta P, Haluzíková D. Adipose tissue hormones. *Vnitr Lek* 2010;56(10):1028–1034.
17. Engeli S, Negrel R, Sharma AM. Physiology and pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system. *Hypertension* 2000;35(6):1270–7.
18. Fallo F, Federspil G, Veglio F, Mulatero P. The metabolic syndrome in primary aldosteronism. *Current Diabetes Reports* 2008;8(1):42–7.
19. Stiefel P, Vallejo-Vaz AJ, García Morillo S, Villar J. Role of the Renin-Angiotensin system and aldosterone on cardiometabolic syndrome. *Int J Hypertens* 2011;685238. <http://doi.org/10.4061/2011/685238>.
20. Turer AT, Hill JA, Elmquist JK, Scherer PE. Adipose tissue biology and cardiomyopathy: translational implications. *Circ Res.* 2012 Dec 7;111(12):1565-77.
21. Oral EA, EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Premkumar A, Snell P, Wagner AJ, DePaoli AM, Reitman ML, Taylor SI, Gorden P, Garg A. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *N Engl J Med.* 2002;346(8):570-8.
22. Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R, Bouloumié A. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* 2006;49:744-747.
23. Zhang L, Keung W, Samokhvalov V, Wang W, Lopaschuk GD. Role of fatty acid uptake and fatty acid beta-oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta* 2010;1801:1–22.
24. Wende AR, Abel ED. Lipotoxicity in the heart. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801:311–319.
25. Zhang F, Basinski MB, Beals JM, Briggs SL, Churgay LM, Clawson DK, DiMarchi RD, Furman TC, Hale JE, Hsiung HM, Schoner BE, Smith DP, Zhang XY, Wery JP, Schevitz RW. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature.* 1997 May 8;387(6629):206-9.

26. Enriori PJ, Evans AE, Sinnayah P, Cowley MA. Leptin resistance and obesity. *Obesity* (Silver Spring). 2006 Aug;14 Suppl 5:254S-258S.
27. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier JS. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382(6588):250-2.
28. Chou SH, Chamberland JP, Liu X, Matarese G, Gao C, Stefanakis R, Brinkoetter MT, Gong H, Arampatzi K, Mantzoros CS. Leptin is an effective treatment for hypothalamic amenorrhea. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Apr 19;108(16):6585-90.
29. Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K, Dixon RM, Kushner R, Hunt T, Lubina JA, Patane J, Self B, Hunt P, McCamish M. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA*. 1999;282(16):1568-75.
30. Rosenbaum M, Murphy EM, Heymsfield SB, Matthews DE, Leibel RL. Low dose leptin administration reverses effects of sustained weight-reduction on energy expenditure and circulating concentrations of thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2391-2394.
31. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, Sanna V, Jebb SA, Perna F, Fontana S, Lechler RI, DePaoli AM, O'Rahilly S. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest*. 2002;110(8):1093-1103.
32. Karmazyn M, Purdham DM, Rajapurohitam V, Zeidan A. Signalling mechanisms underlying the metabolic and other effects of adipokines on the heart. *Cardiov Res* 2008;79:279-286.
33. Mattu HS, Randeve HS. Role of adipokines in cardiovascular disease. *J Endocrinol* 2013;216(1);T17-36.
34. Shek EW, Brands MW, Hall JE. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension* 1998;31:409-14.



35. Satoh N, Ogawa Y, Katsuura G, Numata Y, Tsuji T, Hayase M, Ebihara K, Masuzaki H, Hosoda K, Yoshimasa Y, Nakao K. Sympathetic activation of leptin via the ventromedial hypothalamus: leptin-induced increase in catecholamine secretion. *Diabetes*. 1999 Sep;48(9):1787-93.
36. Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Lopez-Jimenez F, Gami AS, Sert Kuniyoshi FH, Wolk R, Somers VK. Relation of increased leptin concentrations to history of myocardial infarction and stroke in the United States population. *Am J Cardiol* 2007;100(2):234–9.
37. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, Lee YJ. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(1):295-9.
38. Chang YH, Chang DM, Lin KC, Shin SJ, Lee YJ. Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011;27(6):515-27.
39. Lu LF, Wang CP, Yu TH, Hung WC, Chiu CA, Chung FM, Tsai IT, Yang CY, Cheng YA, Lee YJ, Yeh LR. Interpretation of elevated plasma visfatin concentrations in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Cytokine* 2012;57(1):74-80.
40. Filippatos TD, Randeve HS, Derdemezis CS, Elisaf MS, Mikhailidis DP. Visfatin/PBEF and atherosclerosis-related diseases. *Curr Vasc Pharmacol* 2010;8:12–28.
41. Romacho T, Sanchez-Ferrer CF, Peiro C, Sánchez-Ferrer CF, Peiró C. Visfatin/Nampt: an adipokine with cardiovascular impact. *Mediators Inflamm* 2013, 946427. <http://doi.org/10.1155/2013/946427>
42. Kusminski CM, McTernan PG, Kumar S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and type II diabetes. *Clinical Science* 2005;109:243–256.

