

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA



**HORMONÁLNÍ AKTIVITA OVARIÍ A JEJÍ
VZTAH K ŘADĚ RIZIKOVÝCH FAKTORŮ
KARDIOVASKULÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ A
CHOROB HROMADNÉHO
VÝSKYTU. MOŽNOST JEJICH OVLIVNĚNÍ
HORMONÁLNÍ SUBSTITUČNÍ LÉČBOU.**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Olomouc 2009

Martin Petzel

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Martin Petzel

**HORMONÁLNÍ AKTIVITA OVARIÍ A JEJÍ
VZTAH K ŘADĚ RIZIKOVÝCH FAKTORŮ
KARDIOVASKULÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ A
CHOROB HROMADNÉHO
VÝSKYTU. MOŽNOST JEJICH OVLIVNĚNÍ
HORMONÁLNÍ SUBSTITUČNÍ LÉČBOU.**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Školitel: Doc. MUDr. David Stejskal, Ph.D., MBA, EurChem

Obor: Lékařská chemie a biochemie

Disertační práce byla vypracována na Gynekologicko-porodnickém oddělení FN Ostrava Poruba a Oddělení laboratorní medicíny Středomoravské nemocniční a.s. v období leden 2004 – červenec 2009.

Prohlašuji, že jsem pracoval samostatně a použil pouze pramenů, které cituji v disertační práci. Vlastní publikované výsledky jsou citovány čísly.

V Olomouci, 29. srpna 2009

Poděkování

Děkuji zejména svému školiteli Doc. MUDr. Davidovi Stejskalovi, Ph.D., MBA, EurChem za všestrannou pomoc při koncipování disertační práce, předávání zkušeností během celého postgraduálního studia a za rady i připomínky k mojí práci.

Moje poděkování patří Doc. MUDr. Peterovi Kolibovi CSc. a MUDr. Ondřeji Šimetkovi, přednostovi Porodnicko – gynekologické kliniky FN Ostrava a mým kolegům z FN Ostrava za spolupráci při řešení výzkumných úkolů a jejich cenné rady.

Chtěl bych dále poděkovat vedení FN Ostrava za vytvoření podmínek k realizaci mé práce, zejména pak MUDr. Svatoplukovi Němečkovi, řediteli nemocnice. Práce byla vypracována v rámci řešení projektu MŠM 6198959216.

Děkuji mojí rodině za trpělivost a podporu.

Seznam použitých zkratek

ABCAI	ATP-binding cassette AI
ADN	adiponektin
A-FABP	adipocytární protein vázající mastné kyseliny
ALT	alaninaaminotransferáza
AST	aspartátaminotransferáza
AUC	oblast pod křivkou
BMI	index tělesné hmotnosti
BMD	kostní minerální denzita
CBG	kortikosteroidy vážící globulin
CIMT	intima-media thickness arteria karotis
CMKLR1	chemokinu podobný receptor 1
CRP	C-reaktivní protein
DHEAS	dehydroepiandrosteron sulfát
E2	estradiol
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ERT	estrogenní substituční terapie
FGF	fibroblastový růstový faktor
FGF-21	fibroblastový růstový faktor 21
FSH	folikulystimulující hormon
Gluk	glykémie
GLUT1	glukózový transportér 1
GMT	gama – glutamyl transferáza
HbA1c	hemoglobin A1c
Hb	hemoglobin
HDL	cholesterol v lipoproteinech s vysokou denzitou
HERS	Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study
HL	hepatická lipáza
HMW	vysoká molekulová hmotnost

HRT	hormonální substituční terapie
HT	hormonální terapie
Chol	celkových cholesterol
ICHS	ischemická choroba srdeční
IMS	Mezinárodní společnost pro menopauzu
JAK	janus kináza
KVO	kardiovaskulární onemocnění
LBP	lipidy vážící proteiny
LCAT	lecitincholesterolacyltransferáza
LD	laktát dehydrogenáza
LDL	lipoprotein s nízkou hustotou
LH	luteotropní hormon
LIF	leukemický inhibiční factor
LIFT	Long-Term Intervention on Fractures with Tibolone
LMW	nízká molekulová hmotnost
LP	leptin
LPL	lipoproteinová lipáza
MPA	medroxyprogesteronacetát
NCEP ATP III	The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
OCIF	inhibiční faktor osteoklastogeneze
OPG	osteoprotegerin
Osk	osteokalcin
PEPI	postmenopauzální estrogení/progestinová intervernce
PTH	parathormon
RANK	receptorový aktivátor nukleárního faktoru Kappa b
RARRES2	respondér receptoru kyseliny retinoidové 2
Rmh	relativní molekulová hmotnost
ROC	receive operating curve
RBP 4	retinol vážící protein 4
SHBG	sexuální hormony vážající globulin
STAT	přenašeči signálu a aktivátory transkripce
STEARs	selektivní regulátory tkáňové estrogení aktivity

TAG	triacylglyceroly
TIMP1	tkáňový inhibitor metaloproteinázy 1
TNF-alfa	tumor nekrotický faktor alfa
TSH	tyreostimulační hormon
T skore	vztah aktuální kostní density k průměru a směrodatné odchylce fantomu nezávisle na věku pacienta
WHI	Women's health initiative
WHR	poměr pas boky
Z skore	vztah aktuální kostní denzity k průměru a směrodatné odchylce fantomu u stejně starých osob

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	5
1 TEORETICKÁ ČÁST	10
1.1 Úvod	10
1.2 Charakter hormonálních změn po chirurgicky indukované menopauze	11
1.2.1 Hypofyzární hormony	11
1.2.2 Sexuální steroidní hormony	12
1.2.3 Vazebné proteiny pro sexuální hormony	12
1.3 Vliv menopauzy na metabolismus lipidů	13
1.4 Vliv menopauzy na tělesnou konstituci	15
1.5 Hormonální substituční terapie	16
1.5.1 Estrogeny v rámci hormonální substituční terapie	16
1.5.1.1 Vliv estrogenní substituční terapie na metabolismus lipidů a kardiovaskulární riziko	17
1.5.1.2 Estrogenní hormonální substituční terapie a kostní metabolismus	20
1.5.2 Tibolon	22
1.5.2.1 Tibolon a laboratorní ukazatele kardiovaskulárních onemocnění a kardiovaskulární riziko	23
1.5.2.2 Tibolon a kostní metabolismus	25
1.6 Tuková tkáň a adipokiny	25
1.6.1 Leptin	26
1.6.2 Adiponektin	31
1.6.3 A-FABP	35
1.6.4 FGF-21	38
1.6.5 Chemerin	41
1.6.6 Osteoprotegerin	42
2 CÍLE PRÁCE	44
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	45
3.1 Vývoj a validace ELISA souprav	45
3.2 Ověření hypotéz a výsledků experimentálních studií v klinických pilotních studiích	46
3.2.1 Soubor sledovaných osob	46
3.2.2 Odběry biologického materiálu, separace, uložení a analýza	47
3.3 Statistické zpracování dat	49
4 VÝSLEDKY	50
4.1 Vývoj a validace ELISA soupravy na stanovení adipokinů (1,2,3)	50
4.2 Ověření hypotéz a výsledků experimentálních studií (které se věnovaly adipokinů a chirurgicky indukované menopauzy) v klinických pilotních studiích	51
5 DISKUSE	110
5.1 Vliv operační kastrace na hodnoty sexagenů	110
5.2 Vliv indukované menopauzy a HRT na ostatní parametry klinické biochemie	113

5.3	Leptin a indukovaná menopauza.....	113
5.4	Adiponektin a indukovaná menopauza	117
5.5	AFAB-P a chirurgicky indukovaná menopauza.....	120
5.6	FGF-21 a chirurgicky indukovaná menopauza	122
5.7	Chemerin a indukovaná menopauza	124
5.8	Osteoprotegerin a indukovaná menopauza	126
6	ZÁVĚR.....	128
7	SOUHRN	129
8	SUMMARY	135
9	SEZNAM VLASTNÍ LITERATURY A PREZENTACÍ VZTAHUJÍCÍCH SE K TÉMATU	139
10	LITERATURA.....	141

1 . TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Úvod

Během svého života prochází žena celou řadou období, která se vzájemně výrazně liší hormonální aktivitou ovárií. Po období puberty nastává fertillní období spojené s maximem hormonální aktivity. Po něm nastává menopauza, kdy dochází k jejímu postupnému poklesu. Specifickým druhem menopauzy je menopauza indukovaná.

Dle klasifikace Mezinárodní společnosti pro menopauzu (International Menopause Society, IMS) je indukovaná menopauza definována jako ztráta menstruace, která následuje po chirurgickém odstranění obou vaječníků spojeném často s hysterektomií nebo po iatrogenní destrukci ovariální funkce chemo či radioterapií. U žen po chirurgicky indukované menopauze fertilita, na rozdíl od ostatních typů menopauzy, končí bezprostředně po provedení chirurgického výkonu. Termín chirurgická menopauza odpovídá provedenímu chirurgickému výkonu – bilaterální ovaektomii u dosud menstruuících žen. (Donát J, 2001) Chirurgicky indukovaná menopauza je závažným nevratným procesem, který má bezprostřední dopad jednak v podobě akutní symptomatologie postkastračního syndromu a jednak také v následném rozvoji estrogen deficitního organického syndromu a metabolického estrogen – deficitního syndromu, který se klinicky manifestuje ve formě dyslipidémie, arterosklerózy a osteoporózy. Hlavním důsledkem kastrace u žen fertillního věku, v premenopauze a v peri-menopauze je vznik postkastračního estrogen-deficitního syndromu, který svojí závažností zhoršuje kvalitu života a ohrožuje její zdraví. (Bachmann G, 2001) V konečném důsledku kardiovaskulárních komplikací a osteoporotických zlomenin představuje dokonce ohrožení života. (Randell KM et al. 2002)

Metabolický dopad kastrace dokazuje poměrně často a rychle vznikající porucha lipidového metabolismu po kastraci. Postmenopauzální ženy mají vyšší celkovou hladinu cholesterolu, LDL cholesterolu, TAG a lipoproteinů a nižší hladiny HDL cholesterolu než ženy v premenopauze. (Jensen J et al. 1990; Campos H et al. 1988; Li Z et al. 1996) Estrogeny ovlivňují aktivitu lipoproteinové lipázy (LPL), enzymu regulujícího metabolismus lipoproteinů, kdy po menopauze dochází ke zvýšené aktivitě tohoto enzymu a v jejím důsledku ke vzniku proaterogenního lipidového profilu. S nástupem menopauzy je spojena

zvýšená prevalence LDL. Je důsledkem vyšší aktivity lipoproteinové lipázy u postmenopauzálních žen. (Carr MC et al. 2003; Berg GA et al. 2000) Aktivita LPL vykazuje inverzní vztah k endogenní koncentraci estrogenů. (Tikkanen MJ et al. 1986) Kromě již zmíněných laboratorních parametrů, které jsou považovány za běžné rizikové faktory rozvoje kardiovaskulárních onemocnění (KVO), se předpokládá významná role v etiopatogenezi a ve zvýšení incidence KVO a jejich komplikací také u relativně nedávno objevených adipokinů, jako jsou např. adiponektin, leptin, A-FABP, chemerin nebo FGF-21. Jejich vztah k hormonálním změnám, které doprovázejí menopauzu a jejich podíl na metabolických změnách asociovaných s menopauzou nebyl doposud plně objasněn.

1.2 Charakter hormonálních změn po chirurgicky indukované menopauze

1.2.1 Hypofyzární hormony

Po kastraci ve fertilním věku dochází k závažným změnám v gonadotropní funkci. Chirurgická kastrace u žen fertilního věku vede k rychlému vzestupu hladin gonadotropinů – folikulostimulačního hormonu (FSH) a luteotropinu (LH) v krvi, přičemž vzestup FSH je při srovnání s dynamikou vzestupu LH rychlejší. Byla provedena řada studií blíže specifikujících charakter změn v sekreci hypofyzárních gonadotropinů po kastraci. (Muttukrishna S et al. 2002, Alexanris E et al. 1997) Při vyšetření hodnot LH a FSH v souboru žen po kastraci bylo zjištěno, že u žen fertilního věku vede chirurgická kastrace již 4. pooperační den k výraznému zvýšení hladin gonadotropinů. (Donát J et al. 1983) Jejich sérová koncentrace prudce roste a postmenopauzálních hodnot pak dosahují oba gonadotropiny už za týden po operaci. V dalším průběhu v konkrétní studii koncentrace FSH dále rostla a za měsíc po operaci dosáhla koncentrace FSH v séru průměrné hodnoty 128,6 IU/l. Vysoké hodnoty FSH přetrvávaly až do 4. měsíce, kdy dosahovaly maxima 149,0 IU/l. Od 6. měsíce byl zaznamenán poměrně prudký pokles, načež až do 12. měsíce se hodnoty pohybovaly v rozmezí 57-80 IU/l. Hladiny LH dosáhly svého maxima za 2 měsíce po kastraci hodnotou 140,4 IU/l. (Donát J et al. 1983) Po chirurgické kastraci provedené u žen v postmenopauze je charakter změn v koncentraci gonadotropinů odlišný. Bylo zjištěno téměř dvojnásobné zvýšení hodnot LH a poněkud menší vzestup FSH 6.den po operaci, ale již 10.den se hodnoty obou hormonů vracely k výchozím hodnotám před operací. (Donát J et al. 1983)

1.2.2 Sexuální steroidní hormony

Kastrace se výrazně odráží i v periferních hladinách pohlavních steroidů. Po oboustranné ovariectomii dochází u žen fertilního věku k prudkému poklesu hladin estradiolu ihned po odstranění ovárií. (Bachman G, 2001) Po menopauze ovlivňuje oboustranná ovariectomie periferní hladiny estradiolu jen nepatrně, vede však k významnému snížení hladin androgenů, zejména testosteronu, což demonstruje skutečnost, že ovária nelze ani po menopauze považovat za endokrinně vyhaslý orgán, neboť vedle malých množství estrogenů produkují ovária až do pozdního věku testosteron. Testosteron kromě své úlohy v metabolismu navíc příznivě ovlivňuje sexuální citění žen po menopauze. Krátkodobé studie, které porovnávaly hladiny hormonů v ovariální véně a periferním žilním systému však potvrdily, že ovárium je i v postmenopauze zdrojem testosteronu. (Aiman J et al. 1986; Sluijmer AV et al. 1995) Tato hypotéza byla rovněž ověřena studiemi, které zaznamenaly po 6-8 týdnech po bilaterální oophorektomii výrazný pokles sérových koncentrací testosteronu. (Judd HL et al. 1974) I když jsou hladiny testosteronu časně po bilaterální ovariectomii sníženy, při porovnání hladin testosteronu u žen v odstupu 1-31 let po výkonu a u žen s intaktními vaječníky byly již po 5 letech po výkonu rozdíly v hladinách testosteronu minimální. (Studd JWW et al. 1978)

1.2.3 Vazebné proteiny pro sexuální hormony

Menopauza je kromě poklesu hladin ženských pohlavních hormonů spojena s poklesem produkce sexuální hormonu vázícího globulinu (SHBG). SHBG je specifický vazebný protein sexuálních hormonů. (Pasquali R et al. 1997) Obsahuje jedno vazebné místo pro steroidní hormony, s vysokou afinitou k testosteronu a nižší afinitou k estradiolu. Z toho důvodu nacházíme vyšší koncentrace SHBG v krvi u žen než u mužů, dále v pokročilém těhotenství nebo při podávání estrogenů. Podání androgenů koncentraci SHBG v krvi naopak snižuje. (Kubíček V, 2002) SHBG je produkován játry, jeho biologický poločas je 7 dní a syntéza je regulována koncentracemi cirkulujících androgenů a estrogenů, hormony štítné žlázy a růstovým hormonem. (Toscano V et al. 1992; Plymate SR et al. 1990) Kromě SHBG jsou testosteron a estradiol vázány v plazmě ještě na albumin (estradiol) nebo vazebnou bílkovinu pro kortizol (testosteron). Volná, biologicky účinná frakce hormonů, představuje jen několik procent z celkového množství. Vzhledem k asociaci mezi nízkými hladinami SHBG a inzulínovou rezistencí, kdy je tento stav doprovázen snížením produkce SHBG

v jaterním parenchymu a kardiovaskulárním rizikem, je považováno snížení SHBG za samostatný rizikový faktor. (Sutton-Tyrrell K et al. 2005) Nízké hladiny SHBG jsou spojeny s nízkou hladinou HDL cholesterolu, vysokou hladinou TAG a abdominální obezitou vyskytující se u metabolického syndromu. (Hajamor S et al. 2003) Koncentrace SHBG se mění vlivem různých fyziologických a patologických procesů. Zvýšení SHBG může být vyvoláno fyziologicky v průběhu těhotenství (kdy je vyšší hladina estrogenů), v dětství u obou pohlaví, při podávání hormonálně substituční terapii nebo kontracepci s estrogeny či tibolonu, při tumorech produkujících zvýšené množství estrogenů a thyreotoxikózy. (Toscano V et al. 1992; Hampl R et al. 2003) Snížení SHBG může být vyvoláno jaterním onemocněním, např. jaterní cirrhosou, při malnutrici, malabsorpci, anorexii, stavy spojenými se ztrátami nebo zvýšeným katabolismem bílkovin, stresem v důsledku operace, hypotyreózou, androgeny endogenního i exogenního původu, polycystickým ovariálním syndromem, při Turnerově syndromu, který je doprovázen nižšími hladinami androgenů a estrogenů, obezitou, u žen s hirsutismem či osob s akromegalií. (Gravholt C et al. 1999; Toscano V et al. 1992)

1.3 Vliv menopauzy na metabolismus lipidů

Bylo prokázáno, že přirozená i indukovaná menopauza mají nepříznivý vliv na lipidový profil. V postmenopauze dochází k posunu v distribuci tuku - významně se zvyšuje abdominální a intraabdominální ukládání tuku (androidní distribuce). Androidní typ ukládání tuku zřejmě souvisí se zvýšeným poměrem androgeny - estrogeny. Ten je též provázen aterogenním lipoproteinovým a apolipoproteinovým profilem. I když je známa asociace mezi abdominální adipositou a abnormalitami v metabolismu lipidů, přesný patofyziologický mechanismus vzájemných souvislostí není identifikován. Podíl jednotlivých faktorů na vzniku těchto změn není znám. Vysoké množství abdominálního tuku je spojeno s nárůstem inzulínové rezistence, volných mastných kyselin a s poklesem hladiny adiponektinu. Tyto faktory přispívají ke zvýšené sekreci částic obsahujících apolipoprotein B, což vede k výskytu hypertriglyceridémie a zvýšené aktivitě hepatické lipázy. (HL) To ve svém důsledku vede k nárůstu výskytu proaterogenních LDL částic a poklesu antiaterogenních HDL2 částic. Postmenopauzální ženy mají vyšší celkovou hladinu cholesterolu, LDL cholesterolu, TAG a lipoproteinů a nižší hladiny HDL cholesterolu než ženy v premenopauze. (Jensen J et al. 1990; Campos H et al. 1988; Li Z et al. 1996) I když elevace LDL není součástí metabolického syndromu, s nástupem menopauzy dochází ke zvýšení hladiny LDL

o 10-20 %. (Poehlman ET et al. 1997; Matthews KA et al. 1989) K rozsáhlým změnám v koncentraci LDL dochází již během přechodu premenopauzy v perimenopauzu. (Matthews KA et al. 2001) Zvyšují se plazmatické koncentrace celkového cholesterolu, LDL cholesterolu, TAG, Lp (a), naopak klesá HDL cholesterol a apoproteiny A-I a A-II. Hodnoty apolipoproteinu B, primárního apolipoproteinu LDL částic, jsou u žen v postmenopauze rovněž vyšší. (Li Z et al. 1996) Kromě zvýšení hladiny LDL dochází rovněž ke změně složení LDL částic. LDL zahrnují spektrum částic, které se vzájemně liší svou denzitou, chemickým složením a aterogenním potenciálem. Převážná část malých denzních LDL je spojen s vyšším výskytem infarktu myokardu a závažností KVO. Riziko výskytu KVO je 3x vyšší u žen s malými denzními LDL částicemi než u žen s velkými LDL částicemi. (Austin M, et al. 1988) Prevalence malých denzních LDL částic je v premenopauze nízká (10-13 %), v postmenopauze však dochází k jejímu nárůstu na 30 – 49 %. (Campos H et al. 1988; Austin M et al. 1988; Carr MC et al. 2000) Zvýšení hladiny TAG bylo prokázáno již s nástupem perimenopauzy (Jensen J et al. 1990), v postmenopauze pak v dochází k dalšímu zvýšení hladiny TAG. (Matthews KA et al. 2001) Prospektivně byl zaznamenán 16 % nárůst hodnot TAG u žen během časového období transformace od premenopauzy k postmenopauze. (Poehlman ET et al. 1997) Hladina TAG se proto zdá být přesnějším predikčním ukazatelem kardiovaskulárního rizika u žen. (Hokanson JE et al. 1996) Při prospektivním sledování po 6 letech od nástupu menopauzy byl zaznamenán nárůst hladiny TAG u postmenopauzálních žen, zatímco u jejich vrstevnic, u kterých menopauza doposud nenastala zůstaly hodnoty TAG nezměněny. (Lindquist O et al. 1982) Zvýšená prevalence LDL spojená s nástupem menopauzy může být vysvětlena vyšší aktivitou LPL u postmenopauzálních žen. (Carr MC et al. 2003; Berg GA et al. 2000) Aktivita LPL vykazuje inverzní vztah k endogenní koncentraci estrogenů. (Tikkanen MJ et al. 1986) LPL hydrolyzuje 1(3)-esterickou vazbu TAG, chylomikronů nebo VLDL, jejichž povrch obsahuje apo C-II. Primárním produktem této lipolýzy je 2-monoacylglycerol a spontánní isomerizací tohoto lipidu získává LPL aktivitu proti 1-monoacylglycerolu. Výslednými konečnými produkty hydrolýzy TG zprostředkované LPL jsou neesterifikované MK, monoacylglycerol a glycerol. MK z tohoto procesu zachycuje tuková tkáň, jsou dále případně po jídle re-esterifikované a uskladněné. (Santamarina-Fojo S et al. 1998) Čím vyšší je aktivita HL tím vzniká více proaterogenních částic s nízkou denzitou. Dyslipidémie je jednou z komponent metabolického syndromu. Metabolický syndrom je spíše kombinací úzce asociovaných rizikových faktorů, které vzájemnou kombinací signifikantně zvyšují kardiovaskulární riziko. (Lakka HM et al. 2002) Komponentami metabolického syndromu jsou viscerální (abdominální) obezita, inzulínová

rezistence, hypertenze a dyslipidémie (hypertriglyceridémie, snížené hodnoty HDL a zvýšený výskyt LDL částic). Manifestace metabolického syndromu zdá se být podmíněná kombinací faktorů, jednak genetických a jednak vnějších environmentálních faktorů. (Selby JV, et al. 1991) Postmenopauzální stav je spojen s 60 % nárůstem rizika výskytu metabolického syndromu po vyloučení faktorů ovlivňujících jeho výskyt jako jsou věk, BMI a fyzická aktivita. (Park YW et al. 2003) Předpokládá se, že zhruba polovina kardiovaskulárních příhod u žen je spojena s výskytem metabolického syndromu. (Wilson PW et al. 1999)

1.4 Vliv menopauzy na tělesnou konstituci

Nástup menopauzy se výrazně odrazí ve změně tělesné konstituce. Obecně lze rozlišit 2 základní typy distribuce tukové tkáně, centrální akumulaci, kdy je tuk ukládán intraabdominálně (androidní distribuce) a jednak gluteofemorální neboli gynodini (typická pro ženy v premenopauze). Estrogeny podporují akumulaci tukové tkáně právě v gluteofemorální oblasti. (Krotkiewski M et al. 1983) Pokles hladiny estrogenů v postmenopauze vede k přednostnímu ukládání tuku intraabdominálně. (Poehlman ET et al. 1995) Tento takzvaný androidní typ distribuce tukové tkáně je spojen s vyšším rizikem rozvoje diabetu mellitu, hypertriglyceridémie, zvýšenou hladinou LDL a hypertenzí. (Despres JP et al. 2003) Bylo prokázáno, že intraabdominální akumulace tukové tkáně je rizikovým faktorem výskytu kardiovaskulárních onemocnění, a to nezávisle na celkovém množství tukové hmoty. (Kannel WB et al. 2001) I přes názor, že menopauza je spojena s nárůstem tělesné hmotnosti, většina studií tento názor nepotvrzuje. (Poehlman ET et al. 1997; Crawford SL et al. 2000) Ženy ve středním věku sice zvyšují svou tělesnou hmotnost o 0,55 kilogramu ročně, ale tento nárůst není dle některých autorů ovlivněn nástupem menopauzy. (Guo SS et al. 1999; Kuller L et al. 1997) Změně distribuce tukové tkáně v postmenopauze je nezávislá na nárůstu tělesné hmotnosti, dochází k ní i při absenci nárůstu tělesné hmotnosti. Ženy s větším množstvím viscerálního tuku mají vyšší kardiovaskulární mortalitu a výskyt metabolických abnormalit. (Lapidus L et al. 1984) U jedinců s vyšším množstvím viscerálního tuku byly prokázány rozdíly v koncentraci VLDL, LDL, HDL, hladině glukózy nalačno. (Pascot A et al. 2001) Observační studie prokázaly vztah mezi nástupem menopauzy a přednostním zvýšením výskytu abdominální obezity, tento nárůst je nezávislý na věku či celkovém množství tukové hmoty. (Poehlman ET et al. 1995; Zamboni M et al. 1992; Bjorkelund C et al. 1996) Při prospektivním porovnání žen stejného věku, z nichž jedna

skupina byla v premenopauze a druhá již v postmenopauze, bylo zjištěno, že u postmenopauzálních žen byl zvětšen poměr pas hýždě a celkové množství tukové hmoty bylo rovněž větší u žen v postmenopauze. (Poehlman ET et al. 1995) Nárůst množství abdominální tukové tkáně v postmenopauze byl rovněž prokázán zobrazovacími metodami při vyšetření počítačovou tomografií. (Toth MJ, 2000; Carr MC et al. 2003) Změny v distribuci tukové tkáně nejsou však neměnné. V důsledku pohybové aktivity v postmenopauze lze pozorovat změny v zastoupení tukové tkáně. Pokles hmotnosti v důsledku redukce množství tukové tkáně při fyzické aktivitě se týká především viscerální tukové tkáně. Při aerobní zátěži dochází preferenčně k jejímu odbourávání, k redukci jejího množství tak dochází dříve než u podkožní tukové tkáně. I mírný pokles tělesné hmotnosti v důsledku tělesné aktivity vede ke zlepšení inzulínové rezistence. Pravidelná fyzická aerobní zátěž vede ke zlepšení inzulínové rezistence nezávisle na redukci hmotnosti.

1.5 Hormonální substituční terapie

Hormonální substituční terapie (HRT) je „lékem volby“ pro léčbu akutních příznaků klimakterického syndromu a pro prevenci některých orgánových a metabolických změn vyplívajících z deficitu estrogenů.

1.5.1 Estrogeny v rámci hormonální substituční terapie

Terapeutické podávání estrogenů vede u postmenopauzálních žen k odstranění všech symptomů akutního klimakterického syndromu a prevenci některých organicko-metabolických změn. Nízkodávkovaná HRT obsahuje poloviční dávky estrogenů a je jedním z trendů současné klimakterické medicíny. Obecný trend je při léčbě začínat nízkými dávkami. Aplikační režimy spočívají v podávání estrogenů kontinuálně nebo cyklicky po 21 dnů se 7-denní přestávkou. Estrogeny při dlouhodobém podávání zvyšují riziko karcinomu endometria. Proto musí být podávány v kombinaci s progestiny. Estrogeny mohou být podávány perorálně, transdermálně, perkutánně, intranasálně, subkutánně nebo vaginálně. Léčebná perorální dávka představuje 1-4 mg estradiolu (estradiolvalerát, 17 β -estradiol) nebo 0,3-1,25 mg konjugovaných estrogenů denně. Ekvivalentem je transdermální forma aplikovaná jednou nebo dvakrát týdně ve formě transdermálního terapeutického systému (TTS) uvolňujícího dle preparátu 25-100 μ g estradiolu denně nebo jedenkrát denně ve formě gelu (1,5 mg estradiolu). Dalšími možnostmi je aplikace intranasální sprejová v dávce 300 μ g denně, subkutánní vstřebatelné tělísko s 25 mg estradiolu zajišťující po dobu 6 měsíců

uvolňování dávky odpovídající 50 µg transdermální aplikace. Dávce 2 mg 17β-estradiolu odpovídá 0,625 mg konjugovaných estrogenů perorálně nebo 50 µg estradiolu transdermálně. Biologickým ekvivalentem 2 mg estradiovalerátu je 1,5 mg 17β-estradiolu. Účinná látka, syntetický 17beta-estradiol je chemicky a biologicky identický s endogenním lidským estradiolem. Nahrazuje úbytek produkce estrogenů u žen v menopauze a zmírňuje symptomy menopauzy. Úlevy od menopauzálních symptomů je dosaženo během několika prvních týdnů léčby. Endogenní 17 beta-estradiol vyvolává a udržuje primární a sekundární pohlavní znaky. Biologický efekt 17 beta-estradiolu je zprostředkován množstvím specifických estrogenových receptorů. Komplex steroidních receptorů indukuje syntézu specifických proteinů. 17 beta-estradiol zvyšuje SHBG-BC (vazebnou kapacitu globulinu vázajícího pohlavní hormonů) a CBG-BC (vazebnou kapacitu globulinu vázajícího kortikosteroidů). Gonadotropní FSH a LH jsou potlačeny. Po perorálním podávání 17beta-estradiolu dochází k rychlému a účinnému vstřebávání z gastrointestinálního traktu. Maximální plazmatické koncentrace je dosaženo během 4-6 hodin. Poločas 17 beta-estradiolu je přibližně 14-16 hod. Více než 90 % 17 beta-estradiolu se váže na proteiny v plazmě. 17 beta-estradiol je oxidován na estron, který je poté přeměněn na estrogen- sulfát. Obě přeměny probíhají hlavně v játrech. Estrogeny jsou vylučovány do žluči a poté reabsorbovány ze střeva. Během enterohepatické cirkulace dochází k degradaci. 17beta-estradiol a jeho metabolity jsou vylučovány močí (90-95 %) jako biologicky neaktivní glukuronidy a sulfátové konjugáty nebo stolicí (5-10 %) ve většinou nekonjugované formě.