43. Scotece M, Conde J, Gómez R, López V, Pino J, González A, Lago F, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Role of adipokines in atherosclerosis: interferences with cardiovascular complications in rheumatic diseases. *Mediators Inflamm* 2012;2012:125458.
44. Savage DG, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, O'Rahilly S. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes*. 2001 Oct;50(10):2199-202.
45. Li S, Xu RX, Zhang Y, Guo YL, Zhu GC, Liu G, Dong Q, Li JJ. Relation of resistin to PCSK9 levels in CAD patients with varying degree of obesity. *Eur Heart J* 2015;36( Abstract Supplement):923.
46. Takeishi Y, Niizeki T, Arimoto T, Nozaki N, Hirono O, Nitobe J, Watanabe T, Takabatake N, Kubota I. Serum resistin is associated with high risk in patients with congestive heart failure—a novel link between metabolic signals and heart failure. *Circ J* 2007;71:460–464.
47. Xu A, Wang Y, Xu JY, Stejskal D, Tam S, Zhang J, Wat NM, Wong WK, Lam KS. Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Chem* 2006;52(3):405-13.
48. Eynatten MV, Breitling LP, Roos M, Baumann M, Rothenbacher D, Brenner H. Circulating Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein Levels and Cardiovascular Morbidity and Mortality in Patients With Coronary Heart Disease: A 10-year Prospective Study. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2012;32(9):2327–2335.
49. Karpisek M, Stejskal D, Kotolova H, Kollar P, Janoutova G, Ochmanova R, Cizek L, Horakova D, Yahia RB, Lichnovska R, Janout V. Treatment with atorvastatin reduces serum adipocyte-fatty acid binding protein value in patients with hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest*. 2007 Aug;37(8):637-42.

50. Sovova E, Hobzova M, Stejskal D, Sova M, Kolek V, Zapletalova J. Treatment of obstructive sleep apnea with continuous positive airway pressure decreases adipocyte fatty acid-binding protein levels. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2012 Mar;156(1):58-62.
51. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, Shuldiner AR, Fried SK, McLenithan JC, Gong DW. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006 Jun;290(6):E1253-61.
52. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, Ndubuizu K, Patil S, Schwartz A, Kligman M. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes* 2007;56:1655–1661.
53. Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, Takahashi R, Takeshita K, Kataoka Y, Ohashi K, Ikeda N, Kihara S, Murohara T. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. *Atherosclerosis.* 2011 Dec;219(2):811-4.
54. Narumi T, Watanabe T, Kadowaki S, Kinoshita D, Yokoyama M, Honda Y, Kubota I. Impact of serum omentin-1 levels on cardiac prognosis in patients with heart failure. *Cardiovasc Diabetol* 2014;13:84. <http://doi.org/10.1186/1475-2840-13-84>
55. O'Dowd BF, O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, Shi X, Petronis A, George SR, Nguyen T. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene.* 1993 Dec 22;136(1-2):355-60.
56. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Fujino M. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998 Oct 20;251(2):471-6.

57. Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2008 Aug;10(8):725-32.
58. Hijazi Z, Oldgren J, Siegbahn A, Granger CB, Wallentin L. Biomarkers in atrial fibrillation: a clinical review. *Eur Heart J* 2013;34:1475–80.
59. Kallergis EM, Manios EG, Kanoupakis EM, Mavrakis HE, Goudis CA, Maliaraki NE, Saloustros IG, Milathianaki ME, Chlouverakis GI, Vardas PE. Effect of sinus rhythm restoration after electrical cardioversion on apelin and brain natriuretic peptide prohormone levels in patients with persistent atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2010;105:90–4.
60. Falcone C, Buzzi MP, D'Angelo A, Schirinzi S, Falcone R, Rordorf R, Capettini AC, Landolina M, Storti C, Pelissero G. Apelin plasma levels predict arrhythmia recurrence in patients with persistent atrial fibrillation. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2010;23:917–25
61. Tycinska AM, Sobkowicz B, Mroczko B, Sawicki R, Musial WJ, Dobrzycki S, Waszkiewicz E, Knapp MA, Szmitkowski M. The value of apelin-36 and brain natriuretic peptide measurements in patients with first ST-elevation myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 2010;411:2014–8.
62. Kuklinska AM, Sobkowicz B, Sawicki R, Musial WJ, Waszkiewicz E, Bolinska S, Małyszko J. Apelin: a novel marker for the patients with first ST-elevation myocardial infarction. *Heart Vessels* 2010;25:363–7.
63. Kadoglou NP, Lampropoulos S, Kapelouzou A, Gkontopoulos A, Theofilogiannakos EK, Fotiadis G, Kottas G. Serum levels of apelin and ghrelin in patients with acute coronary syndromes and established coronary artery disease — KOZANI STUDY. *Transl Res* 2010;155:238–46.
64. Kleinz MJ, Baxter GF. Apelin reduces myocardial reperfusion injury independently of PI3K/Akt and P70S6 kinase. *Regul Pept* 2008;146:271–7.

65. Földes G, Horkay F, Szokodi I, Vuolteenaho O, Ilves M, Lindstedt KA, Mäyränpää M, Sárman B, Seres L, Skoumal R, Lakó-Futó Z, deChâtel R, Ruskoaho H, Tóth M. Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;308(3):480-5.
66. Chong KS, Gardner RS, Morton JJ, Ashley EA, McDonagh TA. Plasma concentrations of the novel peptide apelin are decreased in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2006;8:355-60.
67. Chen MM, Ashley EA, Deng DX, Tsalenko A, Deng A, Tabibiazar R, Ben-Dor A, Fenster B, Yang E, King JY, Fowler M, Robbins R, Johnson FL, Bruhn L, McDonagh T, Dargie H, Yakhini Z, Tsao PS, Quertermous T. Novel role for the potent endogenous inotrope apelin in human cardiac dysfunction. *Circulation*. 2003;108(12):1432-9.
68. Andersen CU, Hilberg O, Mellekjær S, Nielsen-Kudsk JE, Simonsen U. Apelin and pulmonary hypertension. *Pulmon Circ* 2013;1(3):334–46.
69. Szokodi I, Tavi P, Földes G, Voutilainen-Myllylä S, Ilves M, Tokola H, Pikkarainen S, Piihola J, Rysä J, Tóth M, Ruskoaho H. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ regulates cardiac contractility. *Circ Res* 2002;91:434.
70. Japp AG, Cruden NL, Barnes G, van GN, Mathews J, Adamson J, Johnston NR, Denvir MA, Megson IL, Flapan AD, Newby DE. Acute cardiovascular effects of apelin in humans: Potential role in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2010;121:1818-27.
71. Barnes GD, Alam S, Carter G, Pedersen CM, Lee KM, Hubbard TJ, Veitch S, Jeong H, White A, Cruden NL, Huson L, Japp AG, Newby DE. Sustained cardiovascular actions of APJ agonism during renin-angiotensin system activation and in patients with heart failure. *Circ Heart Fail*. 2013 May;6(3):482-91.