1.5.1.1 Vliv estrogení substituční terapie na metabolismus lipidů a kardiovaskulární riziko

Vliv estrogenů výrazně projevuje na metabolismu lipidů. Estrogeny zvyšují počet LDL-receptorů v hepatocytech a tím i clearance LDL-částic z krevní plasmy. To pak v krvi léčených žen vede k snížení hladiny LDL-cholesterolu a naopak k zvýšení koncentrace "kardio-protektivního" HDL-cholesterolu. Tento efekt je silnější u perorálně podaných estrogenů, které se z portálního oběhu přímo dostávají do jater, než po transdermální ERT (Whitcroft SI et al. 1994). Na druhé straně je zase transdermální forma ERT provázena nižší indukcí tvorby VLDL lipoproteinů, a tím i nižší hladinu "rizikových" triacylglyceridů v krvi. (Strandberg TE et al. 2003) Obecně uznávané antiaterogenní změny navozuje HRT v lipidovém spektru. Perorální estrogeny způsobují pokles LDL-C (frakce cholesterolu v lipoproteinech o nízké denzitě) a zvýšení hladiny HDL-C (frakce cholesterolu v lipoproteinech o vysoké denzitě). Zároveň zvyšují hladiny TAG, což ale nemá klinický význam

s výjimkou případů iniciální hypertriglyceridémie. Transdermální estradiol způsobuje obecně nižší pokles LDL-C a nižší vzestup hladin HDL-C bez vzestupu či dokonce s poklesem hladin triglyceridů. U kombinované perorální HRT je efektivita výrazně podmíněna skladbou preparátu, zvolenou gestagenní složkou. Přidání gestagenů s androgenní aktivitou v běžných dávkách, ačkoli neovlivňuje změny LDL-C, způsobuje snížení pozitivního efektu perorálních i transdermálních estrogenů na HDL-C. Přidání progestinů bez androgenní aktivity neovlivňuje estrogeny vyvolané změny lipidového profilu. (Seed M et al. 2004) Transdermální ani perorální estrogení substituční terapie neovlivňuje inzulínovou rezistenci. (Karjalainen A et al. 2001) Estrogeny podporují gynoidní distribuci tělesného tuku, která je pro riziko ischemické choroby srdeční méně riziková. Estrogeny působí také vasodilatačně. (Madeddu P et al. 2000) Byl prokázán pokles hladin cytoadhesivních molekul při podávání HRT a snížení hladin homocysteinu na premenopauzální hodnoty. (Friso S et al. 2007) Nově objevené změny, jako je signifikantní vzestup CRP při užívání perorálních estrogenů, by mohly vysvětlit zvýšení kardiovaskulárního rizika v počátečním období užívání HRT zejména u žen s anamnézou ischemické choroby srdeční. (Garnero P et al. 2002) Při užití vysoce citlivých souprav bylo zjištěno, že mírné zvýšení CRP, běžnými soupravami nedetekovatelné, je citlivým nezávislým ukazatelem rizika komplikací aterosklerózy a dysfunkce endotelu. Pozitivní ovlivnění lipidového spektra i některých dalších faktorů aterogeneze však není zárukou jednoznačně pozitivního vlivu na kardiovaskulární systém. Vývoj názorů na vliv HRT na riziko ischemické choroby srdeční procházel postupně různými fázemi. Za počátek HRT lze považovat zavedení konjugovaných equinních estrogenů ve 40. letech 20. století. Vynikající výsledky observačních populačních studií vedly k přehnanému pozitivnímu obrazu estrogení terapie. Framinghamská studie publikovaná v roce 1978 ukázala významný vzestup incidence ischemické choroby srdeční u žen po menopauze a naznačila možné pozitivní ovlivnění rizika ICHS podáváním substituční terapie. (William P et al. 1986) Řada menších studií publikovaných v 80. a 90. letech ukázala ochranný vliv HRT. (Busch TL et al. 1987) Následovaly studie potvrzující pozitivní efekty na lipidový profil, distribuci podkožního tuku, vasodilataci i mírnou hyperhomocysteinémií (nezávislý rizikový faktor ICHS). Jako důkaz pozitivního působení HRT na riziko ischemické choroby srdeční se jeví výsledky observační studie Nurses' Health Study. (Grodstein F, et al. 1996) V této prospektivní studii 121700 vdaných zdravotních sester probíhající od roku 1976 metodou dotazníků zasílaných každé 2 roky zjistila, že HRT snižuje riziko ICHS u zdravých žen nezávisle na délce podávání či dávce estrogenu. (Grodstein F et al. 1996) Studie HERS (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study) měla ověřit účinek HRT v sekundární prevenci

ICHS. (Grady D et al. 2002) Jednalo se o randomizovanou dvojitě slepou prospektivní studii, do které bylo zařazeno 2760 žen s ischemickou chorobou srdeční, poměrně vysokého průměrného věku - 67 let. Jedné skupině bylo podáváno 0,625 mg konjugovaných ekviních estrogenů + 2,5 mg medroxyprogesteronacetátu kontinuálně, druhé placebo. V průběhu 4,1 roku trvání studie se nesnížil výskyt koronárních příhod v léčené skupině. V prvním roce trvání studie bylo dokonce v této skupině pozorováno více koronárních příhod než ve skupině placebové. Méně koronárních příhod se objevilo až ve 4. roce sledování. Navíc se zvýšilo riziko tromboembolické nemoci, onemocnění žlučníku a karcinomu prsu. Jedna z teorií vysvětluje tento nepříznivý výsledek destabilizací aterosklerotického plátu podáváním HRT. Ve studii PEPI (Postmenopausal Estrogen/Progestin Intervention) podávání perorální HRT významně zvyšovalo hladinu C-reaktivního proteinu, který je markerem nestability. (The Writing Group for the PEPI Trial, 1995) Odpůrci studie HERS jí vyčítají nejen vysoký průměrný věk. Nicméně, dle současných znalostí lze říci, že HRT není z hlediska sekundární prevence u jedinců s kardiovaskulárními komplikacemi indikováno.

Výsledky HERS i reanalýzy přináší stále stejnou informaci. Není účelné zahajovat hormonální substituční terapii v období 10-20 let po menopauze ve snaze o sekundární prevenci ICHS. Podobné závěry zjistila studie Women's Health Initiative (WHI). Byla prezentována jako jedna z dlouho očekávaných studií o vlivu HRT na primární prevenci ICHS. Do studie byly v letech 1993-8 zařazovány ženy ve věku 50-79 let minimálně 6 měsíců po menopauze. Po minimálně tříměsíčním přerušení léčby bylo zařazeno i 26 % žen, které již HRT užívaly. Studie probíhala ve dvou základních liniích - čistě estrogenní léčba pro ženy po hysterektomii a kombinovaná estrogengestagenní terapie pro ženy s dělohou. Právě větev studie s kombinovanou HRT ve složení 0,625 mg CEE a 2,5 mg MPA byla po 5,2 roku trvání studie předčasně ukončena pro převahu nepříznivých účinků léčby nad placebem. V souboru 8 506 uživatelů a 8 102 kontrol bylo zjištěno zvýšení rizika karcinomu prsu, ICHS, cévní mozkové příhody a tromboembolie. Preventivní vliv na zlomeniny krčku kosti stehenní, karcinom endometria a kolorektální karcinom nepostačuje v této studii k vyvážení negativ. (Writing Group for the Women's Health Initiative, 2002) Protektivní vliv HRT v primární i sekundární prevenci ICHS byl prokazatelně doložen v rozsáhlých observačních studiích a jejich metaanalýzách. Prospektivní randomizované intervenční studie přinesly změnu v tomto optimistickém názoru. Zcela byla opuštěna indikace HRT sekundární prevence ICHS, zejména na základě studie HERS. Avšak nadále není anamnéza ICHS považována za kontraindikaci HRT.

1.5.1.2 Estrogenní hormonální substituční terapie a kostní metabolismus

Estrogeny významně zasahují do regulace kostního metabolismu. Estrogen brání úbytku kostní tkáně v důsledku menopauzy nebo ovariectomie. Výsledky profylaxe osteoporózy jsou výrazně lepší než výsledky jakékoli její léčby. Na kost estrogenu působí cestou estrogenního receptoru alfa. Estrogeny tlumí aktivitu osteoklastů a jejich prekurzorů, brání apoptoze osteoblastů cestou cytokinů a růstových faktorů, indukují v osteoblastech tvorbu osteoprotegerinu. Snižují metabolickou aktivitu kostní metabolické jednotky. Současně antagonizují vliv parathormonu a zvyšují absorpci kalcia ze střeva a jeho renální reabsorpci. V době dospívání po menarché jsou estrogenu nezbytné pro další vývoj skeletu a dosažení geneticky determinovaného maxima kostní hmoty. Nedostatek estrogenu zvyšuje aktivitu kostní remodelace. Nedostatek estrogenu v dospělosti, po přirozené nebo arteficiální menopauze, vede ke zvýšení frekvence aktivace tzv. kostních remodelačních jednotek s akcelerací kostní remodelace s převahou resorpce nad novotvorbou kosti. Při nedostatku estrogenu kost také neodpovídá dostatečným zvýšením kostní novotvorby na mechanickou stimulaci. Navozená nerovnováha kostní remodelace vede k úbytku kostní hmoty a k poruchám mikroarchitektury kosti, trámce se postupně ztenčují až perforují a lámou. Tyto změny jsou zpočátku patrné zejména v metabolicky aktivnější trámčité kosti (obratlova těla, distální úsek předloktí). Určitá ztráta kostní hmoty dána úbytkem ovariálních estrogenu po menopauze je u žen fyziologická a znamená pravděpodobně ztrátu kosti, která se u žen vytvořila „navíc“ v období modelace skeletu pro budoucí potřeby růstu plodu a laktaci.

U zdravých žen s normálním množstvím kostní hmoty tento fyziologický úbytek kosti po menopauze nemusí představovat větší riziko osteoporózy, ale například u žen, u kterých nebylo dosaženo geneticky determinovaného maxima kostní hmoty, je riziko osteoporózy a zlomenin po menopauze vyšší. Je známo, že v prvních letech po menopauze ubývá až třetině žen více než 3 % kostní hmoty ročně (tzv. „fast losers“). Jaká je podstata této interindividualní variability postmenopauzálního úbytku kosti zatím nebylo objasněno. Zajímavé výsledky přináší experimentální práce u myší, které prokazují, že ztráta kostní hmoty nemusí být důsledkem pouze ztráty ovariální sekrece estrogenu, ale významně se zde uplatňuje i vzestup koncentrací gonadotropinu FSH (folikuly-stimulujícího hormonu). Nerovnováha kostní remodelace zpravidla přetrvává i v pozdějším věku a podíl deficitu estrogenu na této nerovnováze byl potvrzen, i když je zřejmé, že s postupujícím věkem se uplatňují i další faktory úbytku kostní hmoty (nedostatek vápníku a vitamínu D, snížená aktivita osteoblastů atd.). Mezi hlavní doprovodné jevy HRT nepochybně patří prevence úbytku kostní hmoty, ke kterému dochází v důsledku poklesu hladiny estrogenu v menopauze. Díky svému

antiosteoklastickému účinku napomáhají estrogény v prevenci vzniku postmenopauzální osteoporózy. S přihlédnutím k výsledkům dosavadních klinických studií je zřejmý jeho příznivý poměr přínosu a rizika. Nejméně u jedné třetiny žen lze v souvislosti s deficitem ovariálních hormonů zaznamenat akcelerovaný úbytek kostní hmoty, jemuž nelze zabránit samotnou suplementací vápníkem a vitamínem D. U těchto žen je účinnému potlačení estrogen-dependentního zvýšení osteoresorpce nutná hormonální léčba, případně jiná účinná antiresorpční léčba. Léčba estrogény u starších postmenopauzálních žen po 70. roce života významně snižuje markery kostní resorpce. Účinnost léčby estrogény na kostní metabolismus je zcela nepochybná. Mechanismus účinku estrogenů na kost zahrnuje více faktorů, z nichž se za nejzávažnější považuje jednak snížení produkce cytokinů a zvýšení sekrece osteoprotegerinu po navázání hormonu na jeho receptory na osteoblastech, což vede ke snížení kostní resorpce, jednak potlačení apoptózy osteoblastů a osteocytů, což umožní uplatnění pozitivního vlivu mechanické zátěže na skelet. (Hughes DE et al. 1996) Výsledným efektem je jednak vyplnění nemodelačního prostoru a zvýšení denzity kostního minerálu, jednak uchování celkové kostní hmoty a její mikroarchitektury po celou dobu užívání HRT. Léčba estrogény u postmenopauzálních žen upravuje markery kostní remodelace na úroveň premenopauzálních hodnot a významně zvyšuje kostní denzitu. Studie WHI (Women's Health Initiative) potvrdila výsledky mnoha předchozích studií a jako první velká randomizovaná, placebem kontrolovaná studie prokázala, že léčba estrogény u žen po menopauze (≥ 50 let) skutečně významně snižuje riziko osteoporotických zlomenin, včetně zlomenin krčku stehenní kosti u starších postmenopauzálních žen. Účinek estrogenů na denzitu kostního minerálu je závislý na výši dávky. Za nejnižší dávky estrogenů, které postačují k udržení kostní hmoty, jsou považovány: 0,3 mg konjugovaných equinních estrogenů, 1 mg 17 β -estradiolu perorálně a 0,025 mg 17 β -estradiolu v transdermálním systému. (Recker RR et al. 1999; Ettinger B et al. 1992; Notelovitz M et al. 1987) Ochrana je účinná, dokud léčba pokračuje. Po ukončení HRT je rychlost úbytku kostní hmoty podobná jako u žen, které HRT neužívaly. Důkazy ze studie WHI a meta-analytických studií dokládají že HRT podávaná převážně zdravým ženám, ať již samotného estrogenu nebo kombinovaného s progestagenem, redukuje riziko zlomenin kyčle, páteře a jiných osteoporotických zlomenin. HRT také může zabránit zlomeninám u žen s nízkou hustotou kostní hmoty a/nebo zjištěnou osteoporózou, avšak údaje o tom jsou omezené. Při mimořádně vysokých dávkách estradiolu se u léčených žen množství kostní hmoty dokonce mírně zvyšuje, což bylo prokázáno histomorfometrickým vyšetřením kostních biopsií, získaných u žen před zahájením hormonální terapie a po 6 letech léčby. (Khastgir G et al. 2001) Pokud je HT užívána ženami v prvních letech po menopauze

jako prevence osteoporózy, prokazatelně snižuje riziko pro tento věk typických zlomenin distálního předloktí. (Randell KM et al. 2002) U starších žen vede pětileté užívání HT ke snížení rizika zlomenin obratlů a proximálního femuru o 34 %. (Writing Group for the Women's Health Initiative, 2002) Ochranný účinek estrogenů na kost ale trvá pouze po dobu jejich užívání. Vysazení hormonální terapie vede k podobnému ubývání kostní hmoty jako po menopauze. Podávání HRT by tedy mělo být dlouhodobé. Dlouhodobé setrvání na hormonální léčbě je však v současné době málo časté. Hledisko bezpečnosti je při rozhodování o léčbě jistě velmi důležité. Příznivý účinek nižších dávek estrogenů na kostní metabolismus byl opakovaně dokumentován.

1.5.2 Tibolon

Tibolon je derivát noretynodrelu, který příznivě ovlivňuje aktivitu estrogenových, progesteronových či androgenových receptorů, a pro tyto vlastnosti je využíván k substituci snížené produkce estrogenů u žen po menopauze. (Fait T, 2003) Výrazně omezuje její negativní doprovodné symptomy. Tibolon významně ovlivňuje aktivitu estrogenových, progesteronových či androgenových receptorů, a to přímo i nepřímo – prostřednictvím svých vlastních metabolitů. Je zástupce látek s tkáňově selektivním účinkem – STEARs (selective tissue estrogenic activity regulators). (Fait T, 2003) Selektivně estrogeně působí na kardiovaskulární systém, kostní tkáň, vaginální sliznici a klimakterické příznaky, ale nepůsobí tam, kde je estrogení účinek nežádoucí; tedy na prs a endometrium. Tibolon jako zcela jedinečná molekula příznivě ovlivňuje většinu symptomů estrogenního deficitu včetně omezení úbytku kostní hmoty u žen v období po menopauze. Navíc tlumí nepříjemné projevy klimakteria, přičemž významněji neovlivňuje kvalitu endometria a nevyvolává napětí prsů. Využívá se tedy především k substituci snížené tvorby estrogenů u žen po menopauze. (Fait T, 2007) Perorálně je podáván ve formě tablet o obsahu 2,5 mg účinné látky.

Tibolon je po perorálním podání velmi rychle vstřebáván, přičemž mateřská molekula podléhá intenzivní metabolizaci. To je příčinou jeho poměrně nízkých plazmatických koncentrací. Jeho metabolity je možné v plazmě detekovat již 30 min po aplikaci, přičemž maximálních koncentrací je dosaženo v rozmezí 1 až 1,5 hod. Koncentrace hydroxymetabolitů je vyšší než koncentrace ketoizomeru. Současný příjem potravy metabolismus tibolonu výrazněji neovlivňuje. Velice intenzivní biotransformaci tibolon prochází již ve stěně střeva, dále pak v játrech. Jedná se především o přeměnu na polární a farmakologicky aktivní produkty – dva hydroxymetabolity (3 alfa-OH-tibolon a 3 beta-OH-tibolon) a delta 4-izomer. Všechny tyto metabolity vznikají jako důsledek působení

monoxygenázy. Vzniklé metabolity rovněž disponují farmakologickým účinkem. Hydroxymetabolity mají účinky především estrogenní, delta 4-izomer tibolonu, jenž příznivě ovlivňuje zejména receptory pro progesteron a androgeny. (Fait T, 2003) Exkrece tibolonu probíhá především stolicí ve formě sulfatovaných sloučenin. Eliminace tibolonu tedy není závislá na ledvinných funkcích, i přesto, že menší množství podané dávky je vylučováno rovněž močí. Tibolon a jeho metabolity působí přímo na hormonální receptory a ovlivňují aktivitu enzymatických procesů, které v cílových tkáních určují hladiny vlastních aktivních estrogenů. Tyto procesy jsou selektivní – to znamená, že v každé tkáni je upřednostňována tvorba jiného metabolitu. Také účinek na enzymatické procesy je rozdílný. Inhibice sulfatázy je silná v prsu, střední v endometriu (přispívající k antiestrogennímu účinku) a nulová v kosti (umožňující silný estrogení vliv). Hydroxymetabolity působí na akutní klimakterický syndrom, cévní systém, poševní systém a kost stejně jako estrogen. V preklinických studiích tibolon zvyšuje diferenciaci buněk a stimuluje apoptózu normálních buněk prsu. (Fait T, 2007)

Tibolon vykazuje výrazné endokrinní účinky. V denní dávce 2,5 mg vede aplikace tibolonu k výraznému poklesu plazmatické hladiny FSH (cca o 40%) a LH (cca o 13%). (Fait T, 2007) Tibolon dále snižuje plazmatickou hladinu beta - endorfinu a ovlivňuje centrální termoregulační systém. Tyto účinky bývají proto dávány do souvislosti se zlepšením nálady a snížením počtu návalů horka či nočního pocení u menopauzálních žen léčených tibolonem. Dále je poukazováno na mírné snížení volného levothyroxinu, levothyroxin vázajícího globulinu či SHBG.

1.5.2.1 Tibolon a laboratorní ukazatele kardiovaskulárních onemocnění a kardiovaskulární riziko

Vliv tibolonu na kardiovaskulární systém je prozatím nedostatečně ověřen a nelze se spolehlivě vyjádřit, zdali je terapie tibolonem spojena s vzestupem či poklesem kardiovaskulárního rizika. Vliv podávání tibolonu na hladiny krevních lipidů a lipoproteinů hodnotila řada klinických studií. Z metaanalýzy 16 studií vyplývá, že užívání tibolonu významně snižuje koncentrace celkového i HDL cholesterolu, TAG a lipoproteinů. (Godslan IF et al. 2001) Také hladiny VLDL cholesterolu v důsledku užívání tibolonu poklesly, ale nebylo dosaženo statistické významnosti. Stejně tak se nezměnila hladina LDL cholesterolu. (Godslan IF et al. 2001) Ve studii s 97 ženami randomizovanými k 18 měsíční léčbě tibolonem nebo cyklickou estrogen - gestagení HRT byl v tibolonové větvi kromě výše popsaných efektů zjištěn pokles koncentrace subtrakce HDL2 částic, které jsou neaktivnější

v reverzním transportu cholesterolu. (Farish E et al. 1999) Změny metabolismu krevních lipidů pozorované v klinických studiích svědčí spíše pro negativní působení tibolonu a favorizují v tomto směru estrogen-gestagenní HRT. V tomto směru se nejvýznamnější jeví vliv tibolonu na koncentrace HDL částic. Pohled na problematiku mohou ovlivnit výsledky experimentálních prací. Bylo prokázáno, že snížení koncentrace HDL při užívání tibolonu není spojeno se poklesem intenzity reverzního transportu cholesterolu ani se snížením aktivity enzymu paraoxonázy. (Von Eckardstein et al. 2001) Ten je v krevní plazmě asociován s HDL a hraje klíčovou úlohu v zabránění oxidativní modifikace lipoproteinů. (Von Eckardstein et al. 2001) V závěru menší studie sledující tuto problematiku autoři konstatují, že tibolon snižuje oxidativní modifikaci LDL pravděpodobně mechanismem výrazného snížení TAG, které je provázáno změnou fenotypu LDL částic směrem k větším, méně náchylným k oxidaci. Tato a další pozorování vedla k závěru, že tibolon snižuje hladiny HDL částic, ale neovlivňuje jejich funkci. (Barnes JF et al. 2002) Nepřímo byla tato domněnka potvrzena v dvouleté studii s primáty, kde byl dokumentován neutrální vliv terapie tibolonem na progresi aterosklerózy. (Clarkson TB et al. 2001) Za dvě klinicky nejvýznamnější vlastnosti tibolonu z hlediska metabolismu sérových lipidů lze považovat změny koncentrace HDL částic (negativní efekt) a ovlivnění hladiny Lp (a) (pozitivní efekt zejména s ohledem na malou terapeutickou ovlivnitelnost hladin Lp (a) ostatními typy léčby). (Rymer J et al. 1993)

Vliv tibolonu na výskyt aterosklerotických komplikací není prozatím dostatečně objasněn. Existují práce popisující vliv terapie tibolonem na aterosklerotické postižení u člověka i u experimentálních zvířecích modelů. V experimentální práci bylo prokázáno zpomalení vzniku tukových proužků v aortě a ukládání cholesterolu do cévní stěny u králíků, kterým byl podáván tibolon. (Prelevic GM et al. 1998) V této práci byly antisklerotické účinky tibolonu významně větší nežli estradiolu podávaného kontrolní skupině. Neutrální působení tibolonu na progresi koronární aterosklerózy bylo ověřeno ve studii s primáty. Po dvou letech podávání tibolonu nebyla u sledovaných zvířat zjištěna progresie aterosklerotických změn koronárního řečiště, v téže studii byla však ve větvi léčené kombinovanou estrogen-gestagenní HRT zjištěna regrese koronární aterosklerózy o 62 %. (Clarkson TB et al. 2001) Při jednorázovém podání tibolonu u žen s ischemickou chorobou srdeční bylo prokázáno, že tibolon zvýšil práh ischémie a zpomalil nástup angionózní bolesti při zátěžovém testu. (Lloyd G et al. 1998) Při sledování vlivu tibolonu na změnu šíře intima-medie karotických tepen (CIMT) neměl tibolon žádný významný vliv na progresi změn CIMT. (Morris EP et al. 1999)

1.5.2.2 Tibolon a kostní metabolismus

Podobně jako estrogenní léčba či podávání selektivních modulátorů estrogenových receptorů i tibolon, díky své afinitě k estrogenovým receptorům, má příznivý vliv na kostní denzitu. (Devogelaer JP et al. 2004) Kostní denzita se u postmenopauzálních žen, které byly po dobu 2 let léčeny tibolonem, oproti placebo výrazně zvýšila na všech čtyřech sledovaných místech (bederní páteř, trochanter, krček femuru a Wardův trojúhelník). Avšak pouze v prvních dvou místech byl zjištěný rozdíl statisticky významný. (Beardsworth SA et al. 1999) V jiné dvouleté dvojité zaslepené klinické studii však již byl oproti placebo zřejmý nárůst kostní denzity nejen v místě bederních obratlů, ale rovněž i v krčku femuru, a to při současné suplementaci vápníku. (Studd J et al. 1998) Zvýšení kostní denzity bylo při dvouletém podávání tibolonu v dávkách 1,25 či 2,5 mg/den (n = 84) pozorováno i v oblasti falangů, a to v případě vyšší dávky. (Berning B et al. 1996) Standardní denní dávka 2,5 mg navíc zabraňuje kostním ztrátám při současném podávání gonadoliberinů při léčbě endometriózy. Studie LIFT (Long-Term Intervention on Fractures with Tibolone) sledovala vliv tibolonu v dávce 1,25 mg na incidenci zlomenin v souboru 4 538 žen průměrného věku 68 let při zahájení léčby, které měly osteoporózu. Studie byla nejprve plánována na 36 měsíců a následně byla prodloužena o dalších 24 měsíců. Byl prokázán léčebný účinek tibolonu na postmenopauzální osteoporózu. Potvrdily se také očekávané výsledky s další možností rozšíření indikační oblasti tibolonu. Její výsledky prokázaly, že léčba tibolonem má významný vliv jako ochrana před zlomeninami i před karcinomem prsu (p = 0,015), byla však spojena se zvýšením rizika cévních mozkových příhod (CMP), překvapivě bez zvýšení rizika tromboembolické nemoci ve smyslu plicní embolie a trombózy žil dolních končetin.

1.6 Tuková tkáň a adipokiny

Tuková tkáň je složena z adipocytů, ve kterých se vytvářejí velké vakuoly, obsahující triacylglyceroly. Jádro a zbytky cytoplasmy jsou stlačeny k okraji. Tukové buňky patří mezi největší v lidském těle; průměrná velikost se pohybuje kolem 50 μm . Vznikají z lipoblastů, odvozených z mesenchymu a slouží hlavně jako energetická zásobárna. Tukové buňky se postupně se zvětšují až do hmotnosti 1 μg . Poté dochází k diferenciaci preadipocytů a produkci nových tukových buněk. K diferenciaci dochází na základě spuštění kaskády transkripčních dějů. Již před více než 40 lety vznikly hypotézy o existenci signálu hormonální povahy, který by informoval hypotalamus o příjmu potravy a množství tukové tkáně, a byl by

produkován adipocyty. Teprve v devadesátých letech minulého století byl nalezen adipokin, nazvaný leptin (LP), který je produktem Ob genu a je exprimován převážně v tukové tkáni. Později byly objeveny i další adipokiny (např. adiponektin, FGF-21, chemerin, A-FABP, resistin, Lipocalin-2, Zinc alpha lipoprotein, atp.) a současně bylo ověřeno, že adipocyty mají řadu dalších funkcí (podílejí se na metabolismu tuků, regulaci glukózové homeostázy, kardiovaskulárním riziku a ovlivňují funkce většiny tkání v organismu). (Dessolin S et al. 1997; Krempler F et al. 2000)

Některé z adipocytů vytvářejí tzv. hnědý tuk, který je přítomen hlavně u hibernujících živočichů (např. u novorozenců) a má význam pro tvorbu tepla. Chladový třes navodí vyplavení noradrenalinu s aktivací hormon senzitivní lipázy, která hydrolyzuje triacylglyceroly na mastné kyseliny a glycerol. Oxidací mastných kyselin s dlouhým řetězcem vzniká v mitochondriích energie, která se však nevyužije jako energie chemická, ale za účasti transmembránového proteinu thermogeninu dochází ke vzniku energie tepelné.

1.6.1 Leptin

Leptin (produkt Ob genu) je neglykosylovaný protein (rhm 16 kD), který se skládá ze 167 aminokyselin. Tento protein je tvořen svazkem 4-násobného alfa-helixu, propojeným disulfidovými můstky (Cys 96 a Cys 146). V roce 1994 byl nalezen Ob gen (gen pro leptin) a později Db gen (gen pro leptinový receptor). Tyto geny nevykazovaly homologii s žádnými doposud známými geny a účinkují na stejné fyziologické dráze. Geny pro leptin jsou lokalizovány na 6. a 7. chromozomu. Tyto geny kódují vznik proteinu, sestávajícího ze 167 aminokyselin. (Green ED et al. 1995; Friedman JM et al. 1997)

Leptin má široké pole účinků na neuroendokrinní osu, a to i mimo účinky, které souvisejí s regulací příjmu potravy a energetického výdeje. Vzrůstá počet důkazů, že vedle udržování energetické homeostázy má leptin ještě další důležité systémové úlohy, a to včetně regulace neuroendokrinních, kardiovaskulárních a imunitních funkcí a řízení ontogeneze. (Yura S et al. 2000) Leptin, kromě CNS, působí i v periferních tkáních, například v játrech, ledvinách, slinivce, kosterním svalstvu, střevech a reprodukčních orgánech, kde ovlivňuje metabolismus sacharidů a působení inzulinu, metabolismus lipidů, termoregulaci, ovulaci a dospívání.

Leptin se zdá být esenciální molekulou pro vyžívání pohlavní osy, což dokumentuje vznik hypotalamického hypogonadizmu u ob/ob i db/db hlodavců a člověka. (Yura S, et al. 2000) Pokud je leptin podán ob/ob myším, dochází k obnovení pohlavních funkcí.