72. Siddiquee K, Hampton J, Khan S, Zadory D, Gleaves L, Vaughan DE, Smith LH. Apelin protects against angiotensin II-induced cardiovascular fibrosis and decreases plasminogen activator inhibitor type-1 production. *J Hypertens*. 2011;29(4):724-31.
73. Zhang Z, Yu B, Tao GZ. Apelin protects against cardiomyocyte apoptosis induced by glucose deprivation. *Chin Med J (Engl)* 2009;122:2360.
74. Chandra SM, Razavi H, Kim J, Agrawal R, Kundu RK, de Jesus Perez V, Zamanian RT, Quertermous T, Chun HJ. Disruption of the apelin-APJ system worsens hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(4):814-20.
75. Papadopoulos DP, Mourouzis I, Faselis C, Perrea D, Makris T, Tsioufis C, Papademetriou V. Masked hypertension and atherogenesis: the impact of apelin and relaxin plasma levels. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2013 May;15(5):333-6.
76. Akcilar R, Turgut S, Caner V, Akcilar A, Ayada C, Elmas L, Ozcan TÖ. Apelin effects on blood pressure and RAS in DOCA-salt-induced hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*. 2013;35(7):550-7.
77. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 May;86(5):1930-5.
78. [Hotta K](#), [Funahashi T](#), [Arita Y](#). Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. [Arterioscler Thromb Vasc Biol](#) 2000;20(6):1595-9.
79. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(1):85-9.
80. Azizi Ghanbari A, Dörr R, Spitzer S, Stumpf J, Britz A, Amann-Zalan I, Lodwig V, Ulm B, Schnell O, Lohmann T. Adiponectin in coronary heart disease and newly diagnosed impaired glucose tolerance. *Diab Vasc Dis Res*. 2013 Sep;10(5):452-8.

81. Wu Z, Cheng Y, Aung LH, Li B. Association between adiponectin concentrations and cardiovascular disease in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2013 Nov 4;8(11):e78485.
82. Hao G, Li W, Guo R, Yang JG, Wang Y, Tian Y, Liu MY, Peng YG, Wang ZW. Serum total adiponectin level and the risk of cardiovascular disease in general population: a meta-analysis of 17 prospective studies. *Atherosclerosis*. 2013 May;228(1):29-35.
83. Kanhai DA, Kranendonk ME, Uiterwaal CS, van der Graaf Y, Kappelle LJ, Visseren FL. Adiponectin and incident coronary heart disease and stroke. A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Obes Rev*. 2013 Jul;14(7):555-67.
84. Zhang BC, Liu WJ, Che WL, Xu YW. Serum total adiponectin level and risk of cardiovascular disease in Han Chinese populations: a meta-analysis of 17 case-control studies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77:370–378.
85. Zhang H, Mo X, Hao Y, Huang J, Lu X, Cao J, Gu D. Adiponectin levels and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Med Sci*. 2013 Jun;345(6):455-61.
86. Denzel MS, Scimia MC, Zumstein PM, Walsh K, Ruiz-Lozano P, Ranscht B. T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. *J Clin Invest* 2010;120(12):4342–52.
87. Shehzad A, Iqbal W, Shehzad O, Lee YS. Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases. *Hormones (Athens)*. 2012;11(1):8-20.
88. El-Menyar A, Rizk N, Al Nabti AD, Hassira SA, Singh R, Abdel Rahman MO, Suwaidi JA. Total and high molecular weight adiponectin in patients with coronary artery disease. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2009;10(4):310-5.
89. Chow WS, Cheung BM, Tso AW, Xu A, Wat NM, Fong CH, Ong LH, Tam S, Tan KC, Janus ED, Lam TH, Lam KS. Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study. *Hypertension* 2007;49(6):1455-61.

90. Hass A, Oz H, Mashavi M, Shargorodsky M. Role of RAAS and adipokines in cardiovascular protection: effect of different doses of angiotensin II receptor blocker on adipokines level in hypertensive patients. *J Am Soc Hypertens* 2014;8(10):709-14.
91. Furuhashi M, Ura N, Higashiura K, Murakami H, Tanaka M, Moniwa N, Yoshida D, Shimamoto K. Blockade of the renin-angiotensin system increases adiponectin concentrations in patients with essential hypertension. *Hypertension* 2003;42(1):76–81.
92. Van Berendoncks AM, Garnier A, Beckers P, Hoymans VY, Possemiers N, Fortin D, Martinet W, Van Hoof V, Vrints CJ, Ventura-Clapier R, Conraads VM. Functional adiponectin resistance at the level of the skeletal muscle in mild to moderate chronic heart failure. *Circ Heart Fail*. 2010 Mar;3(2):185-94.
93. Tanaka T, Tsutomoto T, Sakai H, Nishiyama K, Fujii M, Yamamoto T, Horie M. Effect of atrial natriuretic peptide on adiponectin in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2008;10:360–366.
94. Wang Y, Gao E, Lau WB, Wang Y, Liu G, Li JJ, Wang X, Yuan Y, Koch WJ, Ma XL. G-protein-coupled receptor kinase 2-mediated desensitization of adiponectin receptor 1 in failing heart. *Circulation* 2015;131(16):1392-404.
95. Zoccali C, Mallamaci F, Panuccio V, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S, Catalano F, Tanaka S, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin is markedly increased in patients with nephrotic syndrome and is related to metabolic risk factors. *Kidney Int Suppl* 2003;84:S98-102.
96. Cheng P, Zhang F, Yu L, Lin X, He L, Li X, Lu X, Yan X, Tan Y, Zhang C. Physiological and Pharmacological Roles of FGF21 in Cardiovascular Diseases. *J Diabetes Res*. 2016;2016:1540267. doi: 10.1155/2016/1540267