U myši urychluje podání leptinu nástup puberty. (Anina RS et al. 1997) Amenorea vyvolaná zátěží je charakteristická nízkými hladinami leptinu a absencí jeho diurnálních rytmů. (Laughlin GA et al. 1997) Plazmatické hladiny velmi těsně korelují s expresí v tukové tkáni. Syntéza leptinu probíhá z převážné části v tukové tkáni, ale je exprimován i v jiných tkáních např. v kosterním svalstvu, žaludku, kostní dřeni a játrech, zde je jeho syntéza značně závislá na věku. Zajímavým poznáním bylo objevení exprese leptinu i jeho receptoru v placentě a vaječnicích. (Señaris R et al. 1997; Karlsson C et al. 1997) Leptin je syntetizován zejména (ale ne však výlučně) bílou tukovou tkání a v plazmě cirkuluje jako 16-kDa protein, který se částečně váže na plazmatické proteiny. Zatím není známo, zda je leptin secernován konstituční nebo je v organismu skladován v depotních formách ve formě prohormonu. (Cammisotto PG et al. 2002) První možnost se zdá být pravděpodobnější, protože doposud nebyla zjištěna žádná zásobní forma leptinu, která by mohla být v případě potřeby změněna na aktivní a poté uvolněna do cirkulace. Byly prokázány rozdíly ve vázané frakci mezi obézními a štíhlými. U štíhlých tvořila vázaná frakce asi 20 %, zatímco u obézních asi 45 %. Podíl vázané frakce je extrémně vysoký u lidí s mutacemi leptinových receptorů, kde se pohybuje kolem 80 %. Příčinou je vazba leptinu na cirkulující izofomy receptoru. Podobně jako u natriuretických peptidů hraje velmi důležitou roli v udržování homeostázy leptinu jeho vazba na receptory ve tkáních. Receptory pro leptin jsou součástí tzv. třídy 1 cytokinových receptorů. Všechny známé izofomy receptoru pro leptin mají identickou extracelulární ligand- vázající doménu na N-konci molekuly, ale liší se vzájemně strukturami na C-zakončení molekuly. Pět izoforem představují buněčné receptory, Šestá izoforma, označovaná jako Ob-Re, nemá transmembránovou ani intracelulární doménu a cirkuluje jako solubilní forma receptoru. Buněčné izofomy jsou označovány jako Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd a Ob-Rf. Avšak pouze Ob-Rb izoforma (tzv. dlouhá izoforma) obsahuje intracelulární strukturu nutnou pro aktivaci JAK (janus kinase)-STAT (signal transducers and activators of transcription). JAK-STAT struktura je důležitá pro další přenos signálu z receptoru k nitrobuněčným systémům, které realizují vlastní odpověď buňky po navázání leptinu na jeho receptor. Je tak pravděpodobné, že Ob-Rb izoforma je zodpovědná za přenos a zprostředkování účinků leptinu v organismu. Ostatní izofomy s transmembránovou doménou (Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd a Ob-Rf) tzv. krátké formy receptoru se podílejí zejména na transportu leptinu do tkání a na udržování jeho setrvalé hladiny v organismu. Na základě anatomických a funkčních dat se zdá, že leptin působí na energetickou rovnováhu zejména díky svým účinkům v centrálním nervovém systému. Intravenózní injekce leptinu aktivuje neurony v nucleus arcuatus, ventrolaterálních a dorzolaterálních jádrech hypotalamu

a v oblasti neuronální sítě mozku kmene, zapojených do regulace procesu příjmu potravy a energetické balance. V uvedených hypotalamických oblastech se nacházejí dlouhé formy leptinového receptoru (Ob- Rb). Současně se v těchto oblastech hypotalamu nacházejí i další mediátory, které se také podílejí na zprostředkování účinku leptinu, jako např. neuropeptid Y a propiomelanokortin. Naproti tomu krátké formy leptinových receptorů se nacházejí v plexus choriodeus, v endotelu cév a také v mnohých periferních tkáních (ledvinách, játrech, plicích a gonádách), kde tyto krátké formy zprostředkovávají transportní roli a/nebo clearanční účinek.. Transport leptinu do mozku se děje pomocí saturovatelného transportního mechanismu, kterým je zřejmě receptorem zprostředkovaná transcytóza, přes hematoencefalickou bariéru. Leptin se dostává do mozku také pomocí difuze, a to v oblastech paraventriculárních orgánů, tj. v místech, kde je porušená hematoencefalická bariéra. Leptin je uvnitř mozku transportován též pomocí mozkomíšního moku. Zatím však není známo, jestli má tato forma transportu nějaký význam. Leptin je distribuován do mnoha tkání a z organismu je vylučován zejména ledvinami. Leptin je filtrován glomeruly a následně degradován renálními epiteliálními buňkami. Velké množství krátkých forem leptinových receptorů se nachází v ledvinách a leptin se váže v oblasti kortikomedulární junkce a renálních papil. Tyto receptory zřejmě internalizují leptin a následně jej odbourávají. Úloha ledvin při vylučování leptinu je potvrzena skutečností, že pacienti se zhoršenými nebo těžce poškozenými renálními funkcemi mají zvýšené hladiny leptinu. (Sharma K et al. 1997) Deficit leptinu vyvolává řadu patologických stavů. Ob/ob mutanty myši vykazují deficit leptinu a jsou hyperfagické, hypotermní a morbidní, obézní a mají množství metabolických a neuroendokrinních abnormalit. Mutace ob genu u lidí jsou vzácné. U lidí vede ob/ob mutace k tvorbě defektního proteinu, který nemůže být secernován. Mutace ob genu u člověka způsobují hyperfagii, morbidní obezitu a hypotalamický hypogonadismus. (Lahlou N et al. 2002) Zatímco u myši byla ob/ob mutace provázena také hyperinzulinemií, hyperglykemií, hyperkorticizmem a hypotermií, u leptin-deficitních pacientů tyto metabolické odchylky nebyly doposud prokázány. Důvody těchto mezidruhových rozdílů nejsou známy, ale dovolují předpokládat existenci značných rozdílů ve fyziologických účincích leptinu mezi lidmi a hlodavci. Zřejmě existuje i mezidruhová rozdílnost ve významu leptinu jako signálu pro adaptaci na lačnění. Exprese leptinu je ovlivněna zejména stavem energetických zásob organismu, především množstvím tělesného tuku, což je dokumentováno vzestupem adipózní mRNA a hodnot sérového leptinu u obézních lidí a dalších savců. Dalším důležitou determinantou pro syntézu leptinu je velikost adipocytů, protože velké adipocyty u stejného jedince obsahují více leptinu než malé adipocyty. Hladina leptinu koreluje s celkovým

množstvím zásob tělesného tuku. U hlodavců se hladina leptinu zvýší během několika hodin po jídle. U lidí se zvyšuje až po zvýšeném příjmu potravy, který trvá několik dní. Po zahájení lačnění klesá hladina leptinu během několika hodin u hlodavců i u lidí. Regulace exprese leptinu ve vztahu k nutrici je pravděpodobně částečně ovlivněna inzulinem. Během příjmu potravy vzrůstá exprese leptinu po peakové sekreci inzulinu. Inzulin totiž stimuluje expresi leptinu přímo v izolovaných adipocytech a zvyšuje hladinu leptinu, pokud je injekčně aplikován hlodavcům. U lidí exprese leptinu koreluje s hladinou inzulinu a může být prediktivní ve vztahu k inzulinové rezistenci. (Silha JV et al. 2003) Pokles hladiny inzulinu během lačnění může naopak vyvolat pokles v hladině leptinu. Hladina leptinu je však regulována i dalšími faktory. Skutečnost, že hladina leptinu vykazuje rozdílné hodnoty i u osob se shodným množstvím tukové hmoty, ukazuje, že množství tukové hmoty není jedinou determinantou hladiny leptinu. Glukokortikoidy přímo stimuluje syntézu leptinu v kulturách adipocitů a exprese leptinu se zvyšuje v důsledku odpovědi na chronicky zvýšenou hladinu kortizolu u lidí. V lidském organismu mají peakové hladiny glukokortikoidů koincenci s nejnižšími hladinami leptinu na začátku denního cyklu a nejnižší hladiny glukokortikoidů úzce souvisí s peakovými hodnotami leptinu v noci. (Nishiyama M et al. 2000) Inzulín je dalším významným regulátorem hladiny leptinu. (Geisthovel F et al. 1997)

Připouští se i vliv pohlavních hormonů na hladinu leptinu, což dokumentují zjištěné pohlavní rozdíly v koncentraci leptinu. Hladiny leptinu jsou nižší u prepubertálních chlapců než u děvčat. (Demerath EW et al. 1999) Prepubertální vzestup v expresi leptinu předchází vzestupu testosteronu a estradiolu. Leptin proto pravděpodobně hraje důležitou roli v procesu pohlavního dospívání. V průběhu puberty pak dochází k dalšímu vzestupu koncentrace u žen. Dospělé ženy mají vyšší hladiny leptinu než dospělí muži, a to nezávisle na stáří, hmotnosti a nebo množství tělesného tuku. Podkožní tuková tkáň je u žen více zastoupena a obsahuje vyšší hodnoty leptinu. Příčinou nižší hladiny leptinu u mužů může být důsledkem vyšších hladin androgenů. Bylo zjištěno, že syntéza leptinu je inhibována testosteronem a při exogenním podání testosteronu byl u mužů pozorován pokles jeho koncentrace v séru. (Luukkaa V et al. 1998) Syntéza leptinu je také stimulována infekcí, endotoxiny, cytokiny (např. tumor necrosis factor alfa), LIF a interleukinem 1. (Zumbach MS et al. 1997; Sarraf P et al. 1997) Vzestup hladin cytokinů může touto cestou přispět k anorexii a úbytku váhy u zánětlivých stavů. Původní studie ukazovaly, že leptin je exprimován pouze v tukové tkáni. Leptin je však syntezován i v mimo tukovou tkáň, a to včetně placenty, sliznice žaludečního fundu, kosterních svalů a epitelu prsní žlázy. (Masuzaki H et al. 1997; Bonnet M et al. 2002)

Placentární exprese leptinu je stimulována hypoxií, inzulinem a glukokortikoidy. Leptin je rovněž tvořen prsní žlázou, je vylučován do kolostra a je také následně absorbován novorozenci. Krmení a podání cholecystokininu nebo gastrinu snižuje syntézu leptinu buňkami sliznice žaludečního fundu a zvyšuje plazmatickou koncentraci leptinu. (Attoub S et al. 1999) Spekuluje se, že alterace v hladinách gastrického a plazmatického leptinu mohou být vtaženy do krátkodobé regulace chuti k jídlu a pocitu sytosti. Hodnoty leptinu jsou zvýšeny u pacientů s jaterní cirhózou. (Campillo B et al. 2001) Zdá se však, že je to dáno tím, že u cirhotiků dochází v játrech k novotvorbě leptinu (normální játra leptin netvoří), neboť zatím nebylo prokázáno, že by se játra podílela na odbourávání a vylučování leptinu. I když je leptin primárně zapojen do regulace tělesné hmotnosti a energetické rovnováhy organismu, je také uvažováno o jeho roli v reprodukci jako neuroendokrinní mediátoru. Nástup puberty je spojen se vzestupem hladiny leptinu, i přes nevýrazné změny v BMI. (Teirmaa T, 1998) Leptin byl nalezen ve folikulární tekutině a při jeho podání způsobilo in vitro vedlo v ovariální tkáni ke zvýšení počtu zrajících oocytů. (Cioffi JA et al. 1997) Některé studie připouštějí také vliv estrogenů na regulaci produkce leptinu a jeho koncentraci. (Shimizu H et al. 1997) Pro vliv estrogenů na hladinu leptinu by mohly svědčit rozdílné koncentrace u mužů a u žen. Tyto rozdíly mohou být částečně vysvětleny rozdílným množstvím podkožním tukové tkáně, protože sérová koncentrace leptinu je úzce spjata množstvím tukové tkáně. Ženy obecně mají v organismu větší množství tukové tkáně, rozdílná je rovněž její distribuce. Ženy také mají oproti mužům více podkožního tuku než tuku viscerálního. Bylo prokázáno, že podkožní tuková tkáň exprimuje více leptinové mRNA než abdominální tuková tkáň, tato skutečnost by mohla částečně vysvětlovat rozdílné koncentrace leptinu u mužů a u žen. (Lönnqvist F et al. 1995) I přes tyto poznatky není vyloučen přímý vliv pohlavních hormonů na sekreci a regulaci sérové hladiny leptinu.

Vliv hormonálních změn spojených s nástupem menopauzy na hladinu leptinu není stále dostatečně objasněn. Sérová koncentrace leptinu vylučovaného adipocitami prokazatelně pozitivně koreluje s množstvím tukové hmoty a BMI. (Hadjji P et al. 2000; Panidis DK et al. 2001; Milewicz A et al. 2000; Rajatanavin R et al. 1998) Množství tukové tkáně by tedy u žen po menopauze mělo být nejlepším prediktorem sérové koncentrace leptinu, nelze však vyloučit i přímý vliv pohlavních hormonů na leptinémii. (Paolisso G et al. 1998) V důsledku hormonálních změn spojených s menopauzou a sníženého výdeje energie dochází ke zvýšení množství tukové hmoty. Kromě nárůstu celkového množství tukové hmoty dochází u žen v postmenopauze ke změně distribuce tukové tkáně. Řada klinických studií pozorovala nárůst tělesné hmotnosti po menopauze, kdy pokles hladiny estrogenů zvyšuje

množství tělesné tukové tkáně a vede ke změnám jeho distribuce. (Hadji P et al. 2000) Změna na androidní typ distribuce tukové tkáně, tedy vzestup abdominální distribuce tukové hmoty v postmenopauze se klinicky manifestuje změnou WHR a zvětšením obvodu pasu. Někteří autoři zaznamenali vyšší sérové hladiny leptinu u žen s androidním typem obezity (Martinez-Caprio et al. 2003; Garaulet M et al. 2000), studie jiných autorů vztah mezi WHR a leptinem neprokázaly. (Minocci A et al. 2000) Je třeba podotknout, že přesnější by sledování vztahu mezi obvodem pasu, který má přesnější výpovědní hodnotu o distribuci tukové tkáně proti WHR. Řada studií demonstrovala rozdílné hodnoty koncentrace leptinu u premenopauzálních a postmenopauzálních žen. Někteří autoři zaznamenali nižší koncentrace leptinu u žen v postmenopauze. Rosenbaum a kol. a Shimizu a kol. předpokládají vyšší produkci leptinu u premenopauzálních žen, prokázali u post-menopauzálních nižší hladiny leptinu než u žen v postmenopauze. (Rosenbaum M et al. 1996, Shimizu H et al. 1997) Jsou však i studie, které neprokázaly přímý vliv poklesu hladiny estrogenů po menopauze na produkci leptinu tukovou tkání a jeho koncentraci. Studií, které by jako tato práce hodnotily vliv chirurgicky indukované menopauzy na hladinu leptinu je prozatím k dispozici jen omezené množství. Také názory na vliv exogenního podání HRT v postmenopauze na hladinu leptinu jsou kontroverzní. HRT omezuje vývoj postmenopauzální obezity, hypoteticky by se hladiny leptinu měnit neměly, avšak množství tukové tkáně není jedinou determinantou leptinu. Někteří autoři prokázali vliv HRT na zvýšení hladiny leptinu, zatímco ostatní tento efekt nepotvrdili.

1.6.2 Adiponektin

Adiponektin je dalším specifickým produktem tukové tkáně, adipokinem - hormonem syntetizovaným adipocyty v tukové tkáni. Od jeho objevení v roce 1996 (Maeda K et al. 2006) byla publikována celá řada prací, které se pokoušejí objasnit jeho přesnou roli v regulaci příjmu a výdeje energie, v zánětlivých procesech, inzulinové rezistenci, lipidovém metabolismu a dalších kardio-metabolických rizikových faktorech, které se váží k rozvoji aterosklerotického kardiovaskulárního onemocnění. (Havel PJ, 2004; Matsuzawa Y, 2005; Haluzík M et al. 2004; Lihn AS et al. 2005; Richelsen B, 2005) Jeho vysoká koncentrace v krvi napovídá o jeho významné úloze v organizmu. Strukturálně je tvořen amino – terminální signální sekvencí, variabilní částí a kolagenní doménou. Ve své základní formě se vyskytuje jako homotrimer složený ze 3 podjednotek o velikosti 30kDa. Trimetry tvoří struktury vyššího řádu vzájemným spojením disulfidickými vazbami v oblasti kolagenních domén každého monomeru. Finálně tak tvoří hexamery o nízké molekulové hmotnosti

(LMW)180 kDa a 16 – 18 mery s vysokou molekulovou hmotností (HMW), více jak 400kDa. (Pajvani UB et al. 2003) Adipocyty syntetizují jak LMW, tak HMW formy. LMW a HMW jsou hlavními formami adiponektinu v séru, zatímco menší komponenty jako jsou trimery jsou obtížně detekovatelné. Částice různé velikosti mají také různou biologickou aktivitu, studie s rekombinantními a mutantními formami adiponektinu prokázaly, že trimetry mívají obvykle zvýšenou aktivitu. (Pajvani UB et al. 2003) Relativně nedávno byly objeveny adiponektinové receptory. Adiponektinový receptor R1, který je exprimován především v příčně pruhovaných svalech a adiponektinový receptor R2, který se nachází především v játrech. (Yamauchi T et al. 2003) Četné experimentální práce prokázaly, že adiponektin moduluje glukózový a tukový metabolismus v inzulin-senzitivních tkáních. Mnoho studií sledovalo účinky adiponektinu na zvířecích modelech. Při podání adiponektinu myším bylo pozorováno snížení hladiny glukózy a triglyceridů. (Fruebis J et al. 2001; Yamauchi T et al. 2001) Dle závěru in vitro experimentů jsou tyto změny připisovány zvýšenému příjmu glukózy a oxidaci lipidů ve svalu, které jsou zprostředkovány aktivací AMPK. (Yamauchi T et al. 2002) Pokles koncentrace volných mastných kyselin způsobený zvýšenou oxidací lipidů ve svalové tkáni zřejmě ve svém důsledku vede k celkovému zlepšení inzulinové senzitivity ve svalu a celém organismu. Efekt na svalovou tkáň vykazuje jak kompletní molekula o plné délce, tak i její globulární část. Strukturálně globulární forma adiponektinu postrádá kolagenní část umožňující polymerizaci. Pokusy prováděné s adiponektinem produkovanými savčími buňkami naznačují, že hlavním místem biologické aktivity adiponektinu není svalová, ale jaterní tkáň. U savců je adiponektin produkován a vylučován jako LMW a HMW komplexy. (Matsuzawa Y, 2005) Podání savčího adiponektinu zdravým nebo obézním myším s diabetem mellitem vedlo k poklesu hladiny glukózy. (Berg AH et al. 2001) Studie provedené pomocí pankreatického euglykemického zámku dokazují, že tohoto efektu bylo dosaženo sníženým výdejem glukózy a bylo spojeno s redukcí exprese enzymů glukoneogeneze. (Combs TP et al. 2001) Pokles koncentrace glukózy nebyl způsoben změnami absorpce glukózy, glykolýzy ani syntézy glykogenu. In vitro studie prokázaly, že účinek adiponektinu v jaterní tkáni vyžaduje hydroxylaci a glykozylnaci v oblasti kolagenní domény adiponektinu. Toto zjištění vysvětluje proč globulární forma adiponektinu, která nemá posttranslačně modifikovanou kolagenní doménu, nevykazovala vliv na metabolismus glukózy v játrech. (Wang Y et al. 2002)

Těsný vztah adiponektinu k inzulinové rezistenci demonstruje pozorovaná závislost, kdy jeho nízké koncentrace předcházejí vznik diabetu 2. typu. (Hotta K et al. 2001; Bodkin NL et al. 2001) Nízké koncentrace adiponektinu byly popsány u diabetiků (Hotta K et al. 2000) a ještě nižší koncentrace adiponektinu byly pozorovány u špatně kompenzovaných diabetiků 2. typu.

(Stejskal D et al. 2003; Schulze MB et al. 2004) Naopak vysoké koncentrace adiponektinu byly asociovány s nižším výskytem diabetu. (Duncan BB et al. 2004) Adiponektin se zdá být protektivním faktorem vzniku aterosklerózy. Celá řada prací experimentálních in vitro i in vivo a prací klinických i prospektivních svědčí pro fakt, že adiponektin má antiaterogenní vlastnosti. Předpokládá se, že prostřednictvím cytokinových kaskád adiponektin moduluje zánětlivou odpověď, která tvoří společnou půdu jednak pro inzulinovou rezistenci, tak i pro proces aterogeneze. (Kern PA et al. 2003; Ouchi N et al. 2003) Adiponektin tak pravděpodobně ovlivňuje nejen zánětlivou odpověď v cévní stěně, ale je též nezávisle asociován s řadou dalších rizikových faktorů jako jsou hladiny TAG, HDL-cholesterolu, apolipoproteinů, přítomností arteriální hypertenze či dysfunkce endotelu. (Baratta R et al. 2004; Iwashima Y et al. 2004; Adamczak M et al. 2003; Sharma AM et al. 2005; Vaverková H et al. 2005) Není jasné, zda nízké koncentrace adiponektinu u aterosklerózy jsou dány především přítomnou inzulinovou rezistencí, či zda se může na jeho nízkých hladinách podílet i jeho vychytávání v cévní stěně. In vitro studie potvrdily protektivní efekt adiponektinu a jeho schopnost snižovat hodnoty adhezivních vaskulárních faktorů endoteliálních buněk inhibovat formování pěnových buněk a jejich migraci do svaloviny, adiponektin rovněž vykazuje protizánětlivý účinek na makrofágy. Jak bylo popsáno v experimentálních pracích, inhibují fyziologické koncentrace adiponektinu TNF alfa indukovanou expresi adhezivních molekul na endotelu a adhezi monocytů, což je prvním krokem v procesu aterogeneze. (Ouchi N et al. 1999) Adiponektin dále inhibuje transformaci makrofágů na pěnové buňky a proliferaci a migraci hladkých svalových buněk. (Ouchi N et al. 2001) Adiponektin naopak stimuluje produkci tkáňového inhibitoru metaloproteinázy 1 (TIMP-1), což může hrát významnou roli při stabilizaci aterosklerotického plátu. (Kumada M et al. 2004) Tato data napovídají, že adiponektin má protizánětlivé a antiaterogenní vlastnosti. Experimentální práce na zvířecích modelech podporují antiaterogenní vlastnosti adiponektinu. Adiponektin se akumuluje subendoteliálně v místech poškození cévní stěny a zvýšení adiponektinu významně snižuje progresi aterosklerotických lézí u zvířecích modelů aterosklerózy. (Okamoto Y et al. 2002) Většina provedených studií sledovala účinky globulární formy adiponektinu a není jasné, zda tento efekt vykazuje i forma o plné délce. Kromě přímého účinku na cévní stěnu může adiponektin vykazovat svůj antiaterogenní účinek modulací metabolismu lipidů. Řada klinických studií prokázala negativní korelaci mezi adiponektinem a hodnotami LDL, pozitivní korelaci s HDL. Intervenční studie dokládají, že vztah mezi adiponekt a hladinou plazmatických lipidů je nezávislý na věku, pohlaví, BMI a inzulinové senzitivitě. Snížené hladiny adiponektinu byly popsány u osob s projevy subklinické aterosklerózy. (Fernandez-

Real JM et al. 2004) Snížené hladiny adiponektinu byly popsány u osob s projevy subklinické aterosklerózy osob s porušenou funkcí endotelu měřenou pomocí ultrazvuku či zvýšenou tloušťkou intima-media thickness arteria carotis (CIMT) a u pacientů s klinicky manifestní ischemickou chorobou srdeční. (Nakamura Y et al. 2004; Shimada K et al. 2004) Hypoadiponektinemie byla shledána jako nezávislý predikátor kardiovaskulárních příhod u pacientů s pokročilou fází renální insuficience. (Zoccali C et al. 2002)

Hladina adiponektinu je ovlivňována řadou faktorů. Byl objeven úzký vztah mezi množstvím tukové hmoty a hladinou adiponektinu. I když je adiponektin produkován výhradně tukovou tkání, na rozdíl od dalších adipokinů zde tvořených, je obezita asociována s nízkými koncentracemi adiponektinu, při obezitě jsou sérové hladiny adiponektinu a mRNA adiponektinu nižší. Vzhledem k faktu, že adiponektin je produkován výhradně adipocyty, je jeho koncentrace ovlivněna změnami v množství tukové hmoty. Inverzní vztah mezi adiponektinem a tělesnou hmotností byl rovněž zaznamenán u extrémně hubených jedinců a nemocných anorexií. (Housová J et al. 2005) Řadou studií byl potvrzen inverzní vztah mezi hladinou adiponektinu a BMI. Mezi množstvím tukové tkáně a koncentrací adiponektinu je ještě silnější inverzní vztah než mezi BMI a adiponektinem. Hladiny adiponektinu vykazují závislost nejen na množství tukové hmoty, ale také na její distribuci. Negativní vztah mezi adiponektinem a množstvím viscerálního tuku je podstatně silnější než vztah k množství podkožního tuku a adipocyty omenta produkují více adiponektinu než adipocyty podkožního tuku. Předpokládá se, že velké, TAG přeplněné viscerální adipocyty produkují méně adiponektinu.

Výstupy různých pozorování ukazují také na možný vztah mezi hladinou adiponektinu a hladinou ženských pohlavních hormonů, avšak přímá vzájemná závislost nebyla doposud potvrzena. V experimentálních studiích na zvířatech byl prokázán negativní dopad podání estrogenů na sekreci adiponektinu, studie na myších prokázaly nepřímou úměru mezi hladinou adiponektinu a hladinou estradiolu, v důsledku ovariectomie byl zaznamenán u myší pokles koncentrace adiponektinu s následným zvrácením tohoto efektu po podání estradiolu. (Combs TP et al. 2003) Naopak některé jiné experimenty na zvířatech vliv estrogenů na sekreci adiponektinu neprokázaly. (Yaoting G et al. 2004) Výsledky doposud provedených humánních studií, které zkoumaly závislost mezi adiponektinem a ženskými pohlavními hormony, jsou ve vzájemném rozporu. Byly zaznamenány rozdíly v hodnotách adiponektinu mezi pohlavími. Konkrétně u žen stejného věku a konstituce byly zaznamenány vyšší hodnoty adiponektinu než u mužů a rovněž větší zastoupení HMW formy než u mužů. (Hotta K et al. 2000; Cnop M et al. 2004) Různými autory byly u žen pozorovány změny hladiny

adiponektinu v závislosti na hormonálních změnách v jednotlivých fázích menstruačního cyklu (Galván RE et al. 2007), jiní autoři tento efekt nepozorovali. (Kleiblová P et al. 2006) Také vliv hormonálních změn, ke kterým dochází v menopauze, na koncentraci adiponektinu nebyl doposud objasněn. Množství studií, které by analyzovaly dopad hormonálních změn spojených s menopauzou u žen, je omezené a jejich výsledky nejsou ve vzájemné shodě. Hypoteticky by se nárůst hmotnosti a množství tukové hmoty v postmenopauze společně s přednostní intraabdominální distribucí tukové hmoty měly projevit poklesem hladiny adiponektinu. Výsledky provedených studií, kdy řada autorů sledovala hladinu adiponektinu u pacientek v postmenopauze, nejsou jednoznačné. Někteří autoři ve skupině postmenopauzálních žen zaznamenali snížené hladiny adiponektinu oproti skupině premenopauzálních žen. (Chu MC et al. 2006) Jiná pozorování dospěla k odlišným výsledkům, kdy ve skupině postmenopauzálních žen nebyly oproti premenopauze zjištěny rozdílné koncentrace adiponektinu. (Jürimäe J et al. 2007) Doposud není objasněn nejen vliv hormonálních změn provázejících menopauzu, ale rovněž vliv užívání hormonální substituční terapie na koncentraci adiponektinu v postmenopauze. Někteří autoři připouští možný vliv HRT na hladinu adiponektinu. Vzhledem k prokazatelnému efektu užívání hormonální substituční terapie na snížení nárůstu hmotnosti v postmenopauze a pozitivnímu efektu na distribuci tukové hmoty je předpokládán výskyt vyšších hladin adiponektinu u pacientek užívajících hormonální substituční terapii, výsledky doposud provedených studií však nejsou ve vzájemné shodě.

1.6.3 A-FABP

A-FABP (označovaný také jako aP2 nebo FABP4) je malým proteinem o velikosti 15-kDA, který se vyskytuje zejména v tukové tkáni. (Makowski L et al. 2004) Patří do skupiny proteinů vázících mastné kyseliny, které jsou součástí skupiny lipidů vázících proteinů (LBP). Kromě adipocytárního (A) bylo prozatím identifikováno dalších 8 různých proteinů vázících mastné kyseliny, všechny vykazují tkáňově specifickou distribuci: jaterní (L), střevní (I), svalová a kardiální (H), epidermální, ileální (II), mozková (B), myelinová (M) a testikulární (T). (Chmurzyńska A, 2006) FABP lze rozdělit do 2 skupin, na FABP vázané na plazmatickou membránu (FABPPM) a intracelulární či plazmatické proteiny (FABPC). (Glatz JFC et al. 1996) Primární funkcí všech FABP je regulace příjmu mastných kyselin do buňky a jejich intracelulární transport. I přes rozdíly mezi jednotlivými FABP v jejich primární struktuře, je terciální struktura různých FABP podobná. (Corsico B et al. 1998; Liou H et al. 2002) A-FABP je hlavním proteinem v cytosolu adipocytů, tvoří asi 6 % z celkového

množství celulárních proteinů. Kromě adipocytů se A-FABP vyskytuje rovněž v makrofázích, které vykazují podobné biologické funkce jako adipocyty. (FU Y et al. 2002) Pro adipocyty a makrofágy je společný výskyt 2 isoform FAPB - aP2 (FABP4) a mal1 (FABP5). (Makowski L et al. 2001) Hlavním FABP vyskytujícím se v adipocytech je aP2, zatímco mal1 (FABP5) isoforma se v adipocytech vyskytuje jen jako minoritní isoforma. (Scheja L et al. 1999) V aktivovaných makrofázích se vyskytují obě formy přibližně ve stejném množství. (Makowski L et al. 2001) FABP působí jako cytoplasmatické chaperony lipidů a hrají důležitou roli v celulárním přenosu mastných kyselin. I když A-FABP byl považován pouze za cytoplasmatický protein, bylo prokázáno, že je A-FABP vylučován z adipocytů do krevního oběhu. Koncentrace AFABP v séru se pohybuje od 8 do 60 ng/ml. Přesná fyziologická úloha A-FABP byla objasněna až po vyvinutí genetických modelů, na nichž byla zkoumána funkce těchto proteinů u myši. (Uysal KT et al. 2000; Hotamisligil GS et al. 1996) Při experimentech s těmito modely byla aP2 deficiencie spojena s nižšími hladinami TAG, zvýšenou inzulinovou senzitivitou u obézních jedinců a antiaterogenním účinkem při hypercholesterolémii. (Coe NR et al. 1999; Scheja L et al. 1999) A-FABP deficientní myši jsou chráněny před výskytem dyslipidémie, hyperglykémie, inzulinové rezistence a jaterní steatózy. (Makowski L et al. 2001; Boord JB et al. 2004) Ablace A-FABP genu je také spojena s výraznou redukcí výskytu aterosklerózy a zvýšeným přežitím jedinců při aplikaci aterosenní diety s vysokým obsahem tuků. (Boord JB et al. 2004) Dle závěru provedených experimentů tak lze A-FABP označit jako ukazatel, který hraje kritickou úlohu v systémové metabolické homeostáze. Závěry studií provedených na zvířatech tedy ukazují na A-FABP jako centrální regulátor systémové inzulinové senzitivity, metabolismu lipidů a zánětu, i když jeho přesný mechanismus účinku není prozatím identifikován. (Makowski L et al. 2004; Boord JB et al. 2002) Doposud není k dispozici dostatek poznatků týkajících se regulace hladiny FGF-21 v cirkulaci Bylo prokázáno, že u hubených jedinců je koncentrace A-FABP výrazně vyšší než je koncentrace ostatních adipokínů či cytokinů tvořených tukovou tkání, jako jsou resistin, leptin, TNF-alfa a CRP. (Liu MY et al. 2005; Degawa-Yamauchi M et al. 2003; Tan KC et al. 2003) U jedinců s nadváhou byly zjištěny vyšší hodnoty A-FABP než u jedinců s normální hmotností a to jak u mužů i žen. (Xu A et al. 2007) Byla také zaznamenána silná pozitivní korelace mezi A-FABP a indikátory obezity – BMI, WHR, obvodem pasu a množstvím tukové tkáně. (Xu A et al. 2007) Tato asociace naznačuje, že tuková tkáň, která je z největší části tvořena adipocyty a makrofágy je hlavním zdrojem A-FABP vylučovaného do oběhu. Popisovaná korelace mezi BMI a A-FABP byla zaznamenána jak u žen tak i u mužů. A-FABP je zcela nezávislým rizikovým faktorem pro

skupinu metabolických rizikových faktorů, které predisponují vznik ICHS. (Xu A et al. 2007) Řadou autorů byl pozorován vztah mezi adiponektinem a A-FABP. (Yeung DCY et al. 2007; Xu A et al. 2007) Adiponektin vykazuje opačný efekt než A-FABP, má antidiabetické, antiaterogenní a protizánětlivé účinky. Narozdíl od A-FABP, je koncentrace adiponektinu v cirkulaci inverzně spojena s množstvím tukové tkáně a s parametry metabolického syndromu. Exprese adiponektinu v adipocytech a jeho koncentrace v cirkulaci je u A-FABP deficientních myší vyšší než u myší bez deficiencie. (Maeda K et al. 2005) V lidském organismu byl popsán inverzní vztah mezi hladinou adiponektinu a A-FABP, a to nezávisle na množství tukové hmoty. (Xu A et al. 2007) I když se A-FABP vyskytuje převážně v cytosolu adipocytů, je také z adipocytů vylučován do krevního oběhu. A-FABP v cirkulaci je dle závěru některých prací spojován s ukazateli obezity, inzulínové rezistence a komponentami metabolického syndromu. (Xu A et al. 2007) Prospektivně během 5-letého období byly sledovány hodnoty A-FABP se známkami rozvoje metabolického syndromu ve skupině 495 subjektů. Z toho u 376 jedinců nedošlo k rozvoji metabolického syndromu. Vyšší výskyt metabolického syndromu byl zaznamenán u mužů. Jedinci s metabolickým syndromem vykazovali vyšší hodnoty A-FABP, vyšší hodnoty BMI, LDL cholesterolu a vyšší hodnoty indexu inzulínové rezistence (HOMA-IR). Také byly zjištěny u těchto jedinců nižší hodnoty adiponektinu. (Xu A et al. 2007) Ve stejné studii byla také zaznamenána korelace A-FABP s CRP a negativní korelace A-FABP s adiponektinem. A-FABP byl identifikován jako signifikantní rizikový faktor rozvoje metabolického syndromu a to nezávisle na obezitě a inzulínové rezistenci. Byla také potvrzena souvislost mezi A-FABP a rizikovými faktory metabolického syndromu jako jsou obezita, inzulínová rezistence, dyslipidémie, hyperglykémie a hypertenze. Hladiny A-FABP byly v úvodu pozorování předpovědním faktorem rozvoje metabolického syndromu během pětiletého pozorování, i po vyloučení dalších ovlivňujících faktorů jako jsou věk, pohlaví a BMI. (Xu A et al. 2007) Navíc bylo prokázáno že s přibývajícím počtem komponent metabolického syndromu dochází ke zvýšení koncentrace A-FABP v cirkulaci. (Xu A et al. 2007) Ve skupině pacientek Nurses Health Study a Health professional Follow – Up Study, které jsou nositelkami funkční genetické variace A-FABP genu, která je spojena se sníženou expresí A-FABP genu, bylo prokázáno snížené riziko výskytu hypertriglyceridémie, diabetu mellitu 2. typu a koronárních onemocnění. (Tuncman G et al. 2006)

Závěry doposud provedených klinických studií společně s pokusy na A-FABP deficientních myších a výsledky genetických studií u lidí podporují úlohu A-FABP jako klíčového faktoru při rozvoji patologických stavů spojených s obezitou. Proaterogenní účinek

A-FABP se zdá být zprostředkovaný nezávisle na jeho účinku na metabolismus inzulínu a lipidů jednak jeho přímým působením na makrofágy a také modifikací transportu cholesterolu a aktivací řady klíčových zánětlivých cest. Ablace A-FABP suprimuje aktivitu proliferátoru peroxizomů aktivovaného receptoru γ a efflux cholesterolu do makrofágů, který vede ke tvorbě pěnových buněk. Makrofágy A-FABP deficientních myší vykazují aktivitu I κ B kinázy a faktoru- κ B, což vede k supresi zánětlivé odpovědi včetně snížení exprese a produkce zánětlivých cytokinů. (Fu Y et al. 2002; Makowski L et al. 2005) Byla také zaznamenána pozitivní korelace mezi A-FABP a hs-CRP i po zohlednění obezity což potvrzuje jeho přínos k systémové zánětlivé odpovědi. (Yeung DCY et al. 2007) Několik studií prokázalo u obézních jedinců dimorfismus mezi muži a ženami u žen byly pozorovány vyšší sérové koncentrace A-FABP. (Yeung D et al. 2007; Xu A et al. 2006; Xu A, et al. 2007) Tyto pozorované rozdíly mohou být částečně způsobeny vyšším obsahem tukové tkáně u žen. Příčinou rozdílných koncentrací by také mohlo být vyšší množství podkožního tuku u žen, bylo prokázáno, že exprese A-FABP je vyšší v podkožní tukové tkáni než ve viscerální tukové tkáni. (Fisher RM et al. 2001) Dalším potencionálním mechanismem je regulace exprese A-FABP pohlavními hormony. Někteří autoři tuto možnost vylučují, neboť přetrvávající sexuální dimorfismus bylo možno pozorovat i u postmenopauzálních žen. (Yeung D et al. 2007) Doposud nebyly provedeny studie, které by sledovaly vliv menopauzy na hladinu A-FABP a které by posoudily vliv administrace HRT na jeho koncentraci. Vzhledem ke změnám v zastoupení viscerální a tukové tkáně a nárůstu celkového množství tukové tkáně, které jsou asociované s menopauzou, by hypoteticky změny v množství zastoupení tukové tkáně vzhledem k potvrzenému vztahu mezi množstvím tukové tkáně a A-FABP měly vést ke zvýšení hladiny A-FABP.

1.6.4 FGF-21

Nedávno objevený adipokin FGF-21 je polypeptid složený z 210 aminokyselin. FGF-21 patří do skupiny lidských fibroblastových růstových faktorů (FGF), která je složena z 22 různých faktorů, které jsou rozděleny na 7 podskupin. (Itoh N et al. 2004) Fibroblastové růstové faktory představují skupinu s různými biologickými funkcemi. Zatímco většina FGF působí jako lokální regulátory buněčného růstu a diferenciaci, vykazují členové podskupiny FGF-19 (FGF-15/19, FGF-21 a FGF-23) důležité systémové metabolické efekty. Metabolické účinky zahrnují regulaci metabolismu žlučových kyselin, karbohydrátů a lipidového metabolismu a regulace homeostázy fosforu, vápníku a vitamínu D. (Tomlinson E et al. 2002; Holt JA et al. 2003; Shimada T et al. 2004; Kharitonov et al. 2005; Inagaki

T et al. 2005; Lundasen T et al. 2006) FGF-21 byl původně považován za hepatální hormon syntetizovaný převážně v jaterní tkáni. (Nishimura T et al. 2000) Pozdější studie (Zhang X et al. 2008) však o potvrdila roli tukové tkáně jako významného zdroje FGF-21. Prozatím není k dispozici dostatek poznatků týkajících se regulace hladiny FGF-21 v cirkulaci. Hladina FGF-21 je silně ovlivňována stavem nutriční. Chronická malnutrice u žen s mentální anorexií vede k prokazatelnému poklesu sérových hladin FGF-21 proti ženám s normálními tělesnou hmotností. (Dostálová I et al. 2008) Při pokusech na myších byla při hladovění zaznamenána zvýšená exprese FGF-21 v jaterní tkáni a zvýšená hladina FGF v cirkulaci. Po následné realimentaci došlo následně k poklesu hodnot. (Badman MK et al. 2007; Inagaki T et al. 2007; Lundasen T et al. 2007) FGF-21, který se uvolnil z jaterní tkáně při hladovění působil následně na tukovou tkáň, kde indukoval metabolickou adaptaci na hladovění. FGF stimuloval lipolýzu v adipocytech a následnou konverzí uvolněných mastných kyselin na ketony v jaterní tkáni. (Badman MK et al. 2007; Inagaki T et al. 2007) Prozatím byly provedeny 2 studie, které zaznamenaly zvýšenou hladinu FGF-21 u obézních pacientů a u pacientů s diabetem mellitem II. typu. (Zhang X et al. 2008; Chen WW et al. 2008) Hladina FGF-21 mRNA, která byla identifikována v podkožní tukové tkáni a její hladina pozitivně korelovala s hladinou FGF-21 v séru. (Zhang, X et al. 2008) Byly také zjištěny nižší hladiny FGF-21 u pacientů se zhoršením renálních funkcí, kde byly u chronicky dialyzovaných pacientů hodnoty FGF-21 až 15 x vyšší než u zdravých jedinců a byla pozorována korelace mezi hodnotami FGF-21 a glomerulární filtrace a kreatininu. (Stein S et al. 2009)

FGF-21 ovlivňuje metabolismus lipidů a glukózy v jaterní a tukové tkáni a také pankreatu. Při experimentech na zvířatech byl zjištěn pozitivní efekt na metabolismus glukózy a lipidů. (Kharitonov A et al. 2007) O FGF-21 je uvažováno jako o metabolickém regulátoru se silným antidiabetickým účinkem. I když je o jaterní tkáni uvažováno jako o nejvýznamnějším zdroji FGF-21, jeho nejvýraznější účinky byly prokázány v tukové tkáni, kde je exprese FGF-21 nižší než v jaterní tkáni. (Kharitonov A et al. 2005; Moyers et al. 2007) Na buněčné úrovni byl antidiabetický účinek FGF-21 potvrzen při in vitro, kdy FGF-21 byl při pokusech s myšimi 3T3-L1 adipocyty stimulatorem transportu glukózy do adipocytu. Stejný efekt byl pozorován u lidských adipocytů. (Kharitonov A et al. 2005) 72 hodinové podání FGF-21 společně s rosglitazonem výrazně zvýšilo expresi glukózového transportéru GLUT1 a synergicky stimulovalo transport glukózy. (Moyers JS et al. 2007) Účinky FGF-21 jsou nezávislé na inzulínu a potencují inzulínem indukované metabolické procesy. Zatímco inzulín způsobuje rapidní nárůst intracelulárního transportu glukózy řádově

během minut, je aktivita FGF-21 pomalejší, neboť je s největší pravděpodobností zprostředkována změnami v genové expresi a efekt se projeví až v řádu hodin. Kromě vlivu na metabolismus glukózy vykazuje FGF-21 také pozitivní efekt na metabolismus lipidů. Při pokusech na zvířatech u ob/ob a db/db obézních/diabetických myší způsobilo 6-ti týdenní podání FGF-21 nejen snížení hladiny glukózy, ale také TAG téměř k normálním hodnotám. U opic s diabetem způsobilo podání FGF-21 kromě stabilizace hladin glukózy také snížení LDL a nárůst HDL cholesterolu. Stejně jako A-FABP je FGF-21 modulátorem lipolýzy v tukové tkáni. (Inagaki T et al. 2007; Scheja L et al. 1999)

FGF-21 byl původně považován za hepatální hormon syntetizovaný převážně v jaterní tkáni. (Nishimura T et al. 2000) Novější studie však potvrzuje roli tukové tkáně jako významného zdroje FGF-21. (Zhang X et al. 2008) Receptor FGF-21 a jeho koreceptory byly nedávno objeveny také v adipocytech. (Ogawa Y et al. 2007) FGF-21 tak může také regulovat autokrinně či parakrinně biologické pochody v adipocytu.

U jedinců s metabolickým syndromem byly pozorovány vyšší hodnoty FGF-21 než u jedinců, u kterých se tento syndrom nevyskytoval. (Zhang X et al. 2008) S narůstajícím počtem jednotlivých komponent metabolického syndromu se zvyšovala i koncentrace FGF-21. FGF-21 však v dané studii vykazoval slabší asociaci s komponentami metabolického syndromu než jiné biochemické parametry jako jsou hladina inzulínu nebo C – peptid.. Vzhledem k těmto poznatkům je o FGF-21 uvažováno jako o potencionálním markeru metabolického syndromu. FGF-21 vykazuje vlastnosti, které jsou klíčové pro terapeutické ovlivnění jednotlivých komponent metabolického syndromu. Doposud však nejsou k dispozici studie, které by jedinečný metabolický efekt zaznamenaný u primátů potvrdily také u lidí. Prozatím nejsou k dispozici údaje, které by posoudily vliv hormonálních změn v menopauze na hladinu FGF-21. Na rozdíl od jiných adipokinů nejsou prozatím důkazy, zda existuje přímá vazba mezi hladinou estrogenů a androgenů a hladinou FGF-21. Nejsou také k dispozici poznatky zda je hladina FGF-21 ovlivněna hormonálními změnami asociovanými s menopauzou. Vzhledem k faktu, že v důsledku menopauzy dochází ke zvýšenému výskytu metabolického syndromu, lze tedy vzhledem k prokázané asociaci FGF-21 s metabolickým syndromem hypoteticky předpokládat, že společně s rozvojem jednotlivých komponent metabolického syndromu by mělo docházet k elevaci hodnot FGF-21.

1.6.5 Chemerin

Chemerin, známý také jako tazarotenem indukovaný gen 2 (TIG2) nebo respondér receptoru kyseliny retinoidové (RARRES2) se v organismu vyskytuje ve 2 formách. Jednak jako protein o plné délce o molekulové hmotnosti 18 kDa a jednak jako krátká forma o molekulové hmotnosti 16 kDa, která vzniká odštěpením 5 až 10 aminokyselin na terminálním C- konci pomocí serinových proteáz, jako jsou neutrofilní elastáza, cathepsinG, pepsin a C1s (Zabel BA et al. 2005; Zabel BA et al. 2006) Isoforma chemerinu o plné délce má při porovnání s proteolyticky transformovanou formou výrazně nižší biologickou aktivitu. V plazmě cirkulující chemerin se vyskytuje primárně jako isoforma o plné délce a je následně konvertován na bioaktivní krátkou isoformu a to v místech, kde jsou exprimovány sérové proteázy. Jsou to zejména místa, kde dochází k zánětlivým procesům nebo hemokoagulaci. Chemerin slouží jako ligand proteinu G vázanému CMKLR1 (ChemR23 nebo DEZ) receptoru (Roh S et al. 2007). Nedávno byly identifikovány také další receptory, na které se chemerin váže – GPCR, GPR1, který je příbuzný s ChemR23 receptorem a GPCR, CCRL2. Chemerin byl identifikován v řadě tkání, játrech, pankreatu a plicích. (Nagpal S et al. 1997; Wittamer V et al. 2003; Zabel BA et al. 2005). Exprese receptoru CMKLR1 byla zjištěna hlavně v buňkách imunitního systému – neutrofilech, aktivovaných makrofázích a dendritických buňkách. Aktivní forma chemerinu je přítomna v plazmě, séru a hemofiltrátu. Koncentrace aktivní formy chemerinu v lidském organismu se pohybuje okolo 3 nM v plazmě a 4,4 nM v séru. (Wittamer V et al. 2003; Wittamer V et al. 2005; Zabel BA et al. 2005) Shodně z předpokládanými prozánětlivými vlastnostmi byla aktivní forma chemerinu nalezena také v ascitu pacientek s karcinomem ovária (1.8–7 nM) a synoviální tekutině pacientů s artritidou (22 nM). (Wittamer V et al. 2003) Specifické tkáňové nebo buněčné struktury odpovědné za sekreci chemerinu do těchto tělesných tekutin nebyly však doposud identifikovány.

Zdroj cirkulujícího chemerinu je doposud nejasný. Chemerinová mRNA je nejvíce exprimována v tukové, jaterní a ledvinné tkáni. Iničiální studie na zvířatech vykazaly u myši vysokou expresi chemerinu a CMKLR1 v bílé tukové tkáni. (Goralski KB et al. 2007) I když přítomnost chemerinové mRNA v buňkách nezaručuje syntézu nebo sekreci kódovaného proteinu, je vysoce pravděpodobné, že tuková tkán má významný vliv na plazmatickou hladinu chemerinu. Při pokusech na zvířatech byla u obézních jedinců zvýšena exprese chemerinové mRNA (Bozaoglu K et al. 2007), je proto pravděpodobné, že je tomu tak také u lidí. Gen pro chemerin, který kóduje signální peptid je také vylučován řadou dalších buněk jako jsou endoteliální buňky a fibroblasty.

V organismu má chemerin řadu funkcí. Expres chemerinu a jeho receptoru je zvýšená během procesu diferenciacce preadipocytu v adipocyt. Všechna doposud dostupná data naznačují, že bílá tuková tkáň je zdrojem a také cílovým orgánem signální dráhy chemerinu. Společně s průkazem chemerinu v cirkulaci a důkazech o aktivní endokrinní funkci tukové tkáně vedly k formulaci hypotézy o potencionální regulační úloze chemerinu při adipogenezi a funkci adipocitu. (Goralski KB et al. 2007) Chemerin působí jako prozánětlivý cytokin, který aktivuje buňky imunitního systému. Chemerin moduluje funkci imunitního systému vazbou na chemerinový receptor. Závěry konkrétních pozorování na zvířatech vedou k hypotéze, že chemerin je u obézních jedinců proteolyticky štěpen na svou bioaktivní formu, zatímco u hubených jedinců chemerin perzistuje nezměněn ve své inaktivní formě. (Bozaoglu K et al. 2007) Tento potencionální regulační mechanismus bioaktivity chemerinu by mohl být klíčovým iniciátorem adipogeneze a zánětlivých procesů. Je tedy možné, že chemerin je také zodpovědný za zánětlivý proces v tukové tkáni.

Doposud nebyly provedeny studie, které by sledovaly vliv hormonálních změn asociovaných s menopauzou na hladinu chemerinu a které by posoudily vliv administrace HRT na jeho koncentraci.

1.6.6 Osteoprotegerin

V membráně buněk osteoklastové linie se nachází protein, bez něhož žádný ze známých kalcitropních hormonů a proresorptivních cytokinů nezvýší kalcémii a nepůsobí zvýšení počtu osteoklastů v kosti. Tento protein byl identifikován jako RANK (Receptor Activator of Nuclear factor Kappa b). (Kaneda T et al. 2000) Tato bílkovina je považována za hematopoetický povrchový receptor řídící osteoklastogenezi a metabolismus kalcia.

Ligandem a agonistou RANKu je protein, produkováný osteoblasty a buňkami kostního stromatu. Byl identifikován jako RANKL (RANK Ligand - který pravděpodobně zvyšuje kostní resorpci indukci exprese genu pro katepsin K). (Kaneda T et al. 2000) Osteoblasty, stromální buňky, ale podle posledních informací i tukové buňky (Juan-Ji An et al: 2007) produkují další protein, který váže RANKL a znemožňuje jeho vazbu na RANK. Tento protein brání diferenciaci progenitorů v osteoblasty, působí hypokalcemicky a antiresorptivně. Byl nazván osteoprotegerin (OPG) nebo OCIF (OsteoClastogenesis Inhibiting Factor) (Kaneda T et al. 2000). RANKL a jeho blokátor osteoprotegerin určují významným způsobem diferenciaci a osteoresorpční funkci osteoklastu, a staly se proto cílem intenzivního výzkumu. Obě molekuly se vyskytují ve volné, na membránu nevázané formě, jejich koncentraci lze měřit a pravděpodobně využít také diagnosticky s tím, že vysoké

hodnoty predikují pacienty s nízkou kostní denzitou. Nedávno bylo také prokázáno, že zvýšené hodnoty osteoprotegerinu jsou spojeny s výskytem kalcifikací na koronárních i periferních tepnách. (Morena M et al. 2009) Za velice zajímavé lze považovat, že nedávno byly prezentovány práce, které prokázaly, že je OPG produkován i v tukové tkáni (jde tedy o adipokin), čehož příčinou by mohl být společná buněčná linie osteoblastů a adipocytů. (Juan-Ji An et al. 2007) Bylo zjištěno, že v diferencovaných 3T3L1 adipocytech se exprese OPG zvyšuje, přičemž se exprese RANKL nemění. Exprese OPG se zvyšuje více v bílé než hnědé tukové tkáni. Podle očekávání bylo také prokázáno, že se podáváním insulinového senziutizéru mění index exprese OPG/RANKL, který klesá. Z tohoto pohledu je zajímavé, že TNF-alpha zvyšuje expresi jak OPG tak RANKL. Je pravděpodobné, že OPG má významné protizánětlivé a antiangiogenní účinky v tukové tkáni (Juan-Ji An et al: 2007). Zdá se, že se OPG zvyšuje u postmenopauzálních žen, kdy souvisí s trváním menopauzy a věkem, nicméně existují rozporuplné informace o vztahu mezi OPG a kostní denzitou, kdy byl některými autory prokázán (Uemura H et al. 2008) a jinými potvrzen nebyl. (Ulivieri FM et al. 2005)

2 . CÍLE PRÁCE

1. Specifikovat charakter změn v sekreci hypofyzárních gonadotropinů po chirurgické kastraci.
2. Objasnit vztahy mezi hormonálními změnami asociovanými s indukovanou menopauzou a moderními laboratorními ukazateli vztaženými k metabolickému riziku hromadného výskytu (tedy k osteoporóze, metabolickému syndromu, atp.).
3. Posoudit vliv podání hormonální substituční terapie; konkrétně perorální nízkodávkové estrogenní hormonální terapie a tibolonu na hladinu vybraných adipokinů, u nichž nebyly žádné vztahy zatím popsány.

Experimentální část a závěry byly u jednotlivých mnou definovaných cílů již většinou publikovány nebo se k publikaci připravují, proto předkládám k uvedené problematice vždy stručný výťah a moje práce, vtahující se k tématu značím tučně arabským písmenem.

3 . EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Vývoj a validace ELISA souprav

Ve spolupráci s Oddělením laboratorní medicíny ve Šternberku, Prostějově a vývojovými laboratořemi firmy Biovendor jsem se podílel na návrhu a validaci vybraných diagnostických souprav na stanovení některých adipokinů.

Šlo o lipocalin-2 (1) a Angiopoietin-like protein 4 (2), které jsme sice v rámci našich souborů nesledovali, ale metodicky šlo o stejný způsob práce, proto je zde uvádím. Současně podrobně uvádím i výsledky se sledovaným adipokinem chemerinem (3).

Ke stanovení chemerinu v séru byla využita ELISA ve formátu sendvič. Tento test je vysoce specifický a citlivý díky použití biotinem značené detekční protilátky. Specifické pokylnální kozí protilátky proti lidskému chemerinu (Biovendor, Brno, Česká republika) byly potaženy na mikrotitrační destičky (Corning Costar, High Binding type) následovně: 100 μ l/jamka v koncentraci protilátky 1 μ g/ml v 0,1 M karbonátovém pufru (pH= 9,0, inkubace 16 h při 4°C). Po odsátí vazebného roztoku byla destička jednou promyta (promývačka Columbus (Tecan) TBS-Tw (0,05 M Tris-HCl; 0,15 M NaCl; pH = 7,2; s 0,05 % Tween 20) a byl odsán blokovací roztok. Ředěné vzorky (sérum ředěno 50x s 0,5% BSA (w/v) v TBS-Tw) nebo standardy byly tyto pipetovány v duplikátech v množství 100 μ l/jamka. Destička byla poté inkubována 1 hodinu při 25°C. Po trojnásobném promytí pomocí (100 μ l/jamka) byla přidána biotinem značená kozí polyklonální protilátka proti lidskému chemerinu (Biovendor, Brno, Česká republika) v koncentraci 300 ng/ml s 0,5 % BSA (w/v) v TBS-Tw a inkubována 1 hodinu ve 25°C. Po dalším trojnásobném promytí byl přidán konjugát 100 μ l/jamka (streptavidin-křenová peroxidáza, (Roche)), v koncentraci 0,025 U/ml s 0,5% BSA (w/v) v TBS-Tw a destička inkubována 30 minut při 25 °C. Po promytí se přidal substrát (100 μ l/jamka, TMB - KPL) a destička byla inkubována dalších 15 minut při 25 °C. Reakce byla zastavena přidávkem 0,2 m kyseliny sírové a vzniklé žluté zbarvení bylo změřeno fotometricky při vlnové délce 450 nm. Intenzita žlutého zbarvení je přímo úměrná obsahu analytu ve vzorku. Koncentrace chemerinu v neznámých vzorcích byly odečteny z kalibrační křivky (obr. č.1), která byla získána vynesáním absorbancí standardů proti jejich známé koncentraci.

Jako standard byl použit rekombinantní humánní chemerin (Biovendor, Brno, Česká republika). Standardy byly připraveny v koncentracích 16, 8, 4, 2, 1, a 0,5 ng/ml s 0,5% BSA (w/v) v TBS-Tw a v množství 100 μ l byly přímo pipetovány do jamky. Specifičnost měření chemerinu testována reaktivitou mezi séry různých savčích druhů. Pro ověření funkčnosti testu byla verifikována správnost a přesnost metody.

Správnost metody byla ověřena metodou standardního přídávku a byla zjišťována výtěžnost, vyjádřená jako poměr získané/očekávané hodnoty koncentrace chemerinu. Vzorky sér od dvou pacientů o koncentraci chemerinu 211 a 182 ng/ml, byly obohaceny o +200, +100 a +50 ng/ml rekombinantního chemerinu. Ke zjištění tzv. diluční linearity byly testovány vzorky dalších dvou osob s hodnotami chemerinu 306,5 a 280 ng/ml.

V testu linearity byly testovány 2 sérové vzorky s hodnotami chemerinu 306,5 a 280 ng/ml, které byly sériově ředěny 4x, 8x, 16x ředícím roztokem, který obsahoval TBS, 0,05 % Tween 20 a 0,05 % želatinu.

Přesnost metody byla testována jako reprodukovatelnost výsledků u 2 vzorků sér a vyjádřena jako variační koeficient (CV) v sérii a mezi sériemi (n=8). Mez stanovitelnosti metody, představující nejnižší stanovitelnou koncentraci chemerinu je vyjádřením koncentrace chemerinu, odpovídající absorbanci vypočítané podle vzorce: průměrná absorbance slepého vzorku (n=16) + 3x směrodatná odchylka průměru slepého stanovení).

3.2 Ověření hypotéz a výsledků experimentálních studií v klinických pilotních studiích

3.2.1 Soubor sledovaných osob

V první části naší práce jsme se snažili specifikovat charakter změn v sekreci hypofyzárních gonadotropinů po chirurgické kastraci (studie I). V rámci pilotní prospektivní studie jsme sledovali soubor 14 osob, z toho 7 před menopauzou (průměrný věk 42,1 roků) a 7 po menopauze (průměrný věk 65,4 roků). U všech osob byla provedena chirurgická kastrace (v důsledku abdominální hysterektomie s oboustrannou adnexektomií). Operační výkony byly provedeny na Porodnicko – gynekologické klinice Fakultní nemocnice Ostrava v časovém rozmezí od ledna 2004 do ledna 2006. **(4)**

V druhé části jsme (studie II) prospektivně sledovali celkem 70 žen ve fertilním věku (skupina A), které podstoupily operační výkon, v jehož důsledku došlo k chirurgické indukci menopauzy. **(5, 6, 7, 8, 9)** Zařazovacími kritérii do pozorování byla chirurgická indukce menopauzy v důsledku oboustranné ovariektomie. Do souboru byly zařazeny ženy, u nichž

byla provedena abdominální hysterektomie či laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie s oboustrannou adnexetomií pro diagnózy uterus myomatosus, adenomyosis uteri a pelveoperitonitis chronica. Operační výkony byly provedeny na Porodnicko – gynekologické klinice Fakultní nemocnice Ostrava v časovém rozmezí od října 2006 do ledna 2008. Všechny operační výkony a rovněž pooperační průběh byly bez komplikací, krevní ztráta u jednotlivých operací nepřesáhla 400ml.

Vyřazovacími kritérii byly preexistující diabetes mellitus na inzulinoterapii nebo terapii perorálními antidiabetiky a elevace hodnot CRP > 10 mg/l.

Pacientky byly po operaci metodou náhodného výběru zařazeny do jedné ze tří podskupin:

1. podskupinu tvořilo 23 žen bez hormonální substituce
2. podskupinu tvořilo 25 pacientek užívající v rámci hormonální substituční terapie estradiol perorálně, kontinuálně v dávce 1 mg denně
3. podskupina byla složena z 22 pacientek, které užívaly v rámci hormonální substituce tibolon perorálně v dávce 2,5 mg denně.

Hormonální substituční terapie byla v příslušných skupinách nasazena 5. pooperační den. Kontrolní skupina (skupina B) byla složena z 12-ti pacientek v premenopauze, bez zdravotních obtíží, nekuřáček, neobézních, bez hormonální terapie, které měly pravidelný menstruační cyklus.

Za osoby s metabolickým syndromem byly považovány ty, jež byly sledovány nebo léčeny pro některý z parametrů metabolického syndromu (hypertriacylglycerolémie, prediabetes, dislipidémie, obezita). Podle závěrů The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III) je metabolický syndrom diagnostikován u osob, které mají splněny více než 3 podmínky uvedené níže: 1) obvod pasu větší nebo rovný 88 cm; 2) koncentrace triglyceridů v séru >1,7 mmol/l; 3) koncentrace HDL v séru < 1,3 mmol/l; 4) hypertenze >130/85 mm Hg nebo terapie hypotenzivy; 5) Hyperglykémie nalačno větší nebo rovna 5,6 mmol/l).

3.2.2 Odběry biologického materiálu, separace, uložení a analýza

U všech 14 žen sledovaných v rámci první studie (studie I) (4) byly před operací a 5. pooperační den provedeny ráno nalačno odběry žilní krve z kubitální žíly. Ze séra byly bezprostředně analyzovány tyto parametry: FSH, Immulite 2000, SMSD; LH, Immulite 2000, SMSD; progesteron, Immulite 2000, SMSD; testosteron, Immulite 2000, SMSD; SHBG, Immulite 2000, SMSD; estradiol, Immulite 2000, SMSD; DHEAS, Immulite 2000, SMSD; prolaktin, Immulite 2000, SMSD; kortizol, Immulite 2000, SMSD; T3, Immulite 2000,

SMSD; TSH, Immulite 2000, SMSD. Všechny parametry byly stanoveny s uspokojivou diagnostickou efektivitou.

V rámci dalších studií u všech žen po chirurgické indukci menopauzy (skupina B) (5, 6, 7, 8, 9) byly 5. pooperační den a v období tří, šesti a devíti měsíců od operačního výkonu provedeny za aseptických kautel ráno nalačno odběry venózní krve z kubitální žíly. Z krve byly stanoveny parametry krevního obrazu (Celltac Alpha, Nihon Kohden) a část v séra byla použita k bezprostřední analýze (urea, enzym, Diasys; kreatinin, Jafe, Advia 1650, Diasys; cholesterol, enzym, Advia 1650, Diasys; LDL cholesterol, Advia 1650, Diasys; HDL cholesterol, Advia 1650, Diasys; TAG, enzym, Advia 1650, Diasys; glukóza, GOD-POD, Advia 1650, Diasys; kyselina močová, Advia 1650, Diasys; ALT, kolorimetrie, Advia 1650, Diasys; AST, kolorimetrie, Advia 1650, Diasys; GMT, enzym, Advia 1650, Diasys; CRP, Imunotubidimetrie, Advia 1650, Diasys; Glukóza, kolorimetrie, Advia 1650, Diasys; FSH, Immulite 2000, SMSD; LH, Immulite 2000, SMSD; progesteron, Immulite 2000, SMSD; testosteron, Immulite 2000, SMSD; SHBG, Immulite 2000, SMSD; estradiol, Immulite 2000, SMSD; DHEAS, Immulite 2000, SMSD; Insulin, Immulite 2000, SMSD; HbA1c, afinitní boronátová chromatografie, Primus. Další skupina vzorků byla alikvotována a zamražena při -80°C a následně stanovena metodou ELISA (Biovendor Dynex); šlo o analýzy OPG, leptinu, A-FABP, FGF-21, chemerinu a adiponektinu (vše ELISA sendvič, Biovendor, systém Dsx). Všechny parametry byly stanoveny s uspokojivou diagnostickou efektivitou ($\text{CV} < 8\%$ v rámci opakovatelnosti i reprodukovatelnosti). Podle jednotlivých období odběru byly jednotlivé vzorky označeny k dalšímu zpracování a vyhodnocení výsledků číselným indexem za sledovaným ukazatelem (např. LP1 – 5. den po chirurgicky indukované menopauze, LP2 – 3 měsíce po chirurgicky indukované menopauze, LP3 - 6 měsíců po chirurgicky indukované menopauze, LP4 - 9 měsíců po chirurgicky indukované menopauze). Kromě stanovení biochemických parametrů byla u všech osob před vyšetřením zjištěna aktuální hmotnost i výška a následně byla ze získaných hodnot vypočtena hodnota BMI. Rovněž byla 5. pooperační den a za 9 měsíců od operace provedena kostní DEXA-denzitometrie (HOLOGIC QDR 2000) v lokalitách celkového proximálního femuru, Wardova trojúhelníku a lumbální oblasti L1-4. V jednotlivých lokalitách byly stanoveny hodnoty BMD, T a Z skóre.