97. Planavila A, Redondo-Angulo I, Villarroya F. FGF21 and Cardiac Physiopathology. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015 Aug 31;6:133. doi: 10.3389/fendo.2015.00133.
98. Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, Muruganandan S, Sinal CJ. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *J Biol Chem*. 2007 Sep 21;282(38):28175-88.
99. Maghsoudi Z, Kelishadi R, Hosseinzadeh-Attar MJ. The comparison of chemerin, adiponectin and lipid profile indices in obese and non-obese adolescents. *Diabetes Metab Syndr*. 2016 Apr-Jun;10(2 Suppl 1):S43-6.
100. Neves KB, Lobato NS, Lopes RA, Filgueira FP, Zanotto CZ, Oliveira AM, Tostes RC. Chemerin reduces vascular nitric oxide/cGMP signalling in rat aorta: a link to vascular dysfunction in obesity? *Clin Sci (Lond)*. 2014 Jul;127(2):111-22.
101. Ji Q, Lin Y, Liang Z, Yu K, Liu Y, Fang Z, Liu L, Shi Y, Zeng Q, Chang C, Chai M, Zhou Y. Chemerin is a novel biomarker of acute coronary syndrome but not of stable angina pectoris. *Cardiovasc Diabetol*. 2014 Nov 1;13:145.
102. Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Grande P, Sillesen H, Nordestgaard BG. Genetically elevated C-reactive protein and ischemic vascular disease. *N Engl J Med*. 2008 Oct 30;359(18):1897-908.
103. Zimmermann O, Li K, Zaczekiewicz M, Graf M, Liu Z, Torzewski J. C-reactive protein in human atherogenesis: facts and fiction. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:561428.
104. Wan K, Zhao J, Deng Y, Chen X, Zhang Q, Zeng Z, Zhang L, Chen Y. A genetic polymorphism in RBP4 is associated with coronary artery disease. *Int J Mol Sci*. 2014 Dec 3;15(12):22309-19.

105. Feng R, Li Y, Wang C, Luo C, Liu L, Chuo F, Li Q, Sun C. Higher vaspin levels in subjects with obesity and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 Oct;106(1):88-94.
106. Blüher M. Vaspin in obesity and diabetes: pathophysiological and clinical significance. *Endocrine.* 2012 Apr;41(2):176-82.
107. Hao F, Zhang H, Zhu J, Kuang H, Yu Q, Bai M, Mu J. Association between vaspin level and coronary artery disease in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016 Mar;113:26-32.
108. Hamm CW, Möllmann H, Bassand JP, van de Werf F, et al. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine (2 ed.), Acute Coronary Syndromes.* 2009 Aug;16:535-
109. Osula S, Bell GM, Hornung RS. Acute myocardial infarction in young adults: causes and management. *Postgrad Med J* 2002;78:27-30.
110. Egred M, Viswanathan G, Davis GK. Myocardial infarction in young adults. *Postgrad Med J.* 2005 Dec;81(962):741-5.
111. Ghuran A, Nolan J. The cardiac complications of recreational drug use. *West J Med.* 2000 Dec;173(6):412-5.
112. Baštecký J, Dulíček P, Kvasnička J: Hyperkoagulační stav u akutních koronárních syndromů. Stručný přehled problematiky očima klinika. *Cor Vasa* 2003;45(6):323-327.
113. Smekal A, Vaclavik J. Adipokines and cardiovascular disease: a comprehensive review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2017 Feb 16. doi: 10.5507/bp.2017.002. [Epub ahead of print]
114. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Writing Group on the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2012 Oct;33(20):2551-67