Experimentální část a závěry byly u jednotlivých mnou definovaných cílů již většinou publikovány nebo se k publikaci připravují, proto předkládám k uvedené problematice vždy stručný výtah a moje práce, vztahující se k tématu značím tučně arabským písmenem.

3.3 Statistické zpracování dat

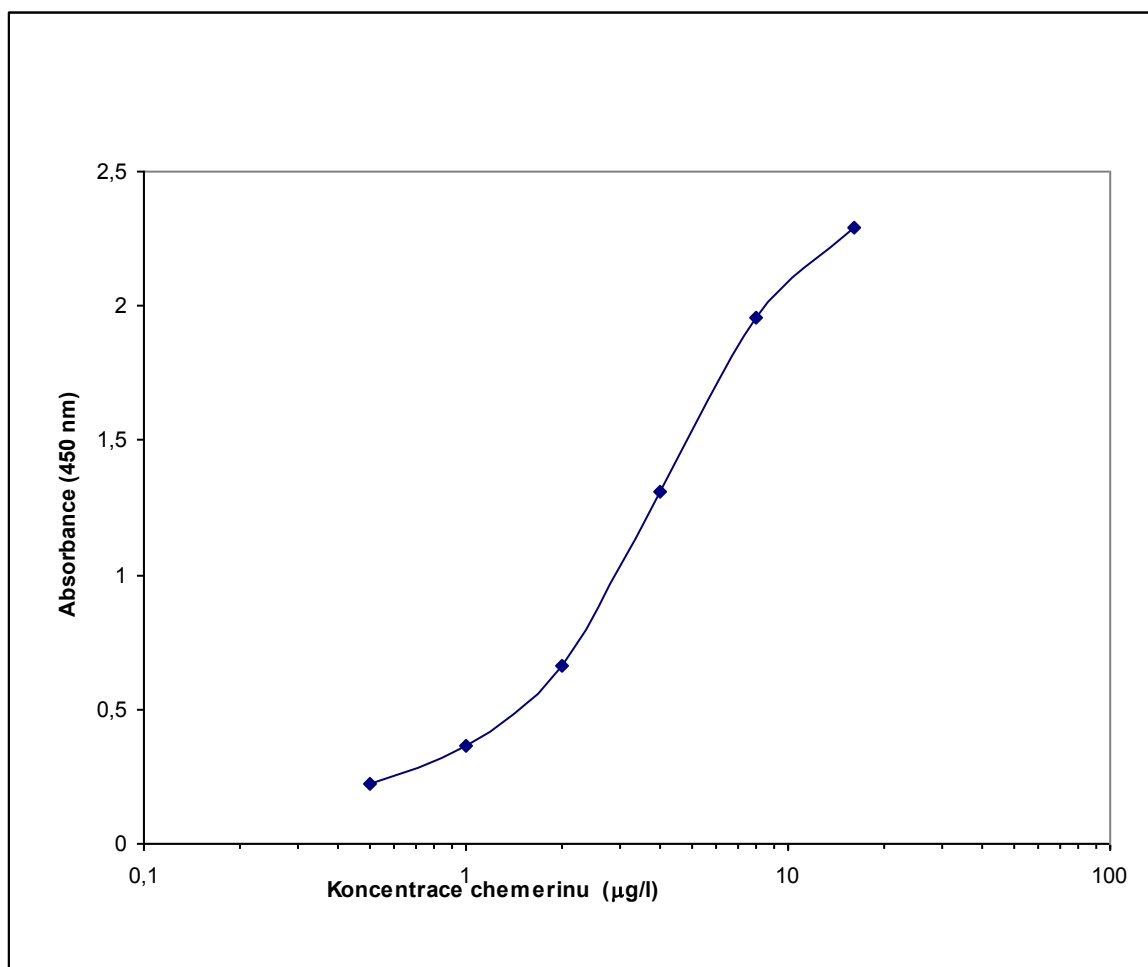
Data byla zpracována pomocí software Medcalc. Spojité veličiny jsou vyjádřeny jako průměr \pm směrodatná odchylka a medián, není-li uvedeno jinak (podle typu rozložení dat). Hladiny adipokinů byly mezi skupinami porovnávány metodou analýzy rozptylu (ANOVA, Kruskal Wallis podle typu rozložení dat). Koncentrace adipokinů a dalších veličin byly navzájem korelovány pomocí Spearmanova nebo Pearsonova korelačního koeficientu (podle typu rozložení dat). KATEGORIÁLNÍ data byly porovnávány χ^2 testem. Při výpočtech bylo také využito regresních rovnic a pro adjustaci metoda ANCOVA. Hodnota $p < 0,05$ byla považována za statisticky signifikantní. Normalita byla hodnocení pomocí χ^2 testu nebo testu Komolgorov-Smirnov. Efektivita stanovení cytokinů proto přítomnost metabolického syndromu byla hodnocena pomocí ROC (receive operating curve) analýzy.

4 . VÝSLEDKY

4.1 Vývoj a validace ELISA soupravy na stanovení adipokinů (1,2,3)

Specifičnost měření chemerinu byla potvrzena testováním zkřížené reaktivity mezi séry různých savčích druhů. Nebyly zaznamenány signály kravského, králičího, kozího, koňského, prasečího, myšího, opičího, krysího ani ovčího séra.

V testech správnosti bylo zjištěno, že průměrná hodnota výtěžnosti při testu standardního přídávku činila 96,7 %. Průměrná hodnota výtěžku při testu linearita činila 102,4 %. Variační koeficient byl v obou testovaných případech menší než 7 %. Limit detekce byl 0,13 g/l. Kalibrační křivka chemerinu je znázorněna na obrázku 1.



Obrázek 1. Kalibrační křivka pro stanovení chemerinu v séru

4.2 Ověření hypotéz a výsledků experimentálních studií (které se věnovaly adipokinů a chirurgicky indukované menopauzy) v klinických pilotních studiích

V rámci studie I bylo vyšetřeno 14 žen (skupina I) před a bezprostředně po chirurgické kastraci (4). V rámci skupiny studií II bylo vyšetřeno a sledováno 82 žen ve fertilním věku; z nich 70 podstoupilo operační výkon, v jehož důsledku došlo k chirurgické indukci menopauzy (skupina A, průměrný věk 48 let). Dvanáct dalších žen sloužilo jako kontrolní soubor (skupina B, průměrný věk 37,5 let) (5, 6, 7, 8, 9).

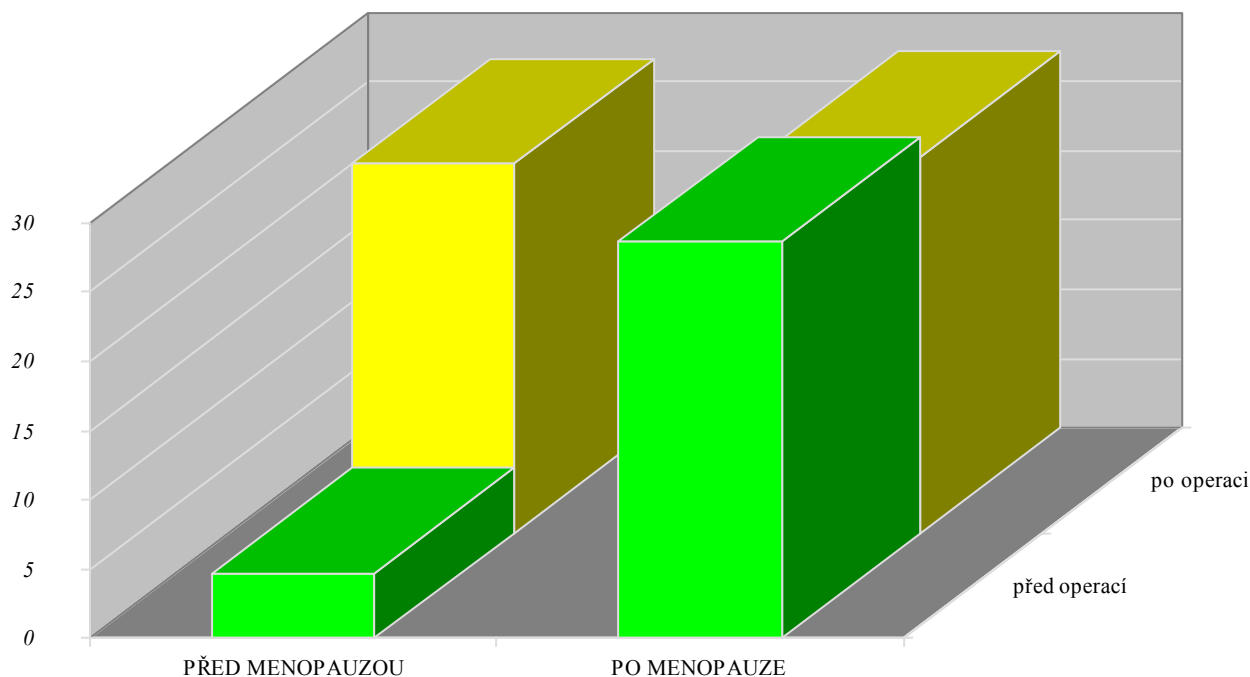
Změny v sekreci hypofyzárních gonadotropinů po chirurgické kastraci

Bylo prokázáno, že hodnoty hypofyzárních hormonů významně stoupají a estradiolu klesají již 5.den po kastraci a neliší se od hodnot žen s déletrvající menopauzou (tab. 1a, obr. 2).

Tabulka 1a. Průměrné hodnoty sledovaných parametrů u žen před menopauzou a v menopauze před a po operační kastraci

Parametr	Jednotka	Před menopauzou		Po menopauze	
		Před operací	Po operaci	Před operací	Po operaci
-	-				
FSH	U/l	4,7	26,7 VS	28,6	27,2 NS
LH	U/l	4	11,4 VS	11,9	11,2 NS
Testosteron	nmol/l	1,6	1,3 NS	1,5	1,1 NS
DHEAS	mol/l	4,1	4,3 NS	4,0	2,7 NS
Prolaktin	μg/l	13,1	21,9 NS	12,1	20,7 NS
Estradiol	nmol/l	0,32	0,04 VS	0,08	0,09 VS
Progesteron	nmol/l	20,0	6,3 VS	1,3	2,2 NS
Kortizon	nmol/l	513,0	442,1 NS	442,0	431,7 NS
T3	nmol/l	1,22	1,21 NS	1,53	1,21 NS
TSH	nmol/l	1,4	1,3 NS	1,8	2,5 NS

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$



Obrázek 2. Ukázka změn hodnot FSH u žen před menopauzou a s menopauzou před a bezprostředně po operačním výkonu (5.den) Na ose Y jsou uvedeny hodnoty FSH v IU/l.

Koncentrace leptinu v séru u pacientek po chirurgicky indukované menopauze (5)

Koncentrace leptinu v séru během sledovaného období a jejich vzájemné souvislosti jsou vyjádřeny v tab. 3.

Souvislosti při vstupním vyšetření a charakteristika souboru, srovnání s kontrolní skupinou:

byl vyšetřen soubor žen středního věku po chirurgicky indukované menopauze, které měly pět dnů po výkonu laboratorní známky deficitu sexagenů, mírnou anemii, leukocytózu, vyšší CRP, lehkou nadváhu, snížen HDL cholesterol a mírnou polygenní hypercholesterolemii. 28% žen z testovaného souboru bylo sledováno pro hypertenzi. (tab. 1 a tab.2)

Při porovnání s kontrolní skupinou zdravých fertálních žen bylo zjištěno, že ženy s chirurgicky indukovanou menopauzou byly významně starší než kontrolní skupina, měly vyšší hodnoty FSH, LH, CRP, glukózy, PTH, leukocytů a nižší koncentrace estradiolu, SHBG, progesteronu, HDL a hemoglobinu (tab. 1, tab. 2).

U skupiny A byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi leptinu a A-FABP, ALT, BMI, chemerinu, TAG, CRP, volným testosteronem, estradiolem, GMT, Hb, HbA1c, insulinem, kyselinou močovou, leukocyty, OPG, kostní denzitou na femuru a ve Wardově trojúhelníku a negativní korelace s Ca, FSH, SHBG a množstvím trombocytů (tab. 4). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní

souvislosti mezi leptinem a BMI, A-FABP, ALT, E2, kostní denzitou v oblasti femuru, volným testosteronem, GMT, Hb, insulinem, kyselinou močovou, OPG, a negativní korelace s SHBG i počtem trombocytů. U kontrolní skupiny byly zjištěny pozitivní korelace pouze mezi leptinemi a hodnotou BMI a glykémie (tab. 6).

Změny a souvislosti během 3 měsíců: hodnoty leptinu se během sledovaného období významně neměnily. Byl však zaznamenán významný vzestup leptinémie u osob léčených substitucí estrogenu (na rozdíl od jiného způsobu substituce) (tab. 3).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi leptinu a A-FABP, ALT, BMI, triglyceridů, volným testosteronem, estradiolem, Hb, HbA1c, insulinem, kyseliny močové, leukocytů, OPG, PTH a negativní korelace s Ca a SHBG (tab. 5)

Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi leptinem a BMI, A-FABP, ALT, volným testosteronem, Hb, insulinem i TAG a negativní korelace s SHBG a kalcemií.

Změny a souvislosti během 6 měsíců: hodnoty leptinu se během sledovaného období od jeho počátku významně neměnily. Stejně jako po 3 měsících přetrvával významný vzestup leptinémie u osob léčených substitucí estrogenu (na rozdíl od jiného způsobu substituce) (tab. 3). Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi leptinu a A-FABP, ALT, BMI, triglyceridů, volným testosteronem, estradiolem, chemerinem, HbA1c, insulinem, OPG, PTH, kostní denzitou na lumbální páteři, femuru a ve Wardově trojúhelníku a negativní korelace s LH, Ca, P a SHBG (tab. 6)

Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi leptinem a BMI, A-FABP, ALT, chemerinem, insulinem i TAG a negativní korelace s SHBG.

Změny a souvislosti během 9 měsíců: hodnoty leptinu se během sledovaného období od jeho počátku významně neměnily. Podobně jako po 3 a 6 měsících byl zaznamenán významný vzestup leptinémie u osob léčených estrogenu (tab. 3).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi leptinu a A-FABP, ALT, BMI, volným testosteronem, estradiolem, chemerinem, HbA1c, insulinem, PTH, kostní denzitou na femuru a ve Wardově trojúhelníku a negativní korelace s FSH a SHBG (tab. 7). Pokud byly

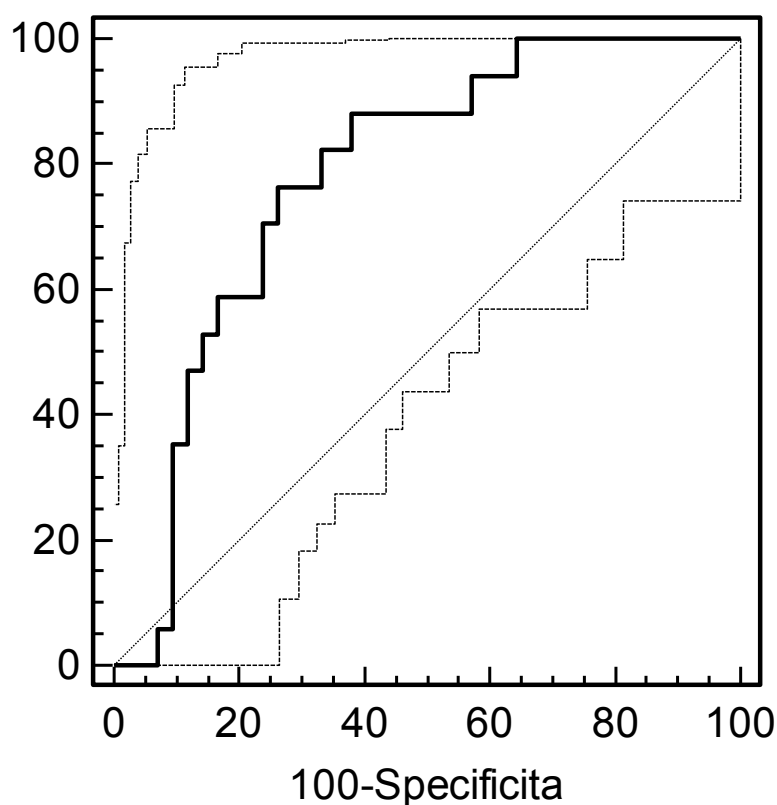
sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi leptinem a BMI, ALT, hodnotou kostní denzity v oblasti femuru, HbA1c, TAG, PTH i estradiolem a negativní korelace s SHBG.

Vztah koncentrace leptinu a kostní denzity: basálně byl zjištěn vztah mezi leptinemií a hodnotami kostní denzity, který byl vyjádřen i po 9-měsíčním sledování.

Po devíti-měsíční substituci nebyly zjištěny souvislosti mezi leptinem, ukazateli minerálního metabolismu, osteokalcinu a OPG mimo koncentrací PTH (pozitivní souvislost) (tab. 7). Během tohoto relativně krátkého období také nebyl pozorován efekt podávané substituční terapie na hodnoty kostní denzity (tab. 22).

Vztah koncentrace leptinu a dalších laboratorních ukazatelů rizika kardiovaskulárních komplikací: jak bylo uvedeno výše, byl prokázán vztah mezi leptinemií a řadou kardiovaskulárních rizikových parametrů typických pro metabolický syndrom (tab. 4), který se na konci sledovaného období významně neměnil mimo vymizení souvislosti mezi leptinem a TAG (tab. 7).

Při využití ROC analýzy lze říci, že leptin byl i po menopauze dostatečně diagnosticky efektivní pro přítomnost metabolického syndromu (obr. 3). Následně byla provedena logistická krokové regrese, ze které vyplynulo, že přítomnost metabolického syndromu nesouvisela přímo s koncentrací leptinu, ale do modelu byla zahrnuta pouze hodnota BMI a triglyceridů. To potvrdil i fakt, že po adjustaci leptinu na věk a BMI schopnost diferenciací přítomnosti metabolického syndromu pomocí stanovení leptinu vymizela. Zdá se tedy, že u žen po menopauze není vztah mezi leptinem a metabolickým syndromem nezávislý.



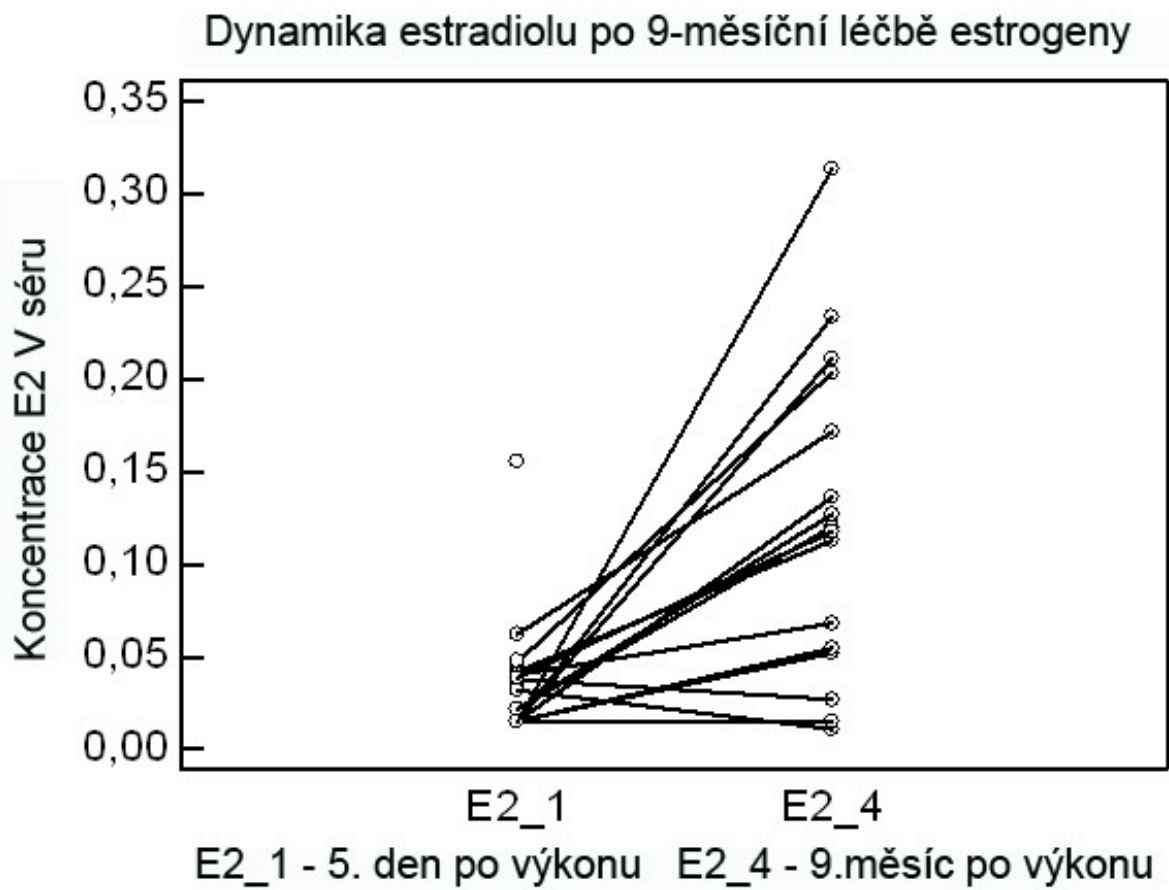
Obrázek 3. ROC pro vztah leptinu a přítomnost metabolického syndromu v časně menopauze (5.den), cut-off 15,16 ug/l, senzitivita 76,5%, specifická 73,8%, LR+ 2,9, NPV- 89%, AUC 0,78; 95% interval spolehlivosti 0,66-0,88).

Změny dalších sledovaných parametrů během 9-měsíčního sledování:

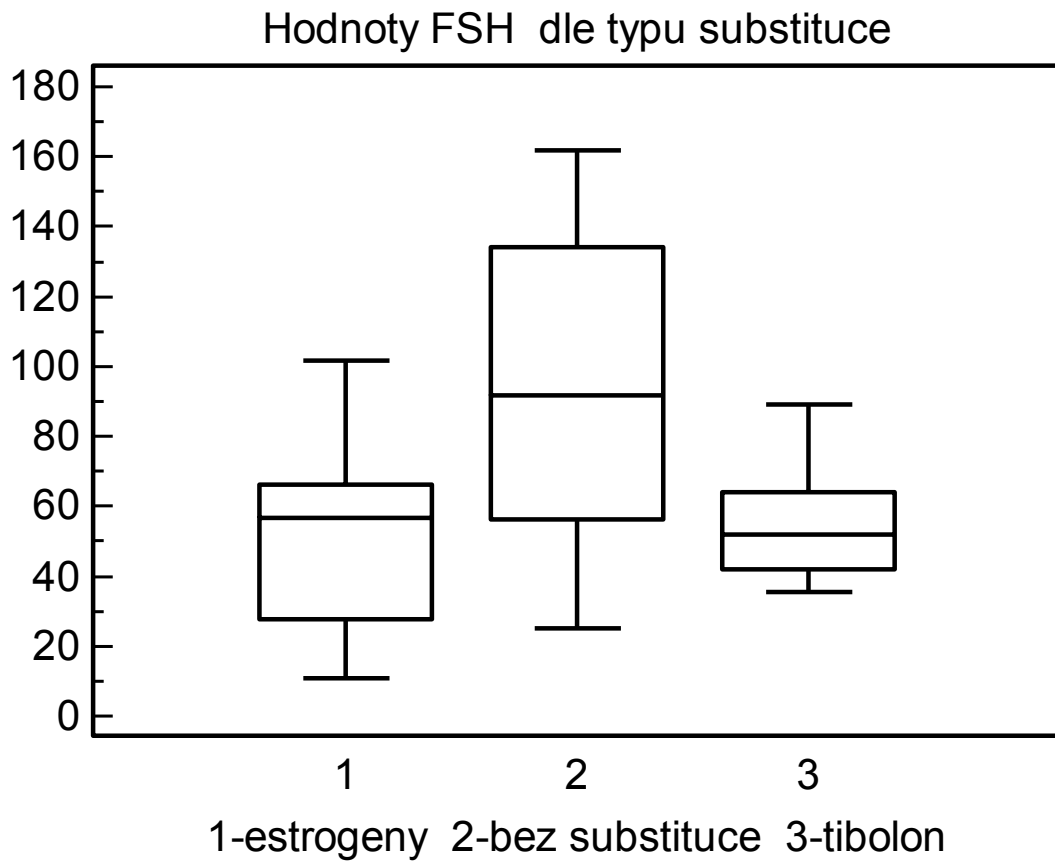
- 1) *Osoby bez substituce:* došlo k významnému vzestupu LH (na rozdíl od osob se substitucí), FSH (změny byly významnější jako u osob léčených estradiolem; u jedinců léčených tibolonem dokonce ke změnám nedošlo), SHBG (u osob léčených estrogeny ke změnám nedošlo), celkového i HDL cholesterolu, albuminu, HbA1c, fosforu (tato změna ale nebyla statisticky významná, nicméně u osob léčených substitucí estrogeny a tibolonem došlo naopak k poklesu), koncentrace hemoglobinu, osteokalcinu (na rozdíl od ostatních podskupin, kde došlo k jeho poklesu) i kyseliny močové a poklesu počtu leukocytů, glykémie, PTH i CRP. Nedošlo, na rozdíl od ostatních podskupin, k poklesu TAG (tab. 9-21).

2) *Osoby se substitucí estrogeny*: došlo k významnému vzestupu hodnot estradiolu (obr. 4), FSH (změny ale nebyly tak významné jako u osob bez substituce, obr. č. 5), celkového i HDL cholesterolu, albuminu, koncentrace hemoglobinu, kalcia (na rozdíl od ostatních podskupin), HbA1c i kyseliny močové a poklesu počtu leukocytů, PTH, CRP, glykémie, osteokalcinu (u osob bez substituce došlo naopak k vzestupu) i triglyceridů (tab. 9-21). Fosfatémie sice na rozdíl od osob bez substituce klesla, ale nevýznamně.

3) *Osoby se substitucí tibolonem*: došlo k významnému vzestupu DHEAS (rozdíl byl ve srovnání se skupinou bez substituce signifikantní, obr. 6), koncentrace hemoglobinu a kyseliny močové; stouply i hodnoty volného testosteronu a albuminu, nicméně změny nebyly významné. Došlo k poklesu počtu leukocytů, glykémie, SHBG, P, PTH, CRP i triglyceridů. Ke změnám cholesterolu a HDL cholesterolu nedošlo (tab. 9-21). Osoby se substitucí tibolonem měly po 3 měsících nejnižší hodnoty magnezinémie ze všech ostatních podskupin, nicméně na konci doby sledování (9 měsíců) se hodnoty od ostatních probandů již nelišily. Klesly i hodnoty osteokalcinu (na rozdíl od vzestupu u osob bez substituce), ale změny nebyly významné (tab. 9-26).

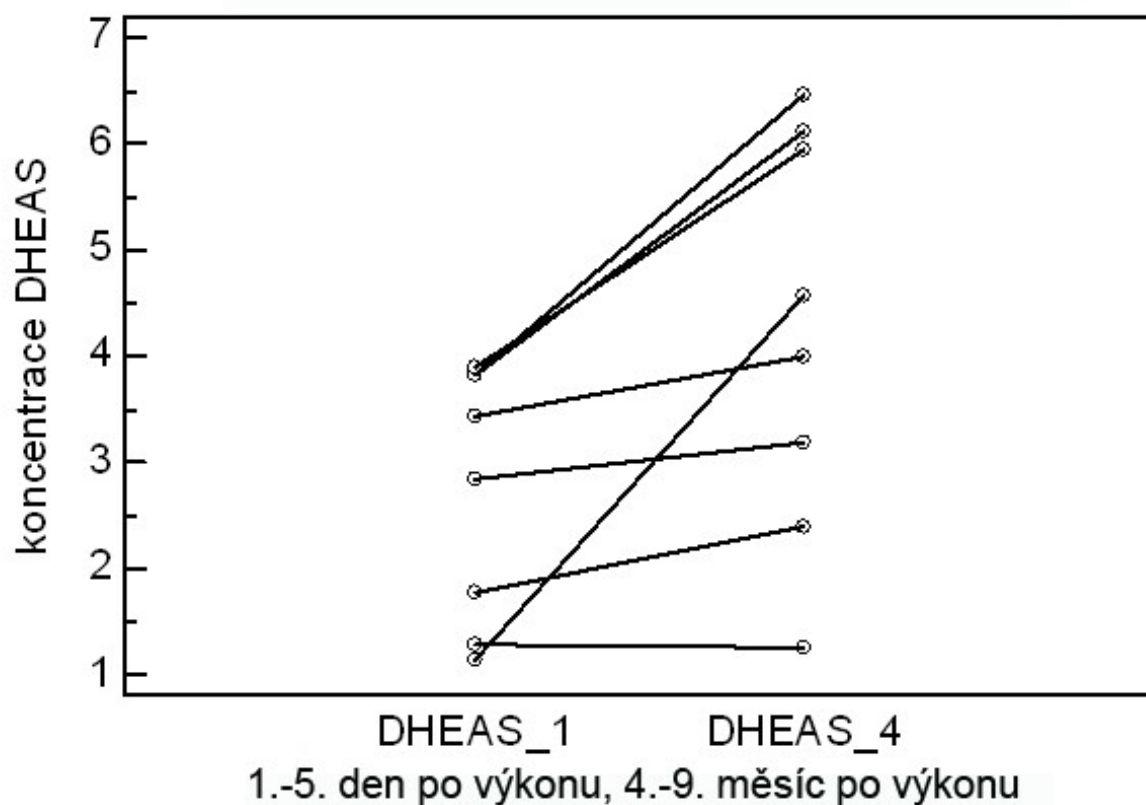


Obrázek 4. Dynamika hodnot estradiolu v nmol/l mezi po 9-měsíčním sledování u osob léčených estrogény



Obrázek 5. Koncentrace FSH v séru v U/l za 9 měsíců po chirurgické kastraci dle typu substituce

Dynamika DHEAS při substituci tibolonem



Obrázek 6. Dynamika DHEAS v séru v $\mu\text{mol/l}$ mezi po 9-měsíčním sledování po kastraci při léčbě tibolonem

Tabulka 1. Porovnání vybraných testovaných hodnot u pacientů bezprostředně po chirurgické kastraci nezávisle na její terapii ve srovnání s kontrolním souborem

Ukazatel	Jednotka	Průměr	SD	RR
BMI_kastrace	J	27,2	5,9	
BMI_kontrola		23,4	4,0	NS
Věk_kastrace	Roky	48,0	3,6	
Věk_kontrola		35,7	12,7	VS, $p < 0,01$
Adiponectin_kastrace	g/l	15,7	11,1	
Adiponectin_kontrola		9,7	3,3	NS

FGF-21_kastrace	µg/l	239,6	207	
FGF-21_kontrola		253	198	NS
Chemerin_kastrace	µg/l	202,7	40,6	
Chemerin_kontrola		198	37,5	NS
Leptin_kastrace	µg/l	18,2	14,5	
Leptin_kontrola		15,8	11,0	NS
Osteoprotegerin_kastrace	pmol/l	6,9	1,6	
Osteoprotegerin_kontrola		7,1	1,8	NS
FSH_kastrace	U/l	45,6	29,1	
FSH_kontrola		7,2	4,8	VS, p<0,01
LH_kastrace	U/l	22,6	14,7	
LH_kontrola		7,9	7,9	S,p=0,03
E2_kastrace	nmol/l	0,03	0,03	
E2_kontrola		0,23	0,04	VS, p<0,01
DHEAS_kastrace	µmol/l	2,5	1,7	
DHEAS_kontrola		3,4	1,4	NS
SHBG_kastrace	nmol/l	77,4	45,8	
SHBG_kontrola		113,5	65,8	S, p=0,02
Testosteron_kastrace	nmol/l	1,4	1,1	
Testosteron_kontrola		1,7	0,2	NS
Volný testosteron_kastrace	ng/l	1,36	1,1	
Volný testosteron_kontrola		1,87	2,7	NS
Progesteron_kastrace	nmol/l	0,73	0,49	
Progesteron_kontrola		2,1	2,2	VS, p<0,01
Cholesterol_kastrace	mmol/l	5,3	1,0	
Cholesterol_kontrola		5,1	0,7	NS
HDL_kastrace	mmol/l	1,3	0,4	
HDL_kontrola		1,7	0,3	VS, p<0,01
TAG_kastrace	mmol/l	,6	0,6	
TAG_kontrola		1,5	0,8	NS
CRP_kastrace	mg/l	6,2	2,7	
CRP_kontrola		3,7	0,9	VS, p<0,01
Obvod pas_kastrace	cm/l	84,6	20,1	
Obvod pas_kontrola		79,8	18,7	NS

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině p<0,05; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti p< 0,01; SD – směrodatná odchylka;

Tabulka 2. Porovnání vybraných testovaných hodnot u pacientů bezprostředně po chirurgické kastraci nezávisle na její terapii ve srovnání s kontrolním souborem

Ukazatel	Jednotka	Průměr	SD	RR
Glukóza_kastrace	mmol/l	5,4	0,8	
glukóza_kontrola		4,9	0,6	S, p=0,04

HbA1c_kastrace	%	3,1	0,9	
HbA1c_kontrola		3,3	0,3	NS
ALT_kastrace	μkat/l	0,41	0,3	
ALT_kontrola		0,46	0,49	NS
AST_kastrace	μkat/l	0,34	0,12	
AST_kontrola		0,41	0,15	NS
GMT_kastrace	μkat/l	0,54	0,47	
GMT_kontrola		0,54	0,75	NS
T skore L páteř_kastrace	T skore	0,12	1,4	
T skore L páteř_kontrola		-0,1	1,5	NS
T skore femur_kastrace	T skore	1,47	13,2	
T skore femur_kontrola		-0,78	1,2	NS
T skore Ward_kastrace	T skore	-1,0	1,4	
T skore Ward_kontrola		-0,3	1,6	NS
Osteokalcin_kastrace	μg/l	4,7	3,5	
Osteokalcin_kontrola		5,7	3,8	NS
Insulin_kastrace	mIU/l	9,1	7,2	
Insulin_kontrola		7,9	2,8	NS
Ca_kastrace	mmol/l	2,3	0,12	
Ca_kontrola		2,36	0,07	NS
P_kastrace	mmol/l	1,18	0,17	
P_kontrola		1,1	0,15	NS
Mg_kastrace	mmol/l	0,87	0,31	
Mg_kontrola		0,84	0,08	NS
PTH_kastrace	ng/l	43,8	31,6	
PTH_kontrola		24,2	15,1	S, p=0,04
Hb_kastrace	g/l	111,9	15,3	
Hb_kontrola		131,0	9,4	VS, p<0,01
Leukocyty_kastrace	x/109	9,5	2,7	
Leukocyty_kontrola		6,3	0,9	VS, p<0,01
Trombo_kastrace	x/109	260,1	84,9	
Trombo_kontrola		297	45,8	NS
K.močová_kastrace	μmol/l	229,5	77,5	
K.močová_kontrola		238	54,5	NS
Albumin_kastrace	g/l	40,3	3,3	
Albumin_kontrola		43,4	2,9	VS, p<0,01
Kreatinin_kastrace	μmol/l	72,6	24,1	
Kreatinin_kontrola		77,1	12,0	NS

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině p<0,05; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti p< 0,01; SD – směrodatná odchylka;

Tabulka č. 3. Leptin v séru v µg/l u sledovaných osob po operační kastraci dle typu substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Leptin_1 without	µg/l	1	19,0	16,7	12,4	NS	
Leptin_2 without		1	18,9	12,7	16,8		
Leptin_3 without		1	20,4	13,3	16,5		
Leptin_4 without		1	23,6	18,8	12,42		
Leptin_1 with E2	µg/l	2	17,6	12,8	13,7	VS, p<0,01	NS
Leptin_2 with E2		2	22,2	12,8	20,0		NS
Leptin_3 with E2		2	22,6	14,2	18,3		NS
Leptin_4 with E2		2	23,2	13,3	19,41		NS
Leptin_1 tibolone	µg/l	3	17,7	12,9	12,48 12,5	VS, p<0,01	
Leptin_2 tibolone		3	20,7	12,5	17		
Leptin_3 tibolone		3	20,8	13,4	15,4		
Leptin_4 tibolone		3	25,5	13,8	21,7		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině p<0,05; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti p< 0,01; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogeny, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 4. Vztahy mezi koncentrací leptinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 5 dnech po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Leptin	A-FABP_1	0,6	<0,01
Leptin	A-FABP_2	0,69	<0,01
Leptin	A-FABP_3	0,63	<0,01
Leptin	A-FABP_4	0,45	<0,01
Leptin	ALT_1	0,36	<0,01
Leptin	ALT_2	0,44	<0,01
Leptin	ALT_3	0,44	<0,01
Leptin	ALT_4	0,39	0,01
Leptin	BMI_1	0,75	<0,01
Leptin	BMI_2	0,79	<0,01
Leptin	BMI_3	0,76	<0,01
Leptin	BMI_4	0,79	<0,01
Leptin	CRP_3	0,34	0,03
Leptin	E2_1	0,37	<0,01
Leptin	Femur T skóre_1	0,36	<0,01
Leptin	Femur T skóre_2	0,41	0,01
Leptin	Femur Z skóre_1	0,49	0,01

Leptin	Femur Z skore_2	0,42	<0,01
Leptin	Free testosteron_1	0,55	<0,01
Leptin	Free testosteron_2	0,31	0,03
Leptin	FSH_2	-0,26	0,049
Leptin	FSH_3	-0,35	0,02
Leptin	FSH_4	-0,29	0,049
Leptin	GMT_1	0,28	0,03
Leptin	Hb_1	0,31	0,02
Leptin	HbA1c_4	0,39	0,01
Leptin	Chemerin_2	0,32	0,03
Leptin	Chemerin_3	0,2	0,049
Leptin	Chemerin_4	0,35	0,03
Leptin	Insulin_1	0,49	<0,01
Leptin	Insulin_2	0,4	<0,01
Leptin	Insulin_3	0,5	<0,01
Leptin	Insulin_1	0,39	0,01
Leptin	Insulin_1	0,39	0,01
Leptin	K.močová_1	0,35	<0,01
Leptin	Leukocyty_2	0,36	0,01
Leptin	Leukocyty_3	0,36	0,01
Leptin	Leukocyty_4	0,31	0,04
Leptin	Leptin_2	0,79	<0,01
Leptin	Leptin_3	0,83	<0,01
Leptin	Leptin_4	0,89	<0,01
Leptin	OPG_1	0,21	0,03
Leptin	SHBG_1	-0,55	<0,01
Leptin	SHBG_2	-0,31	0,03
Leptin	SHBG_3	-0,4	<0,01
Leptin	SHBG_4	-0,48	<0,01
Leptin	Trombo_1	-0,33	0,02
Leptin	Ward T skore_2	0,34	0,04
Leptin	Ward Z skore_2	0,34	<0,01
Leptin	Trg_3	0,3	0,03
Leptin	Ca_2	-0,28	0,049

Tabulka 5. Vztahy mezi koncentrací leptinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 3 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Leptin	A-FABP_1	0,48	<0,01
Leptin	A-FABP_2	0,65	<0,01
Leptin	A-FABP_3	0,6	<0,01
Leptin	Ca_2	-0,34	0,02
Leptin	ALT_2	0,36	0,01
Leptin	ALT_3	0,37	0,02
Leptin	ALT_4	0,35	0,04
Leptin	BMI_1	0,73	<0,01
Leptin	BMI_2	0,73	<0,01
Leptin	BMI_3	0,77	<0,01
Leptin	BMI_4	0,66	<0,01
Leptin	E2_1	0,37	<0,01
Leptin	Femur T skore_1	0,44	<0,01
Leptin	Femur Z skore_1	0,34	0,02
Leptin	Femur Z skore_2	0,34	0,03
Leptin	Free testosteron_1	0,58	<0,01
Leptin	Free testosteron_2	0,38	<0,01
Leptin	Hb_1	0,29	0,04
Leptin	Hb_2	0,34	0,02
Leptin	HbA1c_4	0,41	0,01
Leptin	Chemerin_3	0,31	0,04
Leptin	Chemerin_4	0,42	0,01
Leptin	Insulin_1	0,55	<0,01
Leptin	Insulin_2	0,54	<0,01
Leptin	Insulin_3	0,51	<0,01
Leptin	Insulin_4	0,58	<0,01
Leptin	L páteř T skore	0,29	0,045
Leptin	Leptin_1	0,79	<0,01
Leptin	Leptin_3	0,93	<0,01
Leptin	Leptin_4	0,85	<0,01
Leptin	OPG_1	0,38	0,01
Leptin	PTH_3	0,34	0,04
Leptin	SHBG_1	-0,55	<0,01
Leptin	SHBG_2	-0,3	0,04
Leptin	SHBG_3	-0,36	0,02
Leptin	SHBG_4	-0,39	0,02
Leptin	Ward T skore_1	0,33	0,03
Leptin	Ward Z skore_2	0,37	0,03
Leptin	Trg_2	0,36	0,01

Tabulka 6. Vztahy mezi koncentrací leptinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 6 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Leptin	A-FABP_1	0,5	<0,01
Leptin	A-FABP_2	0,64	<0,01
Leptin	A-FABP_3	0,55	<0,01
Leptin	ALT_1	0,34	0,02
Leptin	ALT_2	0,48	<0,01
Leptin	ALT_3	0,47	<0,01
Leptin	ALT_4	0,32	0,046
Leptin	BMI_1	0,72	<0,01
Leptin	BMI_2	0,75	<0,01
Leptin	BMI_3	0,79	<0,01
Leptin	BMI_4	0,73	<0,01
Leptin	E2_1	0,34	0,026
Leptin	Femur T skore_1	0,5	<0,01
Leptin	Femur Z skore_1	0,42	<0,01
Leptin	Femur Z skore_2	0,48	<0,01
Leptin	Free testosteron_1	0,56	<0,01
Leptin	Free testosteron_2	0,43	<0,01
Leptin	HbA1c_4	0,43	<0,01
Leptin	Chemerin_2	0,41	<0,01
Leptin	Chemerin_3	0,46	0,04
Leptin	Chemerin_4	0,40	0,02
Leptin	Insulin_1	0,56	<0,01
Leptin	Insulin_2	0,53	<0,01
Leptin	Insulin_3	0,57	<0,01
Leptin	Insulin_4	0,59	<0,01
Leptin	L páteř T skore_1	0,39	0,01
Leptin	L páteř T skore_2	0,39	0,03
Leptin	Leptin_1	0,83	<0,01
Leptin	Leptin_2	0,93	<0,01
Leptin	Leptin_4	0,91	<0,01
Leptin	OPG_1	0,35	0,02
Leptin	PTH_4	0,32	0,04
Leptin	SHBG_1	-0,53	<0,01
Leptin	SHBG_2	-0,41	<0,01
Leptin	SHBG_3	-0,38	0,01
Leptin	SHBG_4	-0,47	<0,01
Leptin	Ward T skore_1	0,34	0,03
Leptin	Ward T skore_2	0,32	0,045
Leptin	Trg_3	0,36	0,01
Leptin	Ca_2	-0,34	0,03

Leptin	Femur_T skore 2	0,42	0,01
Leptin	Leukocyty_2	0,32	0,03
Leptin	LH_2	-0,36	0,02
Leptin	P_2	-0,34	0,03
Leptin	Ward Z_skore_1	0,32	0,04

Tabulka 7. Vztahy mezi koncentrací leptinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 9 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Leptin	A-FABP_1	0,5	<0,01
Leptin	A-FABP_2	0,66	<0,01
Leptin	A-FABP_3	0,51	<0,01
Leptin	ALT_1	0,46	<0,01
Leptin	ALT_2	0,55	<0,01
Leptin	ALT_3	0,47	<0,01
Leptin	ALT_4	0,38	0,02
Leptin	BMI_1	0,73	<0,01
Leptin	BMI_2	0,84	<0,01
Leptin	BMI_3	0,84	<0,01
Leptin	BMI_4	0,76	<0,01
Leptin	E2_1	0,4	0,016
Leptin	Femur T skore_1	0,36	0,03
Leptin	Femur Z skore_1	0,42	<0,01
Leptin	Femur Z skore_2	0,48	<0,01
Leptin	Free testosteron_1	0,53	<0,01
Leptin	Free testosteron_2	0,35	0,049
Leptin	HbA1c_4	0,43	<0,01
Leptin	Chemerin_2	0,54	<0,01
Leptin	Chemerin_3	0,38	0,027
Leptin	Insulin_1	0,6	<0,01
Leptin	Insulin_2	0,47	<0,01
Leptin	Insulin_3	0,52	<0,01
Leptin	Insulin_4	0,44	<0,01
Leptin	Leptin_1	0,89	<0,01
Leptin	Leptin_2	0,85	<0,01
Leptin	Leptin_4	0,91	<0,01
Leptin	PTH_4	0,39	0,02
Leptin	SHBG_1	-0,42	<0,01
Leptin	SHBG_3	-0,4	0,02
Leptin	SHBG_4	-0,53	<0,01
Leptin	E2_4	0,42	0,01
Leptin	FSH_3	-0,35	0,042

Tabulka 8. Vztahy mezi koncentrací leptinu v séru a dalšími sledovanými parametry u kontrolní skupiny

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Leptin	BMI	0,67	0,02
Leptin	Glukóza	0,63	0,03

Tabulka 9. Hormonální parametry u podskupin podle způsobu substituce

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
E2_1 without	μmol/l	1	0,02	0,01	0,02	NS	
E2_2 without		1	0,05	0,09	0,02		
E2_3 without		1	0,04	0,05	0,03		
E2_4 without		1	0,03	0,04	0,02		
E2_1 with E2	μmol/l	2	0,03	0,03	0,02	VS, p<0,01	NS
E2_2 with E2		2	0,12	0,08	0,1		VS 2-1,2-3;p<0,01
E2_3 with E2		2	0,14	0,11	0,12		VS 2-1,2-3;p<0,01
E2_4 with E2		2	0,12	0,09	0,12		VS 2-1,2-3;p<0,01
E2_1 tibolone	μmol/l	3	0,03	0,03	0,02	NS	
E2_2 tibolone		3	0,03	0,05	0,015		
E2_3 tibolone		3	0,02	0,01	0,02		
E2_4 tibolone		3	0,02	0,01	0,02		
Progesterone_1 without	nmol/l	1	0,73	0,54	0,6	NS	
Progesterone_2 without		1	0,69	0,4	0,6		
Progesterone_3 without		1	0,74	0,97	0,5		
Progesterone_4 without		1	0,61	0,39	0,5		
Progesterone_1 with E2	nmol/l	2	0,71	0,45	0,6	NS	NS
Progesterone_2 with E2		2	0,67	0,43	0,6		NS
Progesterone_3 with E2		2	0,76	0,52	0,7		NS
Progesterone_4 with E2		2	1,59	3,12	0,6		NS
Progesterone_1 tibolone	nmol/l	3	0,74	0,44	0,6	NS	
Progesterone_2 tibolone		3	0,61	0,28	0,5		
Progesterone_3 tibolone		3	0,63	0,40	0,55		
Progesterone_4 tibolone		3	0,73	0,49	0,6		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p<0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p<0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolone.

Tabulka 10. Hormonální parametry u podskupin podle způsobu substituce

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
LH_1 without	IU/l	1	22,3	15,3	20,5	VS, p<0,01	
LH_2 without		1	40,2	17,1	46,0		
LH_3 without		1	34,5	17,2	35,6		
LH_4 without		1	37,0	14,7	37,0		
LH_1 with E2	IU/l	2	20,1	14,5	17,0	NS	NS
LH_2 with E2		2	29,4	14,0	27,6		NS
LH_3 with E2		2	26,4	12,3	23,8		NS
LH_4 with E2		2	27,1	13,3	27,5		NS
LH_1 tibolone	IU/l	3	26,5	14,0	27,6	NS	
LH_2 tibolone		3	33,2	8,8	32,4		
LH_3 tibolone		3	33,6	9,78	31,4		
LH_4 tibolone		3	31,5	11,9	30,7		
FSH_1 without	IU/l	1	55,5	33,5	41,1	VS, p<0,01	
FSH_2 without		1	89,5	43,3	93,8		
FSH_3 without		1	90,4	46,3	89,3		
FSH_4 without		1	93,5	45,5	91,7		
FSH_1 with E2	IU/l	2	35,1	23,3	31,0	S, p=0,011	NS
FSH_2 with E2		2	35,6	23,3	31,0		VS 1-2, 1-3, p<0,01
FSH_3 with E2		2	46,4	22,8	40,5		VS 1-2, 1-3, p<0,01
FSH_4 with E2		2	44,0	23,5	40,8		VS 1-2, 1-3, p<0,01
FSH_1 tibolone	IU/l	3	51,3	25,1	56,7	NS	
FSH_2 tibolone		3	48,0	24,5	45,8		
FSH_3 tibolone		3	56,8	15,0	55,4		
FSH_4 tibolone		3	55,1	18,1	52,0		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině p<0,05; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti p< 0,01; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogyeny, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 11. Hormonální parametry u podskupin podle způsobu substituce

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Testosteron_1 without	nmol/l	1	4,3	17,8	0,76	NS	
Testosteron_2 without		1	0,98	0,38	0,95		
Testosteron_3 without		1	0,83	0,31	0,77		
Testosteron_4 without		1	0,84	0,34	0,77		
Testosteron_1 withE2	nmol/l	2	0,84	0,43	0,81	NS	NS
Testosteron_2 withE2		2	0,83	0,55	0,74		NS
Testosteron_3 withE2		2	0,81	0,52	0,71		NS
Testosteron_4 withE2		2	0,84	0,43	0,81		NS
Testosteron_1 tibolone	nmol/l	3	0,93	0,31	0,82	NS	
Testosteron_2 tibolone		3	0,74	0,35	0,64		
Testosteron_3 tibolone		3	0,71	0,26	0,83		
Testosteron_4 tibolone		3	0,59	0,32	0,56		
DHEAS_1 without	μmol/l	1	2,24	1,88	1,65	NS	
DHEAS_2 without		1	2,13	1,03	2,04		
DHEAS_3 without		1	2,52	1,5	2,0		
DHEAS_4 without		1	2,37	1,37	2,1		
DHEAS_1 with E2	μmol/l	2	2,59	1,56	2,16	NS	NS
DHEAS_2 with E2		2	2,69	1,51	2,33		S, 1-3, p=0,049
DHEAS_3 with E2		2	2,64	1,37	2,43		NS
DHEAS_4 with E2		2	2,89	1,7	2,67		VS, 1-3, p<0,01
DHEAS_1 tibolone	μmol/l	3	2,98	1,28	3,44	S, p=0,013	
DHEAS_2 tibolone		3	3,4	1,22	3,6		
DHEAS_3 tibolone		3	3,34	1,76	2,9		
DHEAS_4 tibolone		3	4,24	1,89	4,3		
SHBG_1 without	nmol/l	1	76,6	36,7	71,0	VS, p<0,01	
SHBG_2 without		1	62,4	28,2	51,0		
SHBG_3 without		1	55,4	26,5	48		
SHBG_4 without		1	56,2	27,3	47		
SHBG_1 with E2	nmol/l	2	86,5	50,4	72	NS	NS
SHBG_2 with E2		2	74,1	44,7	68		S2-3, p=0,02
SHBG_3 with E2		2	90,1	47,2	97,0		VS 2-3, 1-2, p<0,01
SHBG_4 with E2		2	93,4	44,8	99		VS 2-3, 1-2, p<0,01
SHBG_1 tibolone	nmol/l	3	79,0	59,4	59	VS, p<0,01	
SHBG_2 tibolone		3	37,8	27,1	33		
SHBG_3 tibolone		3	37,6	16,8	34		
SHBG_4 tibolone		3	32,0	9,61	30		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogeny, tibolone (3)– léčba tibolone.

Tabulka 12. Hormonální parametry u podskupin podle způsobu substituce

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Volný test _1 without	ng/l	1	1,3	1,1	1,1	NS	
Volný test _2 without		1	1,8	1	1,9		
Volný test _3 without		1	1,6	1,1	1,4		
Volný test _4 without		1	1,7	1,1	1,5		
Volný test _1 withE2	ng/l	2	1,4	1,1	1,3	NS	NS
Volný test _2 withE2		2	1,41	1,3	1		NS
Volný test _3 withE2		2	1,3	1,2	0,9		S 2-3, 1-2, p=0,02
Volný test _4 withE2		2	1,23	1,1	0,8		S2-3, p=0,04
Volný test _1 tibolone	ng/l	3	1,4	0,9	1,1	NS	
Volný test _2 tibolone		3	2,4	1,8	2,4		
Volný test _3 tibolone		3	2,6	1,5	2,6		
Volný test _4 tibolone		3	2,4	1,2	2,1		
PTH _1 without	ng/l	1	41,8	24,7	39	S, p=0,02	
PTH _2 without		1	42,8	39,7	31,0		
PTH _3 without		1	33,7	21,3	28,0		
PTH _4 without		1	24,1	6,0	25,0		
PTH _1 with E2	ng/l	2	40,6	33,8	27,0	S, P=0,04	NS
PTH _2 with E2		2	43,7	28,3	32,0		NS
PTH _3 with E2		2	31,5	19,1	31,0		NS
PTH _4 with E2		2	27,8	11,8	26		NS
PTH _1 tibolone	ng/l	3	55,1	41,6	43,0	S, p=0,04	
PTH _2 tibolone		3	29,4	10,9	29,0		
PTH _3 tibolone		3	24,1	12,0	20,5		
PTH _4 tibolone		3	23,9	6,7	24,5		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogeny, tibolone (3)– léčba tibolone.

Tabulka 13. Biochemické ukazatele u podskupin podle způsobu substituce

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Kreatinin_1 without	μmol/l	1	73,3	32,5	71,0	NS	
Kreatinin_2 without		1	75,1	9,3	74,0		
Kreatinin_3 without		1	76,24	6,62	76		
Kreatinin_4 without		1	75,2	8,2	76,2		
Kreatinin_1 with E2	μmol/l	2	70,8	14,9	74,0	NS	NS
Kreatinin_2 with E2		2	76,7	8,3	75,5		NS
Kreatinin_3 with E2		2	75,9	6,7	75,5		NS
Kreatinin_4 with E2		2	77	7,1	76,0		NS
Kreatinin_1 tibolone	μmol/l	3	74,4	13,9	75	NS	
Kreatinin_2 tibolone		3	76,8	11,7	78,0		
Kreatinin_3 tibolone		3	67,95	24,3	74,5		
Kreatinin_4 tibolone		3	70,2	18,4	71,0		
BMI_1 without	l	1	26,9	3,6	26,8	NS	
BMI_2 without		1	27,2	3,8	26,8		
BMI_3 without		1	26,3	3,6	25,4		
BMI_4 without		1	26,0	4,1	27,1		
BMI_1 with E2	l	2	27,7	7,9	25,1	NS	NS
BMI_2 with E2		2	26,1	4,9	24,5		NS
BMI_3 with E2		2	26,5	5,1	25,6		NS
BMI_4 with E2		2	27,6	6,6	27,8		NS
BMI_1 tibolone	l	3	26,6	3,9	25,4	NS	
BMI_2 tibolone		3	27,3	3,4	25,8		
BMI_3 tibolone		3	26,6	3,7	27,0		
BMI_4 tibolone		3	26,6	4,2	26,0		
CRP_1 without	mg/l	1	6,1	2,8	5,4	VS, p<0,01	
CRP_2 without		1	6,1	2,5	5,4		
CRP_3 without		1	3,4	1,7	3		
CRP_4 without		1	3,1	1	3		
CRP_1 with E2	mg/l	2	6,4	2,5	6,5	VS, p<0,01	NS
CRP_2 with E2		2	6,2	2,6	6,4		NS
CRP_3 with E2		2	3,9	2,4	3		NS
CRP_4 with E2		2	3,5	1,9	2,9		NS
CRP_1 tibolone	mg/l	3	5,84	3,0	5,1	VS, p=0.02	
CRP_2 tibolone		3	5,7	2,9	5		
CRP_3 tibolone		3	2,5	0,6	2,3		
CRP_4 tibolone		3	2,99	0,38	2,95		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 14. Lipoproteinové ukazatele u podskupin podle způsobu substituce

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Cholesterol _1 without	mmol/l	1	5,2	0,96	5,3	S, p=0,03	
Cholesterol _2 without		1	5,5	0,8	5,4		
Cholesterol _3 without		1	5,8	1,0	6,0		
Cholesterol _4 without		1	5,9	1,2	5,7		
Cholesterol _1 with E2	mmol/l	2	5,23	0,82	5,1	VS, p<0,01	NS
Cholesterol _2 with E2		2	5,77	1,1	5,6		NS
Cholesterol _3 with E2		2	5,99	0,93	5,9		NS
Cholesterol _4 with E2		2	5,8	1,2	5,7		NS
Cholesterol _1 tibolone	mmol/l	3	5,3	0,6	5,6	NS	
Cholesterol _2 tibolone		3	5,4	0,41	5,6		
Cholesterol _3 tibolone		3	6,0	0,8	5,9		
Cholesterol _4 tibolone		3	5,7	0,4	5,8		
HDL cholesterol _1 without	mmol/l	1	1,29	0,35	1,28	VS, p<0,01	
HDL cholesterol _2 without		1	1,28	0,3	1,29		
HDL cholesterol _3 without		1	1,7	0,32	1,6		
HDL cholesterol _4 without		1	1,7	0,4	1,7		
HDL cholesterol _1 with E2	mmol/l	2	1,3	0,44	1,2	VS, p<0,01	NS
HDL cholesterol _2 with E2		2	1,25	0,4	1,3		NS
HDL cholesterol _3 with E2		2	1,47	0,25	1,4		NS
HDL cholesterol _4 with E2		2	1,6	0,33	1,55		NS
HDL cholesterol _1 tibolone	mmol/l	3	1,4	0,34	1,4	NS	
HDL cholesterol _1 tibolone		3	1,38	0,3	1,41		
HDL cholesterol _1 tibolone		3	1,53	0,18	1,52		
HDL cholesterol _1 tibolone		3	1,52	0,18	1,49		
Triglycerides _1 without	mmol/l	1	1,5	0,5	1,4	NS	
Triglycerides _2 without		1	1,43	0,71	1,23		
Triglycerides _3 without		1	1,45	0,59	1,57		
Triglycerides _4 without		1	1,58	0,97	1,51		
Triglycerides _1 with E2	mmol/l	2	1,6	0,46	1,4	VS, p<0,01	NS
Triglycerides _2 with E2		2	1,32	0,55	1,23		NS
Triglycerides _3 with E2		2	1,48	0,63	1,29		NS
Triglycerides _4 with E2		2	1,12	0,32	1,16		NS
Triglycerides _1 tibolone	mmol/l	3	1,83	1,0	1,23	S, p=0,02	
Triglycerides _2 tibolone		3	1,4	0,7	1,4		
Triglycerides _3 tibolone		3	1,57	0,63	1,57		
Triglycerides _4 tibolone		3	1,38	0,84	1,16		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 15. Biochemické ukazatele u podskupin podle způsobu substituce

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Albumin _1 without	g/l	1	40,0	3,4	39,9	VS, p<0,01	
Albumin _2 without		1	44,1	3,5	44,7		
Albumin _3 without		1	44,3	2,4	44,5		
Albumin _4 without		1	44,1	2,7	43,8		
Albumin _1 with E2	g/l	2	40,5	2,5	40,5	VS, p<0,01	NS
Albumin _2 with E2		2	44,0	2,8	43,7		NS
Albumin _3 with E2		2	44,4	3,7	45,4		NS
Albumin _4 with E2		2	43,1	3,1	42,2		NS
Albumin _1 tibolone	g/l	3	40,7	4,6	41	NS	
Albumin _2 tibolone		3	45,8	2,1	46		
Albumin _3 tibolone		3	45,7	2,5	46,2		
Albumin _4 tibolone		3	44,7	2,1	45,9		
ALT _1 without	μkat/l	1	0,41	0,37	0,34	NS	
ALT _2 without		1	0,5	0,43	0,38		
ALT _3 without		1	0,52	0,54	0,33		
ALT _4 without		1	0,52	0,36	0,41		
ALT _1 with E2	μkat/l	2	0,35	0,2	0,29	NS	NS
ALT _2 with E2		2	0,41	0,33	0,29		NS
ALT _3 with E2		2	0,36	0,1	0,33		NS
ALT _4 with E2		2	0,37	0,16	0,31		NS
ALT _1 tibolone	μkat/l	3	0,53	0,28	0,5	NS	
ALT _2 tibolone		3	0,44	0,16	0,38		
ALT _3 tibolone		3	0,76	0,84	0,53		
ALT _4 tibolone		3	0,39	0,11	0,33		
AST _1 without	μkat/l	1	0,34	0,13	0,33	NS	
AST _2 without		1	0,43	0,18	0,39		
AST _3 without		1	0,42	0,24	0,36		
AST _4 without		1	0,44	0,15	0,42		
AST _1 with E2	μkat/l	2	0,35	0,11	0,33	NS	NS
AST _2 with E2		2	0,39	0,18	0,34		NS
AST _3 with E2		2	0,37	0,11	0,34		NS
AST _4 with E2		2	0,37	0,08	0,35		NS
AST _1 tibolone	μkat/l	3	0,36	0,08	0,35	NS	
AST _2 tibolone		3	0,43	0,17	0,44		
AST _3 tibolone		3	0,45	0,15	0,43		
AST _4 tibolone		3	0,41	0,05	0,42		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině p<0,05; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti p< 0,01; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogeny, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 16. Biochemické ukazatele u podskupin podle hormonální substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
GMT _1 without	μkat/l	1	0,62	0,60	0,38	NS	
GMT _2 without		1	0,60	0,60	0,33		
GMT _3 without		1	0,74	0,72	0,37		
GMT _4 without		1	0,80	1,12	0,41		
GMT _1 with E2	μkat/l	2	0,46	0,39	0,30	NS	NS
GMT _2 with E2		2	0,44	0,35	0,35		NS
GMT _3 with E2		2	0,51	0,64	0,31		NS
GMT _4 with E2		2	0,49	0,65	0,26		NS
GMT _1 tibolone	μkat/l	3	0,51	0,26	0,45	NS	
GMT _2 tibolone		3	0,99	1,25	0,46		
GMT _3 tibolone		3	0,59	0,31	0,62		
GMT _4 tibolone		3	0,53	0,29	0,46		
Ca _1 without	mmol/l	1	2,29	0,12	2,29	NS	
Ca _2 without		1	2,41	0,10	2,43		
Ca _3 without		1	2,44	0,10	2,44		
Ca _4 without		1	2,46	0,2	2,44		
Ca _1 with E2	mmol/l	2	2,30	0,08	2,29	VS, p<0,01	NS
Ca _2 with E2		2	2,48	0,61	2,34		NS
Ca _3 with E2		2	2,40	0,11	2,37		NS
Ca _4 with E2		2	2,40	0,08	2,41		NS
Ca _1 tibolone	mmol/l	3	2,34	0,16	2,30	NS	
Ca _2 tibolone		3	2,45	0,05	2,46		
Ca _3 tibolone		3	2,48	0,06	2,49		
Ca _4 tibolone		3	2,40	0,1	2,44		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolone.