115. Kadoglou NP, Gkontopoulos A, Kapelouzou A, Fotiadis G, Theofilogiannakos EK, Kottas G, Lampropoulos S. Serum levels of vaspin and visfatin in patients with coronary artery disease-Kozani study. *Clin Chim Acta*. 2011 Jan 14;412(1-2):48-52.
116. Fu H, Zhu Y, You GY, Liu XJ. Detection of visfatin level of plasma in patients with coronary artery diseases. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2009;40(2):322-
117. Stejskal D, Vaclavik J, Smekal A, Svobodova G, Richterova R, Svestak M. Omentin-1 levels in patients with premature coronary artery disease, metabolic syndrome and healthy controls. Short communication. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2016 Jun;160(2):219-21.
118. Onur I, Oz F, Yildiz S, Oflaz H, Sigirci S, Elitok A, Pilten S, Karaayvaz EB, Cizgici AY, Kaya MG, Onur ST, Sahin I, Dinckal HM. Serum omentin 1 level is associated with coronary artery disease and its severity in postmenopausal women. *Angiology* 2014;65(10):896-900.
119. Shang FJ, Wang JP, Liu XT, Zheng QS, Xue YS, Wang B, Zhao LY. Serum omentin-1 levels are inversely associated with the presence and severity of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Biomarkers* 2011;16(8):657-62.
120. Kadoglou NP, Tahmatzidis DK, Giannakoulas C, Kapelouzou A, Gkontopoulos A, Parissis J, Lampropoulos S, Kottas G. Serum levels of novel adipokines, omentin-1 and chemerin, in patients with acute myocardial infarction: KOZANI STUDY. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2015;16:341-6.
121. Wittenbecher C, di Giuseppe R, Biemann R, Menzel J, Arregui M, Hoffmann J, Aleksandrova K, Boeing H, Isermann B, Schulze MB, Weikert C. Reproducibility of Retinol Binding Protein 4 and Omentin-1 Measurements over a Four Months Period: A Reliability Study in a Cohort of 207 Apparently Healthy Participants. *PLoS One* 2015;10:e0138480.

122. Zhang X, Yeung DC, Karpisek M, Stejskal D, Zhou ZG, Liu F, Wong RL, Chow WS, Tso AW, Lam KS, Xu A. Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes*. 2008 May;57(5):1246-53.

## Publikace

1. Táborský M, Kováčik F, Smékal A. Roční zkušenosti kardiovaskulárního centra s dabigatran etexilátem v prevenci tromboembolických příhod u nemocných s fibrilací síní. Acta medicinae 3/13, Kardiologie
2. Heinc P, Kováčik F, Lazárová M, MUDr. Přeček J, Smékal A, Táborský M Arytmie a cévní mozková příhoda. Kardiol Rev Int Med 2013, 15(1): 33-36
3. Smékal A, Václavík J., Stejskal D, Richterová R, Louis A., Hutyra M, Švesták M, Cibulková P., Janýšková H, Táborský M. Determination of adipokine expression in the peripheral blood leukocytes of young patients with myocardial infarction, Experimental and Clinical Cardiology , Volume 20, Issue 1, 2014, Pages 1182-1194
4. Hutyra M, Skála T, Horák D, Köcher M, Tüdös Z, Zapletalová J, Přeček J, Louis A, Smékal A, Táborský M. Echocardiographic assessment of global longitudinal right ventricular function in patients with an acute inferior ST elevation myocardial infarction and proximal right coronary artery occlusion. Int J Cardiovasc Imaging. 2015 Mar;31(3):497-507. doi: 10.1007/s10554-014-0573-y. Epub 2014 Nov 18. PubMed PMID: 25404083.
5. Heinc P, Kováčik, F, Přeček J, Smékal A, Šimková I, Táborský M. Nefarmakologická léčba srdečního selhání z pohledu nových evropských doporučení pro srdeční resynchronizační léčbu. Kardiol Rev Int Med 2014, 16(2): 88-94
6. Heinc P, Gajdošová L, Kamasová M, Látal J, Přeček J, Smékal A, Rec L. Vztah a klinický význam chronického onemocnění ledvin u pacientů s poruchami srdečního rytmu a/ nebo s implantabilními elektrickými přístroji. Zkrácená komentovaná verze oficiálního stanoviska Evropské společnosti pro srdeční rytmus. Kardiol Rev Int Med 2015, 17(4): 331-338

7. Heinc P, Kováčik F, Látal J, Přeček J, Smékal A, Rec L. Komentovaná zkrácená verze evropských doporučení pro diagnostiku a management akutní plicní embolie z roku 2014. *Kardiol Rev Int Med* 2015, 17(3): 234-244
8. Stejskal D, Vaclavik J, Smekal A, Svobodova G, Richterova R, Svestak M. Omentin-1 levels in patients with premature coronary artery disease, metabolic syndrome and healthy controls. Short communication. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2016 Jun;160(2):219-21. doi: 10.5507/bp.2016.019. Epub 2016 Apr 20. PubMed PMID: 27108603
9. Smekal A, Vaclavik J. Adipokines and cardiovascular disease: A comprehensive review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2017 Mar;161(1):31-40. doi: 10.5507/bp.2017.002. Epub 2017 Feb 16. PubMed PMID: 28228651.
10. Smékal A, Václavík J, Stejskal D, Benešová K, Jarkovský J, Svobodová G, Richterová R, Švesták M, Táborský M. Plasma levels and leucocyte RNA expression of adipokines in young patients with coronary artery disease, in metabolic syndrome and healthy controls. *Cytokine.* 2017 Apr 15. pii: 1043-4666(17)30082-0. doi: 10.1016/j.cyto.2017.03.016. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 28416270

## Kongresové prezentace

1. Interní medicína pro praxi – VII. Konference ambulantních internistů, Olomouc, 29.3.-30.3.2012. Konstriktivní perikarditida jako následek katetrizační ablace fibrilace síní – přednáška oceněna publikem 3.místem
2. XXXI Dny mladých internistů, Martin, Slovensko, 24.-25.5.2012 – přednáška - Konstriktivní perikarditida jako následek katetrizační ablace fibrilace síní
3. XX. Výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 13-16.5.2012 – přednáška - Konstriktivní perikarditida jako následek katetrizační ablace fibrilace síní
4. XXXII. Dny mladých internistů, Olomouc, 30.5.-31.5.2013 – přednáška - Je u mladých pacientů s infarktem myokardu možné vyšetřovat expresi adipokinů v leukocytech periferní krve? Smékal A, Václavík J, Stejskal D, Richterová R, Hutyra M, Táborský M
5. XXI. Výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 4.-7.5.2013 - moderovaný poster - Je u mladých pacientů s infarktem myokardu možné vyšetřovat expresi adipokinů v leukocytech periferní krve - Smékal A, Václavík J, Stejskal D, Richterová R, Hutyra M, Táborský M
6. Kongres evropské internistické společnosti ESCIM 2014, 13.5.-16.5.2014, Geneva, Comparison of adipokine expression in peripheral blood leukocytes in young patients after myocardial infarction, in patients with metabolic syndrome and healthy individuals. Smékal A, Václavík J, Stejskal D, Richterová R, Václavík T, Hutyra M, Švesták M, Táborský M
7. XXII. Výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 4.-7.5.2014. Srovnání exprese adipokinů v leukocytech periferní krve u mladých pacientů po infarktu myokardu, pacientů s metabolickým syndromem a u zdravých jedinců. Smékal A, Václavík J, Stejskal D., Richterová R., Václavík T., Hutyra M., Švesták M., Táborský M

8. XXIII Výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno 24-27.5.2015 Zvýšená exprese visfatinu v leukocytech jako nový rizikový faktor infarktu myokardu u mladých pacientů?  
Smékal A, Václavík J, Stejskal D., Richterová R., Václavík T., Hutýra M., Švesták M., Táborský M
9. XXIV Výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno. 15. - 18. května 2016. OMENTIN-1 JAKO POTENCIÁLNÍ MARKER AKUTNÍHO INFARKTU MYOKARDU A KORONÁRNÍ ATEROSKLERÓZY? Smékal A, Václavík J, Stejskal D, Richterová R, Švesták M, Táborský M.
10. XXV Výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno 7.-10.5.2017 Plazmatické hladiny a RNA exprese adipokinů v leukocytech u mladých pacientů s ischemickou chorobou srdeční, v metabolickým syndromem a u zdravých kontrol. Smékal A, Václavík J, Stejskal D, Richterová R, Švesták M, Táborský M. Poster – lékařský