Tabulka 17. Biochemické ukazatele u podskupin podle způsobu substituce

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
P_1 without	mmol/l	1	1,18	0,17	1,17	NS	
P_2 without		1	1,24	0,17	1,18		
P_3 without		1	1,29	0,17	1,27		
P_4 without		1	1,26	0,19	1,28		
P_1 with E2	mmol/l	2	1,14	0,17	1,15	NS	NS
P_2 with E2		2	1,10	0,14	1,06		S, 1-2, p=0,03
P_3 with E2		2	1,05	0,13	1,05		VS, 1-2, 1-3, p<0,01
P_4 with E2		2	1,08	0,18	1,06		VS, 1-2, 1-3, p<0,01
P_1 tibolone	mmol/l	3	1,25	0,14	1,28	VS, p<0,01	
P_2 tibolone		3	1,11	0,21	1,12		
P_3 tibolone		3	1,15	0,18	1,10		
P_4 tibolone		3	1,06	0,15	1,05		
Mg_1 without	mmol/l	1	0,85	0,12	0,84	NS	
Mg_2 without		1	0,85	0,07	0,84		
Mg_3 without		1	0,85	0,09	0,86		
Mg_4 without		1	0,85	0,09	0,85		
Mg_1 with E2	mmol/l	2	0,82	0,14	0,81	NS	NS
Mg_2 with E2		2	0,85	0,06	0,84		S, 1-3, 2-3, p=0,03
Mg_3 with E2		2	0,87	0,08	0,85		NS
Mg_4 with E2		2	1,05	0,82	0,87		NS
Mg_1 tibolone	mmol/l	3	1,04	0,68	0,80	NS	
Mg_2 tibolone		3	0,79	0,04	0,78		
Mg_3 tibolone		3	0,86	0,08	0,87		
Mg_4 tibolone		3	0,89	0,08	0,87		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogeny, tibolone (3)– léčba tibolonom.

Tabulka 18. Biochemické ukazatele u podskupin podle hormonální substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
GLUKÓZA _1 without	mmol/l	1	5,58	0,83	5,37	VS, p<0,01	
GLUKÓZA _2 without		1	5,04	0,77	4,94		
GLUKÓZA _3 without		1	5,16	2,04	4,59		
GLUKÓZA _4 without		1	4,73	1,24	4,96		
GLUKÓZA _1 with E2	mmol/l	2	5,45	0,96	5,20	VS, p<0,01	NS
GLUKÓZA _2 with E2		2	4,76	0,63	4,84		NS
GLUKÓZA _3 with E2		2	4,62	0,57	4,73		NS
GLUKÓZA _4 with E2		2	4,74	0,57	4,54		NS
GLUKÓZA _1 tibolone	mmol/l	3	5,08	0,35	5,13	S, p=0,02	
GLUKÓZA _2 tibolone		3	4,37	0,46	4,29		
GLUKÓZA _3 tibolone		3	4,49	0,45	4,59		
GLUKÓZA _4 tibolone		3	4,66	0,43	4,60		
HbA1c _1 without	%	1	3,16	0,96	3,00	VS, p<0,01	
HbA1c _2 without		1	3,30	0,81	3,40		
HbA1c _3 without		1	3,54	0,59	3,50		
HbA1c _4 without		1	3,78	0,47	3,70		
HbA1c _1 with E2	%	2	3,17	0,90	3,15	S, p=0,03	NS
HbA1c _2 with E2		2	3,13	0,90	3,00		NS
HbA1c _3 with E2		2	3,40	0,56	3,50		NS
HbA1c _4 with E2		2	3,61	0,60	3,60		NS
HbA1c _1 tibolone	%	3	3,03	0,46	3,00	NS	
HbA1c _2 tibolone		3	2,83	0,86	2,80		
HbA1c _3 tibolone		3	3,54	0,32	3,50		
HbA1c _4 tibolone		3	3,41	0,97	3,70		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině p<0,05; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti p< 0,01; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substituční: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolone.

Tabulka 19. Laboratorní ukazatele u podskupin podle hormonální substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
LEUKOCYTY _1 without	109/l	1	9,56	2,93	9,10	VS, p<0,01	
LEUKOCYTY _2 without		1	6,13	1,64	5,80		
LEUKOCYTY _3 without		1	6,25	1,69	6,20		
LEUKOCYTY _4 without		1	6,05	1,35	5,60		
LEUKOCYTY _1 with E2	109/l	2	9,71	2,32	9,60	VS, p<0,01	NS
LEUKOCYTY _2 with E2		2	5,87	2,06	5,80		NS
LEUKOCYTY _3 with E2		2	6,09	1,53	5,60		NS
LEUKOCYTY _4 with E2		2	5,61	1,32	5,55		NS
LEUKOCYTY _1 tibolone	109/l	3	8,90	2,83	8,30	VS, p<0,01	
LEUKOCYTY _2 tibolone		3	5,51	1,25	5,00		
LEUKOCYTY _3 tibolone		3	5,73	1,33	5,25		
LEUKOCYTY _4 tibolone		3	5,44	0,87	5,80		
Hemoglobin _1 without	g/l	1	110,78	16,02	109,00	VS, p<0,01	
Hemoglobin _2 without		1	132,63	11,92	132,00		
Hemoglobin _3 without		1	134,65	6,43	134,00		
Hemoglobin _4 without		1	138,25	5,13	136,50		
Hemoglobin _1 with E2	g/l	2	113,18	13,73	111,00	VS, p<0,01	NS
Hemoglobin _2 with E2		2	131,00	9,34	131,00		NS
Hemoglobin _3 with E2		2	133,78	10,09	136,50		NS
Hemoglobin _4 with E2		2	132,44	9,16	133,00		NS
Hemoglobin _1 tibolone	g/l	3	111,82	17,79	109,00	S, p=0,01	
Hemoglobin _2 tibolone		3	132,56	9,32	131,00		
Hemoglobin _3 tibolone		3	138,40	6,33	139,00		
Hemoglobin _4 tibolone		3	135,22	7,81	135,00		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p<0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p<0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substituční: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolone.

Tabulka 20. Laboratorní ukazatele u podskupin podle hormonální substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
TROMBOCYTY _1 without	109/l	1	256,89	97,01	226,00	NS	
TROMBOCYTY _2 without		1	256,63	64,48	253,00		
TROMBOCYTY _3 without		1	249,88	62,59	243,00		
TROMBOCYTY _4 without		1	253,56	82,64	224,50		
TROMBOCYTY _1 with E2	109/l	2	275,95	55,90	276,00	NS	NS
TROMBOCYTY _2 with E2		2	249,05	59,44	242,50		NS
TROMBOCYTY _3 with E2		2	249,61	64,69	241,00		NS
TROMBOCYTY _4 with E2		2	259,72	53,25	266,50		NS
TROMBOCYTY _1 tibolone	109/l	3	300,44	28,81	312,00	NS	
TROMBOCYTY _2 tibolone		3	292,55	95,87	256,00		
TROMBOCYTY _3 tibolone		3	292,60	51,99	274,00		
TROMBOCYTY _4 tibolone		3	301,44	47,63	310,00		
Osteokalcin _1 without	µg/l	1	4,56	2,26	3,70	S, p=0,02	
Osteokalcin _2 without		1	6,14	2,80	6,70		
Osteokalcin _3 without		1	6,24	3,21	5,40		
Osteokalcin _4 without		1	7,56	4,00	7,45		
Osteokalcin _1 with E2	µg/l	2	4,74	3,03	4,20	S, p=0,01	NS
Osteokalcin _2 with E2		2	4,42	3,11	4,30		NS
Osteokalcin _3 with E2		2	3,89	3,10	3,15		VS, 1-2, 2-3, p<0,01
Osteokalcin _4 with E2		2	3,26	1,80	3,05		VS, 1-2, 2-3, p<0,01
Osteokalcin _1 tibolone	µg/l	3	4,29	2,20	4,10	NS	
Osteokalcin _2 tibolone		3	4,23	2,04	3,70		
Osteokalcin _3 tibolone		3	2,84	1,16	2,85		
Osteokalcin _4 tibolone		3	2,53	1,23	2,00		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 21. Laboratorní ukazatele u podskupin podle hormonální substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
INSULIN _1 without		1	8,40	5,9	6,80	NS	
INSULIN _2 without		1	8,82	6,73	6,30		
INSULIN _3 without		1	9,51	5,90	8,60		
INSULIN _4 without		1	10,62	7,88	6,95		
INSULIN _1 with E2		2	10,12	9,62	6,90	NS	NS
INSULIN _2 with E2		2	7,46	6,27	5,50		NS
INSULIN _3 with E2		2	7,79	6,46	5,75		NS
INSULIN _4 with E2		2	8,19	6,81	7,05		NS
INSULIN _1 tibolone	L	3	8,76	4,87	6,85	NS	
INSULIN _2 tibolone		3	12,64	14,34	7,90		
INSULIN _3 tibolone		3	9,59	3,94	9,95		
INSULIN _4 tibolone		3	7,50	5,56	6,00		
K.močová _1 without	mmol/l	1	219,89	72,07	210,00	VS, p<0,01	
K.močová _2 without		1	250,90	75,60	242,00		
K.močová _3 without		1	275,82	65,08	276,00		
K.močová _4 without		1	281,88	69,09	284,50		
K.močová _1 with E2	mmol/l	2	247,00	88,31	240,00	S, p=0,02	NS
K.močová _2 with E2		2	279,57	64,56	256,00		NS
K.močová _3 with E2		2	278,33	65,31	282,0		NS
K.močová _4 with E2		2	266,50	68,71	263,50		NS
K.močová _1 tibolone	mmol/l	3	218,27	67,27	206,00	S, p=0,02	
K.močová _2 tibolone		3	254,56	71,16	241,00		
K.močová _3 tibolone		3	303,70	56,98	297,00		
K.močová _4 tibolone		3	308,2	41,29	293,00		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tab. 22. Kostní denzita vyjádřená jako T skóre dle způsobu substituce

Parametr	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
L T skóre before without	T skóre	1	0,59	1,72	0,47		
L T skóre after (9th month) without		1	0,18	1,68	0,32	NS	
L T skóre before with E2		2	0,08	1,2	0,15		
L T skóre after (9th month) with E2		2	-0,11	1,1	-0,09	NS	
L T skóre before tibolone		3	-0,7	0,7	-0,6		NS
L T skóre after (9th month) tibolone		3	-1,0	0,87	-0,71	NS	NS
Femur T skóre before without		1	-0,4	1,1	-0,3		
Femur T skóre after (9th month) with without		1	-0,34	1,2	-0,57	NS	
Femur T skóre before without with E2		2	-0,58	1,2	-0,7		NS
Femur T skóre after (9th month) with E2		2	-0,58	1,02	-0,65	NS	NS
Femur T skóre before without tibolone		3	-0,29	1,1	-0,31		
Femur T skóre after (9th month) tibolone		3	-0,48	0,8	-0,32	NS	
Ward T skóre before without		1	-0,85	1,53	-1,23		
Ward T skóre after (9th month)		1	-0,87	1,5	-1,2	NS	
Ward T skóre before with E2		2	-1,26	1,26	-1,31		NS
Ward T skóre after (9th month)k with E2		2	-1,27	1,27	-1,57	NS	NS
Ward T skóre before without tibolone		3	-1,03	1,34	-1,2		
Ward T skóre after (9th month) tibolone		3	-1,12	0,74	-1,2	NS	

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolonem, Before – před operačním výkonem, After – 9 měsíců po operační kastraci.

Koncentrace adiponektinu v séru u pacientek po chirurgicky indukované menopauze (6)

Koncentrace adiponektinu v séru během sledovaného období a jejich vzájemné souvislosti jsou vyjádřeny v Tab. 23.

Souvislosti při vstupním vyšetření:

U skupiny A byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi adiponektinu a HDL cholesterolu, FSH, LH a negativní souvislosti s hodnotami BMI, FGF-21, chemerinu, ALT, insulinu, LDL cholesterolu, TAG, glykémie, fosfatémie, GMT, HbA1c a leukocytů (tab. 24).

Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi adiponektinem a FSH, LH a negativní korelace s ALT, BMI, GMT, chemerinem, fosfatemí, magnesiemi, TAG i počtem leukocytů.

U kontrolní skupiny byly zjištěny pouze negativní souvislosti mezi hodnotami adiponektinu a insulinu, triglyceridů a magnezia v séru (tab. 25).

Změny a souvislosti během 3 měsíců: hodnoty adiponektinu se během sledovaného období významně neměnily ani nebyl zaznamenán vliv různých způsobů substituce na hodnoty adiponektinu (tab. 23).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi adiponektinu a HDL i PTH a negativní korelace s ALT, estradiolem, HbA1c, insulinem, kyselinou močovou, kostní denzitou, TAG a fosforem (tab. 26). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi adiponektinem a HDL a negativní korelace s kostní denzitou vyjádřenou jako T skóre, HbA1c, insulinem a TAG.

Změny a souvislosti během 6 měsíců: hodnoty adiponektinu se během sledovaného období významně neměnily ani nebyl zaznamenán vliv různých způsobů substituce na hodnoty adiponektinu (tab. 23).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi adiponektinu a SHBG a PTH a negativní korelace s HbA1c, LDL, insulinem a fosforem (tab. 27). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi adiponektinem a PTH a negativní korelace s HbA1c, LDL i fosfatemí.

Změny a souvislosti během 9 měsíců: hodnoty adiponektinu se během sledovaného období významně neměnily ani nebyl zaznamenán vliv různých způsobů substituce na hodnoty adiponektinu (tab. 23).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi adiponektinu a SHBG i OPG a negativní korelace s kostní denzitou na femuru vyjádřenou jako T skóre, BMI, HbA1c, TAG, insulinem, GMT, leukocyty a fosforem (tab. 28). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii negativní signifikantní souvislosti mezi adiponektinem a hodnotou kostní denzity v oblasti femuru vyjádřenou jako T skóre.

Vztah koncentrace adiponektinu a kostní denzity: basálně nebyl zjištěn vztah mezi adiponektinem a hodnotami kostní denzity. Na konci sledovaného období byla zjištěna negativní souvislost mezi adiponektinem a kostní denzitou na femuru vyjádřenou jako T skóre. Po devíti-měsíční substituci byly zjištěny pozitivní souvislosti mezi adiponektinem a OPG a negativní korelace s hodnotou fosforu v séru (tab. 28).

Vztah koncentrace adiponektinu a dalších laboratorních ukazatelů kardiiovaskulárních komplikací: jak bylo uvedeno výše, byl prokázán negativní vztah mezi adiponektinem a řadou kardiiovaskulárních rizikových parametrů typických pro metabolický syndrom (tab. č. 24), který se na konci sledovaného období významně neměnil (tab. č.28).

Při využití ROC analýzy lze říci, že adiponektin nebyl po menopauze dostatečně diagnosticky efektivní pro přítomnost metabolického syndromu (AUC 0,73; 95 % interval spolehlivosti 0,6-0,84). Následně byla provedena logistická kroková regrese, která potvrdila, že u žen po menopauze přítomnost metabolického syndromu nesouvisela přímo s koncentrací adiponektinu, který nebyl do modelu zahrnut. To potvrdil i fakt, že po adjustaci adiponektinu na věk a BMI schopnost diferenciacie přítomnosti metabolického syndromu pomocí stanovení adiponektinu nebyla možná.

Tabulka 23. Adiponektin v $\mu\text{g/l}$ u sledovaných osob po operační kastraci dle typu substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Adiponectin _1 without	$\mu\text{g/l}$	1	14,4	9,6	12,9	NS	
Adiponectin _2 without		1	22,7	19,6	16,8		
Adiponectin _3 without		1	19,9	14,6	13,3		
Adiponectin _4 without		1	17,9	8,2	19,2		
Adiponectin _1 with E2	$\mu\text{g/l}$	2	14,3	6,7	14,9	NS	NS
Adiponectin _2 with E2		2	20,7	20,1	14,5		NS
Adiponectin _3 with E2		2	18,7	11,8	16,7		NS
Adiponectin _4 with E2		2	15,5	6,7	14,0		NS
Adiponectin _1 tibolone	$\mu\text{g/l}$	3	22,0	18,4	12,48	NS	
Adiponectin _2 tibolone		3	32,0	25,1	19,1		
Adiponectin _3 tibolone		3	16,3	8,9	13,7		
Adiponectin _4 tibolone		3	21,6	20,8	11,5		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 24. Vztahy mezi koncentrací adiponektinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 5 dnech po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Adiponectin	Adiponectin_2	0,65	<0,01
Adiponectin	Adiponectin_3	0,43	<0,01
Adiponectin	Adiponectin_4	0,57	<0,01
Adiponectin	ALT_1	-0,29	0,027
Adiponectin	BMI_1	-0,24	0,049
Adiponectin	FGF-21_1	-0,25	0,049
Adiponectin	FGF-21_2	-0,33	0,02
Adiponectin	FSH_1	0,3	0,02
Adiponectin	Glukóza_2	-0,33	0,023
Adiponectin	GMT_1	-0,41	<0,01
Adiponectin	GMT_2	-0,37	0,01
Adiponectin	GMT_4	-0,34	0,026
Adiponectin	HbA1c_1	-0,33	<0,01
Adiponectin	HbA1c_3	-0,21	0,049
Adiponectin	HDL_1	0,41	<0,01
Adiponectin	Chemerin_1	-0,25	0,049
Adiponectin	Cholesterol_3	-0,32	0,03
Adiponectin	Cholesterol_4	-0,38	0,01
Adiponectin	Insulin_2	-0,34	0,02
Adiponectin	LDL_3	-0,36	0,02
Adiponectin	Leukocyty_1	-0,43	<0,01
Adiponectin	LH_1	0,25	0,049
Adiponectin	P_1	-0,37	<0,01
Adiponectin	P_2	-0,28	0,048
Adiponectin	P_3	-0,3	0,047
Adiponectin	P_4	-0,34	0,03
Adiponectin	Trg_1	-0,39	<0,01
Adiponectin	Trg_2	-0,36	0,02
Adiponectin	Trg_4	-0,35	0,02
Adiponectin	Magnesium_1	-0,23	0,046

Tabulka 25. Vztahy mezi koncentrací adiponektinu v séru a dalšími sledovanými parametry u kontrolní skupiny

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Adiponektin	Insulin	-0,64	0,035
Adiponektin	Magnesium	-0,6	0,047
Adiponektin	TAG	-0,58	0,048
Adiponektin	FGF-21	-0,3	0,044

Tabulka 26. Vztahy mezi koncentrací adiponektinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 3 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Adiponectin	Adiponectin_1	0,65	<0,01
Adiponectin	Adiponectin_3	0,5	<0,01
Adiponectin	Adiponectin_4	0,59	<0,01
Adiponectin	ALT_4	-0,35	0,029
Adiponectin	E2_1	-0,29	0,04
Adiponectin	Femur T skóre_2	-0,42	0,015
Adiponectin	HbA1c_2	-0,28	0,049
Adiponectin	HbA1c_3	-0,3	0,046
Adiponectin	HDL_2	0,32	0,028
Adiponectin	Insulin_2	-0,26	0,048
Adiponectin	Kys. močová_2	-0,33	0,02
Adiponectin	P_1	-0,38	<0,01
Adiponectin	P_3	-0,35	0,027
Adiponectin	P_4	-0,37	0,02
Adiponectin	PTH_1	0,33	0,022
Adiponectin	Trg_1	-0,34	0,02
Adiponectin	Trg_2	-0,36	0,02
Adiponectin	Trg_4	-0,32	0,047

Tabulka 27. Vztahy mezi koncentrací adiponektinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 6 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Adiponectin	Adiponectin_1	0,43	<0,01
Adiponectin	Adiponectin_2	0,5	<0,01
Adiponectin	Adiponectin_4	0,57	<0,01
Adiponectin	HbA1c_2	-0,38	0,013
Adiponectin	HbA1c_3	-0,59	<0,01
Adiponectin	HbA1c_4	-0,36	0,024
Adiponectin	LDL_3	-0,42	<0,01
Adiponectin	Insulin_2	-0,38	0,015
Adiponectin	SHBG_2	0,31	0,04
Adiponectin	P_3	-0,3	0,048
Adiponectin	PTH_1	0,4	<0,01
Adiponectin	PTH_3	0,33	0,031

Tabulka 28. Vztahy mezi koncentrací adiponektinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 9 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
Adiponectin	Adiponectin_1	0,57	<0,01
Adiponectin	Adiponectin_2	0,59	<0,01
Adiponectin	Adiponectin_3	0,57	<0,01
Adiponectin	HbA1c_2	-0,45	0,01
Adiponectin	HbA1c_3	-0,48	<0,01
Adiponectin	Leukocyty_1	-0,39	0,02
Adiponectin	OPG_3	0,4	0,02
Adiponectin	Insulin_2	-0,5	<0,01
Adiponectin	SHBG_1	0,33	0,049
Adiponectin	P_1	-0,47	<0,01
Adiponectin	Trg_1	-0,35	0,039
Adiponectin	BMI_1	-0,36	0,03
Adiponectin	Femur T skore_1	-0,41	0,021
Adiponectin	Femur T skore_2	-0,38	0,037
Adiponectin	GMT_1	-0,34	0,044

Koncentrace A-FABP v séru pacientek po chirurgicky indukované menopauze (7)

Koncentrace A-FABP v séru během sledovaného období a jejich vzájemné souvislosti jsou vyjádřeny v tab. 29.

Souvislosti při vstupním vyšetření :

U skupiny A byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi A-FABP a ALT, AST, BMI, CRP, volného testosteronu, glukózy, GMT, Hb, HbA1c, cholesterolu, insulínu, glykemií, kyseliny močové, LDL, leukocytů, leptinu, OPG, triglyceridů i věku a negativní souvislosti s hodnotami SHBG (tab. 30). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi AFABP a BMI, ALT, volným testosteronem, GMT, Hb, HbA1c, insulínem, kyselinou močovou, LDL, leptinem, TAG, estradiolem i věkem a negativní souvislosti s SHBG.

U kontrolní skupiny byly zjištěny pozitivní korelace pouze mezi A-FABP a BMI, glykemií, HbA1c a LDL (tab. č. 31).

Změny a souvislosti během 3 měsíců: hodnoty A-FABP se během sledovaného období významně neměnily ani nebyl zaznamenán vliv substituce (tab. 29).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi A-FABP a leptinem, ALT, BMI, triglyceridů, volným testosteronem, FGF-21, estradiolem, HbA1c, insulinem, glykemií, kyseliny močové, OPG, PTH a negativní korelace s SHBG (tab. 32). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4) potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi AFABP a ALT, BMI, E2, FGF-21, volným testosteronem, insulinem, kyselinou močovou, leptinem a TAG.

Změny a souvislosti během 6 měsíců: hodnoty A-FABP se během sledovaného období významně neměnily ani nebyl zaznamenán vliv substituce (tab. 29).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi A-FABP a leptinu, BMI, celkovým i volným testosteronem, hemoglobinem, insulinem, OPG a negativní korelace s progesteronem (tab. 33). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi AFABP a BMI, insulinem a leptinem.

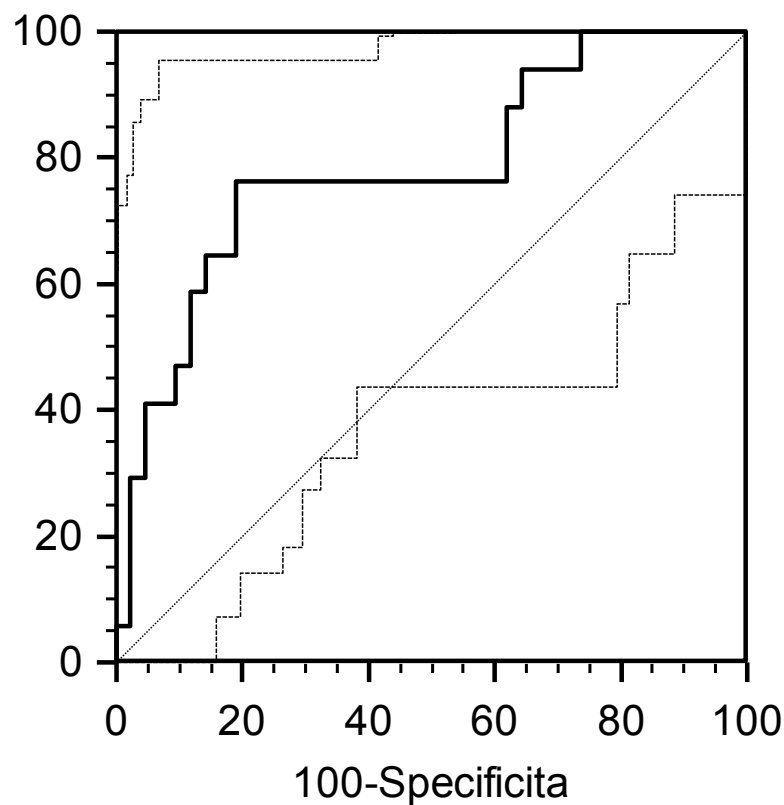
Změny a souvislosti během 9 měsíců: hodnoty A-FABP se během sledovaného období od jeho počátku významně neměnily, nicméně pacientky se substitucí estrogenu měly významně nižší koncentrace A-FABP než osoby bez substituce, což lze považovat za benefiční (tab. 29). Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi A-FABP, ALT, FGF-21, cholesterolem, LDL cholesterolem, hemoglobinem, leukocyty, HbA1c, OPG i TAG a negativní korelace s koncentrací hořčičku v krvi (tab. 34). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4) potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi AFABP a ALT, FGF-21, Hb, OPG, TAG a počtem leukocytů.

Vztah koncentrace A-FABP a kostní denzity: nebyly zjištěny souvislosti mezi koncentracemi A-FABP a hodnotami kostní denzity.

Po devíti-měsíční substituci nebyly zjištěny souvislosti mezi A-FABP, ukazateli minerálního metabolismu, osteokalcinu a PTH. Byly pouze zjištěny pozitivní souvislosti s OPG (tab.32). Během tohoto krátkého období také nebyl pozorován efekt podávané substituční terapie na hodnoty kostní denzity (tab. 20).

Vztah koncentrace A-FABP a dalších laboratorních ukazatelů kardiovaskulárních komplikací:

jak bylo uvedeno výše, byl prokázán vztah mezi a-FABP a řadou kardiovaskulárních rizikových parametrů typických pro metabolický syndrom (tab. 30), který se na konci sledovaného období významně neměnil (tab. 34). Při využití ROC analýzy lze říci, že A-FABP byl i po menopauze dostatečně diagnosticky efektivní pro přítomnost metabolického syndromu (obr. 7). Následně byla provedena logistická kroková regrese, ze které vyplynulo, že koncentrace A-FABP nebyla do modelu pro predikci zahrnuta. To potvrdil i fakt, že po adjustaci A-FABP na věk a BMI schopnost diferenciacie přítomnosti metabolického syndromu pomocí stanovení A-FABP vymizela. Zdá se tedy, že u žen po menopauze není vztah mezi FGF-21 a metabolickým syndromem nezávislý.



Obrázek 7. ROC pro vztah A-FABP a přítomnost metabolického syndromu v časně menopauze (5.den), cut-off 34,7 ug/l, senzivita 76,5%, specifčnost 81%, LR+ 4, NPV- 89,5%, AUC 0,78; 95% interval spolehlivosti 0,66-0,88).

Tabulka 29. AFABP v séru v $\mu\text{g/l}$ u sledovaných osob po operační kastraci dle typu substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
A-FABP _1 without	$\mu\text{g/l}$	1	37,32	22,92	27,42	NS	
A-FABP _2 without		1	39,07	17,99	35,06		
A-FABP _3 without		1	39,93	19,80	37,56		
A-FABP _4 without		1	44,91	24,30	41,40		
A-FABP _1 with E2	$\mu\text{g/l}$	2	31,25	14,78	25,42	NS	NS
A-FABP _2 with E2		2	35,94	15,91	32,55		NS
A-FABP _3 with E2		2	28,96	14,41	25,67		NS
A-FABP _4 with E2		2	25,61	10,77	24,52		S, 1-2, p=0,028
A-FABP _1 tibolone	$\mu\text{g/l}$	3	36,40	17,61	32,75	NS	
A-FABP _2 tibolone		3	34,01	11,60	35,80		
A-FABP _3 tibolone		3	28,21	15,16	24,01		
A-FABP _4 tibolone		3	32,54	19,48	29,70		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolonem,

Tabulka 30. Vztahy mezi koncentrací A-FABP v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 5 dnech po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
A-FABP	A-FABP_2	0,71	<0,01
A-FABP	A-FABP_3	0,59	<0,01
A-FABP	A-FABP_4	0,6	<0,01
A-FABP	ALT_1	0,34	<0,01
A-FABP	ALT_2	0,38	<0,01
A-FABP	ALT_3	0,53	<0,01
A-FABP	ALT_4	0,47	<0,01
A-FABP	AST_2	0,29	0,048
A-FABP	AST_3	0,33	0,031
A-FABP	BMI_1	0,51	<0,01
A-FABP	BMI_2	0,49	<0,01
A-FABP	BMI_3	0,42	<0,01
A-FABP	BMI_4	0,45	<0,01
A-FABP	CRP_3	0,37	0,014
A-FABP	Free testosteron_1	0,55	<0,01
A-FABP	Free testosteron_2	0,29	0,04
A-FABP	Free testosteron_3	0,32	0,03
A-FABP	Glukóza_4	0,3	0,049
A-FABP	GMT_1	0,28	0,03

A-FABP	GMT_4	0,47	<0,01
A-FABP	Hb_1	0,35	<0,01
A-FABP	Hb_2	0,3	0,03
A-FABP	Hb_3	0,42	<0,01
A-FABP	Hb_4	0,35	0,023
A-FABP	HbA1c_1	0,4	<0,01
A-FABP	HbA1c_3	0,3	0,048
A-FABP	HbA1c_4	0,32	0,04
A-FABP	cholesterol_3	0,33	0,03
A-FABP	Insulin_1	0,45	<0,01
A-FABP	Insulin_2	0,49	<0,01
A-FABP	Insulin_3	0,56	<0,01
A-FABP	Insulin_4	0,36	0,019
A-FABP	Kys.močová_1	0,38	<0,01
A-FABP	Kys.močová_4	0,35	<0,01
A-FABP	LDL_1	0,35	<0,01
A-FABP	LDL_3	0,31	0,04
A-FABP	Leukocyty_2	0,028	0,042
A-FABP	Leukocyty_4	0,4	<0,01
A-FABP	Leptin_1	0,6	<0,01
A-FABP	Leptin_2	0,48	<0,01
A-FABP	Leptin_3	0,5	<0,01
A-FABP	Leptin_4	0,49	<0,01
A-FABP	OPG_4	0,44	<0,01
A-FABP	SHBG_1	-0,44	<0,01
A-FABP	SHBG_2	-0,28	0,049
A-FABP	SHBG_3	-0,3	0,048
A-FABP	SHBG_4	-0,44	<0,01
A-FABP	Trg_1	0,26	0,043
A-FABP	Trg_2	0,42	<0,01
A-FABP	Trg_3	0,34	0,025
A-FABP	Trg_4	0,38	0,01
A-FABP	Věk	0,28	0,035
A-FABP	E2_1	0,43	<0,01

Tabulka 31. Vztahy mezi koncentrací A-FABP v séru a dalšími sledovanými parametry u kontrolní skupiny

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
A-FABP	BMI	0,88	< 0,01
A-FABP	Glukóza	0,72	0,01
A-FABP	HbA1c	0,71	0,02
A-FABP	LDL	0,73	0,02

Tabulka 32. Vztahy mezi koncentrací A-FABP v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 3 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
A-FABP	A-FABP_1	0,71	<0,01
A-FABP	A-FABP_3	0,66	<0,01
A-FABP	A-FABP_4	0,46	<0,01
A-FABP	ALT_1	0,39	<0,01
A-FABP	ALT_2	0,36	<0,01
A-FABP	ALT_3	0,42	<0,01
A-FABP	ALT_4	0,34	0,04
A-FABP	BMI_1	0,59	<0,01
A-FABP	BMI_2	0,55	<0,01
A-FABP	BMI_3	0,57	<0,01
A-FABP	BMI_4	0,51	<0,01
A-FABP	E2_4	0,45	<0,01
A-FABP	FGF-21_1	0,38	0,01
A-FABP	FGF-21_2	0,37	0,01
A-FABP	Free testosteron_1	0,55	<0,01
A-FABP	Free testosteron_2	0,31	0,03
A-FABP	Glukóza_1	0,42	<0,01
A-FABP	GMT_1	0,36	0,01
A-FABP	GMT_4	0,36	0,03
A-FABP	HbA1c_1	0,43	<0,01
A-FABP	Insulin_1	0,55	<0,01
A-FABP	Insulin_2	0,42	<0,01
A-FABP	Insulin_3	0,58	<0,01
A-FABP	Insulin_4	0,35	0,03
A-FABP	Kys.močová_1	0,40	<0,01
A-FABP	Kys.močová_2	0,30	0,038
A-FABP	Leptin_1	0,69	<0,01
A-FABP	Leptin_2	0,65	<0,01
A-FABP	Leptin_3	0,64	<0,01
A-FABP	Leptin_4	0,66	<0,01
A-FABP	OPG_1	0,35	0,016

A-FABP	SHBG_1	-0,51	<0,01
A-FABP	SHBG_3	-0,37	0,02
A-FABP	SHBG_4	-0,37	0,02
A-FABP	Trg_2	0,32	0,027
A-FABP	Trg_3	0,31	0,04
A-FABP	Trg_4	0,34	0,04

Tabulka 33. Vztahy mezi koncentrací A-FABP v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 6 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
A-FABP	A-FABP_1	0,59	<0,01
A-FABP	A-FABP_2	0,66	<0,01
A-FABP	A-FABP_4	0,77	<0,01
A-FABP	BMI_1	0,45	<0,01
A-FABP	BMI_2	0,44	<0,01
A-FABP	BMI_3	0,47	<0,01
A-FABP	BMI_4	0,51	<0,01
A-FABP	Free testosteron_1	0,41	<0,01
A-FABP	Free testosteron_2	0,39	0,01
A-FABP	Hb_2	0,38	0,01
A-FABP	Insulin_1	0,36	0,02
A-FABP	Insulin_2	0,36	0,02
A-FABP	Insulin_3	0,41	<0,01
A-FABP	Insulin_4	0,34	0,04
A-FABP	Leptin_1	0,63	<0,01
A-FABP	Leptin_2	0,6	<0,01
A-FABP	Leptin_3	0,55	<0,01
A-FABP	Leptin_4	0,51	<0,01
A-FABP	OPG_1	0,45	<0,01
A-FABP	OPG_4	0,35	0,04
A-FABP	Progesteron_4	-0,35	0,03
A-FABP	Testosteron_2	0,41	<0,01

Tabulka 34. Vztahy mezi koncentrací A-FABP v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 9 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
A-FABP	A-FABP_1	0,6	<0,01
A-FABP	A-FABP_2	0,46	<0,01
A-FABP	A-FABP_3	0,77	<0,01
A-FABP	ALT_3	0,38	0,03
A-FABP	ALT_4	0,36	0,03
A-FABP	FGF-21_4	0,34	0,04
A-FABP	Cholesterol_2	0,47	0,01
A-FABP	Hb_2	0,44	0,01
A-FABP	Hb_3	0,38	0,028
A-FABP	Hb_4	0,56	<0,01
A-FABP	HbA1c_1	0,32	0,049
A-FABP	Leukocyty_3	0,37	0,03
A-FABP	Leukocyty_4	0,34	0,04

A-FABP	LDL_1	0,37	0,03
A-FABP	LDL_2	0,41	0,021
A-FABP	Leptin_1	0,45	<0,01
A-FABP	Mg_3	-0,36	0,047
A-FABP	OPG_1	0,37	0,01
A-FABP	OPG_4	0,45	<0,01
A-FABP	Trg_2	0,36	0,44
A-FABP	Trg_4	0,4	0,016

Koncentrace FGF-21 v séru pacientek po chirurgicky indukované menopauze (8)

Koncentrace FGF-21 v séru během sledovaného období a jejich vzájemné souvislosti jsou vyjádřeny v Tab. 35.

Souvislosti při vstupním vyšetření :

U skupiny A byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi FGF-21 a A-FABP, Glukózy, GMT, Chemerinu, triglyceridů a negativní s HDL a kalcémií (tab. 36).

Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi FGF-21 a glykemií a negativní souvislosti s HDL, kalcémií i adiponektinem. U kontrolní skupiny byly zjištěny pozitivní korelace pouze mezi FGF-21 a A-FABP, triglyceridů, glukózy a negativní s HDL i adiponektinem (tab. 37).

Změny a souvislosti během 3 měsíců: hodnoty FGF-21 se během sledovaného období významně neměnily (tab. 35).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi FGF-21 a A-FABP, BMI, CRP, glykemií, HbA1c, TAG i chemerinem a negativní korelace s HDL, adiponektinem i SHBG (tab. 38). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4) potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi FGF-21 a BMI, A-FABP, glykemií a TAG.

Změny a souvislosti během 6 měsíců: hodnoty FGF-21 se během sledovaného období významně neměnily (tab. 35).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi FGF-21 a chemerinem, cholesterolem i TAG a negativní hodnotou kalcia v séru (tab. 39).

Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4) potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi FGF-21 a cholesterolem i TAG.

Změny a souvislosti během 9 měsíců: hodnoty FGF-21 se během sledovaného období významně neměnily (tab. 35).

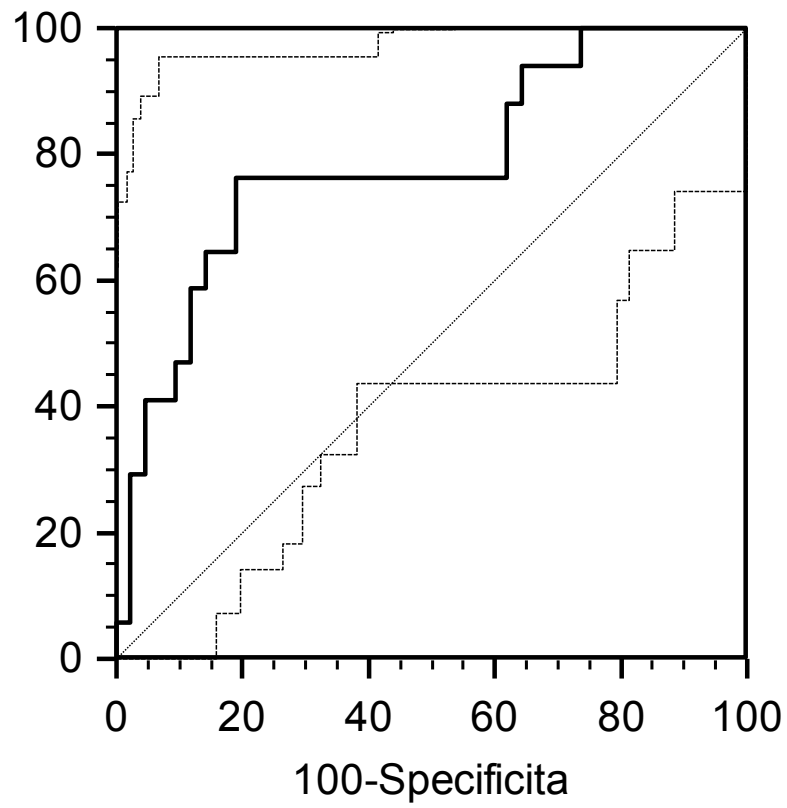
Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi mezi koncentracemi FGF-21 a A-FABP, ALT, testosteronem, GMT, OPG, PTH a TAG (tab. č. 40). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry_1, _2, _3, _4) potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi FGF-21 a GMT.

Vztah koncentrace FGF-21 a kostní denzity: basálně byl zjištěn vztah mezi FGF-21 a hodnotami kostní denzity (tab. 36).

Po devíti-měsíční substituci nebyly zjištěny souvislosti mezi FGF-21, ukazateli minerálního metabolismu, osteokalcinu; vyjma PTH a OPG (tab. č.40). Během tohoto krátkého období také nebyl pozorován efekt podávané substituční terapie na hodnoty kostní denzity (tab. 20).

Vztah koncentrace FGF-21 a dalších laboratorních ukazatelů kardiovaskulárních komplikací: jak bylo uvedeno výše, byl prokázán vztah mezi FGF-21 a řadou kardiovaskulárních rizikových parametrů typických pro metabolický syndrom (tab. č. 36), který se na konci sledovaného období významně neměnil (tab. č.40).

Při využití ROC analýzy lze říci, že FGF-21 nebyl po menopauze dostatečně diagnosticky efektivní pro přítomnost metabolického syndromu (AUC 0,63, 95% interval spolehlivosti 0,49-0,76). Následně byla provedena logistická kroková regrese, ze které vyplynulo, že koncentrace FGF-21 nebyla do modelu pro predikci zahrnuta. Zdá se tedy, že u žen po menopauze není vztah mezi FGF-21 a metabolickým syndromem nezávislý.



Obrázek 7. ROC pro vztah A-FABP a přítomnost metabolického syndromu v časně menopauze (5.den), cut-off 34,7 ug/l, senzivita 76,5%, specifičnost 81%, LR+ 4, NPV- 89,5%, AUC 0,78; 95% interval spolehlivosti 0,66-0,88).

Tabulka 35. FGF-21 v $\mu\text{g/l}$ u sledovaných osob po operační kastraci dle typu substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
FGF-21 _1 without	$\mu\text{g/l}$	1	224,0	190,8	150,9	NS	
FGF-21 _2 without		1	210,4	173,0	208,6		
FGF-21 _3 without		1	139,5	129,7	131,9		
FGF-21 _4 without		1	182,9	171,2	205,8		
FGF-21 _1 with E2	$\mu\text{g/l}$	2	230,9	226,0	223,1	NS	NS
FGF-21 _2 with E2		2	266,4	414,4	112,2		NS
FGF-21 _3 with E2		2	415,5	1083,6	105,7		NS
FGF-21 _4 with E2		2	142,4	164,1	47,3		NS
FGF-21 _1 tibolone	$\mu\text{g/l}$	3	303,3	216,1	12,48 229,5	NS	
FGF-21 _2 tibolone		3	216,3	216,1	142,5		
FGF-21 _3 tibolone		3	165,6	173,7	117,8		
FGF-21 _4 tibolone		3	504,6	1081,6	190,4		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogeny, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 36. Vztahy mezi koncentrací FGF-21 v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 5 dnech po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
FGF-21	A-FABP_2	0,38	0,01
FGF-21	Ca_1	-0,38	<0,01
FGF-21	FGF-21_2	0,69	<0,01
FGF-21	FGF-21_3	0,38	0,02
FGF-21	FGF-21_4	0,46	<0,01
FGF-21	Glukóza_1	0,36	<0,01
FGF-21	GMT_1	0,28	0,04
FGF-21	GMT_4	0,35	0,03
FGF-21	HDL_1	-0,34	0,01
FGF-21	Chemerin_3	0,34	0,036
FGF-21	Trg_2	0,33	0,03
FGF-21	Trg_3	0,41	<0,01
FGF-21	Adiponectin_1	-0,25	0,049

Tabulka 37. Vztahy mezi koncentrací FGF-21 v séru a dalšími sledovanými parametry u kontrolní skupiny

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
FGF-21	A-FABP	0,4	0,01
FGF-21	TAG	0,42	0,01
FGF-21	Glukóza	0,38	0,03
FGF-21	HDL	-0,3	0,01
FGF-21	Adiponectin	-0,3	0,044

Tabulka 38. Vztahy mezi koncentrací FGF-21 v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 3 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
FGF-21	Adiponectin_1	-0,34	0,02
FGF-21	A-FABP_1	0,31	0,03
FGF-21	A-FABP_2	0,37	0,01
FGF-21	BMI_1	0,28	0,049
FGF-21	CRP_2	0,33	0,02
FGF-21	FGF-21_1	0,69	<0,01
FGF-21	FGF-21_3	0,64	<0,01
FGF-21	FGF-21_4	0,46	<0,01
FGF-21	Glukóza_1	0,3	0,04
FGF-21	HbA1c_1	0,3	0,04
FGF-21	HDL_1	-0,35	0,02
FGF-21	Chemerin_1	0,3	0,048
FGF-21	SHBG_1	-0,35	0,016
FGF-21	Trg_1	0,38	0,01
FGF-21	Trg_2	0,41	0,01
FGF-21	Trg_3	0,45	<0,01
FGF-21	Trg_4	0,37	<0,02

Tabulka 39. Vztahy mezi koncentrací FGF-21 v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 6 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
FGF-21	Ca_1	-0,32	0,036
FGF-21	Cholesterol_3	0,34	0,03
FGF-21	Chemerin_3	0,31	0,043
FGF-21	FGF-21_1	0,38	0,019
FGF-21	FGF-21_2	0,64	<0,01
FGF-21	FGF-21_4	0,53	<0,01
FGF-21	Trg_2	0,43	<0,01
FGF-21	Trg_3	0,37	0,02

Tabulka 40. Vztahy mezi koncentrací FGF-21 v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 9 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
FGF-21	A-FABP_1	0,41	<0,01
FGF-21	ALT_3	0,34	0,038
FGF-21	FGF-21_1	0,46	<0,01
FGF-21	FGF-21_2	0,45	<0,01
FGF-21	FGF-21_3	0,53	<0,01
FGF-21	GMT_1	0,41	<0,01
FGF-21	GMT_2	0,45	<0,01
FGF-21	GMT_3	0,44	<0,01
FGF-21	GMT_4	0,54	<0,01
FGF-21	OPG_2	0,35	0,034
FGF-21	PTH_2	0,35	0,034
FGF-21	Testosteron_1	0,4	0,01
FGF-21	Trg_3	0,35	0,029

Koncentrace chemerinu v séru pacientek po chirurgicky indukované menopauze (9)

Koncentrace chemerinu v séru během sledovaného období a jejich vzájemné souvislosti jsou vyjádřeny v Tab. č. 41.

Souvislosti při vstupním vyšetření :

U skupiny A byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi chemerinu a BMI, FGF-21, GMT, OPG, P a triglyceridů a negativní souvislosti s hodnotou adiponektinu a testosteronu (tab. č. 42). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi chemerinem a ALT, GMT, P, TAG a negativní souvislosti s adiponektinem.

U kontrolní skupiny byly zjištěny pozitivní korelace pouze mezi chemerinem a TAG, OPG, FGF-21 a GMT a negativní s hodnotou adiponektinu (tab. 43).

Změny a souvislosti během 3 měsíců: hodnoty chemerinu se během sledovaného období významně neměnily (tab. 41).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi chemerinu a BMI, GMT, HbA1c, insulinu, leptinu i počet trombocytů a negativní korelace s SHBG (tab. 44). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi chemerinem a BMI, GMT, insulinem a počtem trombocytů.

Změny a souvislosti během 6 měsíců: hodnoty chemerinu se během sledovaného období od jeho počátku významně neměnily (tab. 41).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi chemerinu a leptinu, BMI, triglyceridů, FGF-21, GMT, HbA1c, insulinem, kostní denzitou na femuru a negativní korelace s LH i SHBG (tab. 45). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi chemerinem a BMI, FGF-21, hodnotou T skore na femuru, insulinem, leptinem a TAG.

Změny a souvislosti během 9 měsíců: hodnoty chemerinu se během sledovaného období od jeho počátku významně neměnily (tab. 41).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi chemerinu a BMI, leptinem, insulinem, HbA1c, GMT, TAG i počtem leukocytů (tab. 46). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi chemerinem a BMI, insulinem, počtem leukocytů a TAG.

Vztah koncentrace chemerinu a kostní denzity: basálně nebyl zjištěn vztah mezi chemerinem a hodnotami kostní denzity. Za zajímavé považujeme zjištěnou souvislosti mezi chemerinem a hodnotami T skore v oblasti femuru za 9 měsíců po operaci; jiné souvislosti mezi chemerinem a kostní denzitou hodnocenou jako T skore nebyly zaznamenány. (tab. 41- 46).

Během tohoto krátkého období také nebyl pozorován efekt podávané substituční terapie na hodnoty kostní denzity (tab. 20).

Vztah koncentrace chemerinu a dalších laboratorních ukazatelů kardiovaskulárních komplikací: jak bylo uvedeno výše, byl prokázán vztah mezi chemerinem a řadou kardiovaskulárních rizikových parametrů typických pro metabolický syndrom (tab. 42), který se na konci sledovaného období významně neměnil (tab. 46).

Při využití ROC analýzy lze říci, že chemerin nebyl po menopauze dostatečně diagnosticky efektivní pro přítomnost metabolického syndromu (AUC 0,55; 95 % interval spolehlivosti 0,42-0,68). Následně byla provedena logistická kroková regrese, ze které vyplynulo, že koncentrace chemerinu nebyl do modelu pro predikci zahrnut. Zdá se tedy, že u žen po menopauze není vztah mezi chemerinem a metabolickým syndromem nezávislý.

Tabulka 41. Chemerin v séru v $\mu\text{g/l}$ u sledovaných osob po operační kastraci dle typu substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Chemerin _1 without	$\mu\text{g/l}$	1	205,0	39,9	201,4	NS	
Chemerin _2 without		1	186,7	40,7	190,3		
Chemerin _3 without		1	183,4	46,6	176,4		
Chemerin _4 without		1	202,0	52,5	193,5		
Chemerin _1 with E2	$\mu\text{g/l}$	2	202,5	47,0	191,0	NS	NS
Chemerin _2 with E2		2	180,6	38,4	170,0		NS
Chemerin _3 with E2		2	194,8	38,2	193,9		NS
Chemerin _4 with E2		2	188,8	34,9	182,5		NS
Chemerin _1 tibolone	$\mu\text{g/l}$	3	197,7	31	209	NS	
Chemerin _2 tibolone		3	205,4	41,7	225,5		
Chemerin _3 tibolone		3	198,3	36,4	209,7		
Chemerin _4 tibolone		3	190,5	31,2	195,2		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogény, tibolone (3)– léčba tibolonem.

Tabulka 42. Vztahy mezi koncentrací chemerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 5 dnech po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
CHEMERIN	Adiponectin_1	-0,25	0,049
CHEMERIN	ALT_1	0,26	0,049
CHEMERIN	FGF-21_2	0,3	0,048
CHEMERIN	GMT_1	0,29	0,03
CHEMERIN	Chemerin_2	0,48	<0,01
CHEMERIN	Chemerin_3	0,36	0,02
CHEMERIN	Chemerin_4	0,37	0,02
CHEMERIN	OPG_2	0,35	0,034
CHEMERIN	P_1	0,29	0,025
CHEMERIN	Testosteron_3	-0,386	0,01
CHEMERIN	Testosteron_4	-0,42	0,01
CHEMERIN	Trg_1	0,26	0,048

Tabulka 43. Vztahy mezi koncentrací chemerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u kontrolní skupiny

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
CHEMERIN	Adiponectin	-0,3	0,04
CHEMERIN	TAG	0,3	0,03
CHEMERIN	OPG	0,36	0,03
CHEMERIN	FGF-21	0,31	0,02
CHEMERIN	GMT	0,36	0,044
CHEMERIN	BMI	0,4	<0,01

Tabulka 44. Vztahy mezi koncentrací chemerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 3 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
CHEMERIN	BMI_2	0,37	0,01
CHEMERIN	BMI_3	0,37	0,01
CHEMERIN	BMI_4	0,53	<0,01
CHEMERIN	GMT_1	0,31	0,03
CHEMERIN	GMT_2	0,32	0,03
CHEMERIN	HbA1c_1	0,56	<0,01
CHEMERIN	Chemerin_1	0,48	<0,01
CHEMERIN	Chemerin_3	0,63	<0,01
CHEMERIN	Chemerin_4	0,63	<0,01
CHEMERIN	Insulin_2	0,32	0,03
CHEMERIN	Insulin_4	0,34	0,04
CHEMERIN	Leptin_1	0,32	0,03
CHEMERIN	Leptin_3	0,41	<0,01
CHEMERIN	Leptin_4	0,54	<0,01
CHEMERIN	SHBG_3	-0,38	0,015
CHEMERIN	SHBG_4	-0,47	<0,01
CHEMERIN	Trombocyty_2	0,29	0,025
CHEMERIN	Trombocyty_3	0,3	0,049
CHEMERIN	Trombocyty_4	0,4	0,01

Tabulka 45. Vztahy mezi koncentrací chemerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 6 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
CHEMERIN	BMI_1	0,38	0,01
CHEMERIN	BMI_2	0,36	0,02
CHEMERIN	BMI_3	0,46	<0,01
CHEMERIN	BMI_4	0,46	<0,01
CHEMERIN	Femur T skore_1	0,32	0,037
CHEMERIN	Femur T skore_2	0,44	0,044
CHEMERIN	FGF-21_1	0,34	0,036
CHEMERIN	FGF-21_3	0,31	0,04
CHEMERIN	GMT_2	0,32	0,043
CHEMERIN	HbA1c	0,38	0,02
CHEMERIN	Insulin_2	0,32	0,04
CHEMERIN	Insulin_3	0,46	<0,01
CHEMERIN	Insulin_4	0,38	0,024
CHEMERIN	LH_2	-0,32	0,048
CHEMERIN	Leptin_2	0,32	0,044
CHEMERIN	Leptin_3	0,46	<0,01
CHEMERIN	Leptin_4	0,38	0,027
CHEMERIN	SHBG_2	-0,33	0,038
CHEMERIN	Trg_2	0,37	0,02
CHEMERIN	Trg_3	0,5	<0,01
CHEMERIN	Chemerin_1	0,36	0,021
CHEMERIN	Chemerin_2	0,63	<0,01
CHEMERIN	Chemerin_4	0,71	<0,01

Tabulka 46. Vztahy mezi koncentrací chemerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 9 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
CHEMERIN	BMI_1	0,34	0,03
CHEMERIN	BMI_3	0,37	0,02
CHEMERIN	BMI_4	0,48	0,015
CHEMERIN	GMT_1	0,32	0,043
CHEMERIN	HbA1c	0,34	0,028
CHEMERIN	Insulin_3	0,36	0,024
CHEMERIN	Insulin_4	0,38	0,017
CHEMERIN	Leukocyty_3	0,41	0,01
CHEMERIN	Leukocyty_4	0,39	0,01
CHEMERIN	Leptin_1	0,352	0,026
CHEMERIN	Leptin_2	0,4	0,015
CHEMERIN	Leptin_3	0,46	<0,01
CHEMERIN	Trg_2	0,36	0,027
CHEMERIN	Trg_3	0,48	<0,01
CHEMERIN	Trg_4	0,43	<0,01
CHEMERIN	Chemerin_1	0,37	0,02
CHEMERIN	Chemerin_2	0,63	<0,01
CHEMERIN	Chemerin_3	0,71	<0,01

Koncentrace osteoprotegerinu v séru pacientek po chirurgicky indukované menopauze (7)

Koncentrace OPG v séru během sledovaného období a jejich vzájemné souvislosti jsou vyjádřeny v tab. 47.

Souvislosti při vstupním vyšetření:

U skupiny A byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi OPG a leptinem, A-FABP, ALT, AST, CRP, volným testosteronem, GMT, Hb, HbA1c, insulinem, kyselinou močovou, TAG i počtem leukocytů a negativní souvislosti s SHBG (tab. 48). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi OPG a Hb, HbA1c, kyselinou močovou a leptinem.

U kontrolní skupiny byly zjištěny pozitivní korelace pouze mezi OPG a A-FABP, TAG, leptinem, insulinem a BMI (tab. 49).

Změny a souvislosti během 3 měsíců: hodnoty OPG se během sledovaného období významně neměnily (tab. 47).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi OPG a Ca, FGF-21, FSH, osteokalcinem, P a testosteronem a negativní souvislost s estradiolem (tab. 50). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4) potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi OPG a sérovou hodnotou kalcia i testosteronu.

Změny a souvislosti během 6 měsíců: hodnoty OPG se během sledovaného období od jeho počátku významně neměnily (tab.č. 47).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi OPG a adiponektinem, osteokalcinem i věkem, a negativní korelace s leptinem, insulinem, BMI, estradiolem, HbA1c (tab. č. 51). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4) potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi OPG a věkem a paradoxně negativní souvislosti s BMI, HbA1c a estradiolem.

Změny a souvislosti během 9 měsíců: hodnoty OPG se během sledovaného období od jeho počátku významně neměnily (tab. 47).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi A-FABP, ALT, cholesterolem, LDL, ALT a LH (tab. 52). Pokud byly sledovány pouze vztahy mezi parametry sledovanými ve stejném období (tedy pouze mezi parametry _1, _2, _3, _4), potom byly nalezeny v této sérii pozitivní signifikantní souvislosti mezi OPG A-FABP, ALT, LDL a LH.

Vztah koncentrace OPG a kostní denzity: nebyl zjištěn vztah mezi OPG a hodnotami kostní denzity. Po devíti-měsíční substituci nebyly zjištěny souvislosti mezi OPG, ukazateli minerálního metabolismu, osteokalcinu, PTH, nicméně v průběhu sledování byly nalezeny souvislosti mezi OPG a osteokalcinem a kalcie, které však na konci studie již nebyly významné (tab. 52). Během tohoto krátkého období také nebyl pozorován efekt podávané substituční terapie na hodnoty kostní denzity (tab. 20).

Vztah koncentrace OPG a dalších laboratorních ukazatelů kardiovaskulárních komplikací:

jak bylo uvedeno výše, byl prokázán vztah mezi OPG a řadou kardiovaskulárních rizikových parametrů typických pro metabolický syndrom (tab. 48), který se však během doby sledování překvapivě zcela změnil a na konci sledovaného období byl vyjádřen podstatně méně (tab. 52).

Při využití ROC analýzy lze říci, že OPG nebyl po menopauze dostatečně diagnosticky efektivní pro přítomnost metabolického syndromu (AUC 0,67; 95% interval spolehlivosti 0,53-0,78). Následně byla provedena logistická kroková regrese, ze které vyplynulo, že koncentrace OPG nebyla do modelu pro predikci zahrnuta. Zdá se tedy, že u žen po menopauze není vztah mezi OPG a metabolickým syndromem nezávislý.

Tabulka 47. Osteoprotegerin v pmol/l u sledovaných osob po operační kastraci dle typu substituční terapie

Ukazatel	Jednotka	Typ HRT	Průměr	SD	Median	RR	RRR
Osteoprotegerin _1 without	pmol/l	1	6,3	1,2	6,35	NS	
Osteoprotegerin _2 without		1	7,2	2,5	6,6		
Osteoprotegerin _3 without		1	6,3	1,3	6,4		
Osteoprotegerin _4 without		1	6,7	2,1	6,7		
Osteoprotegerin _1 with E2	pmol/l	2	6,3	1,2	6,4	NS	NS
Osteoprotegerin _2 with E2		2	5,9	1,54	5,73		NS
Osteoprotegerin _3 with E2		2	6,58	1,85	5,86		NS
Osteoprotegerin _4 with E2		2	5,59	0,88	5,51		NS
Osteoprotegerin _1 tibolone	pmol/l	3	7,7	2,1	6,55	NS	
Osteoprotegerin _2 tibolone		3	7,1	1,9	7,16		
Osteoprotegerin _3 tibolone		3	6,3	1,2	5,72		
Osteoprotegerin _4 tibolone		3	6,264	1,1	6,0		

NS – statisticky nesignifikantní S-statisticky významné na hladině $p < 0,05$; VS – statisticky vysoce signifikantní na hladině významnosti $p < 0,01$; SD – směrodatná odchylka; RR- rozdíly mezi následujícími (seriovými) náběry; RRR-rozdíly mezi skupinami podle terapie hormonální substitucí: Without (1) – bez hormonální léčby, with E2 (2)– léčba estrogeny, tibolone (3)– léčba tibolonem,

Tabulka 48. Vztahy mezi koncentrací osteoprotegerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 5 dnech po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
OSTEOPROTEGERIN	AFABP_2	0,35	0,016
OSTEOPROTEGERIN	AFABP_3	0,45	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	AFABP_4	0,37	0,037
OSTEOPROTEGERIN	ALT_2	0,39	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	AST_2	0,4	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	AST_4	0,4	0,01
OSTEOPROTEGERIN	CRP_3	0,32	0,04
OSTEOPROTEGERIN	Free testosteron_2	0,33	0,024
OSTEOPROTEGERIN	GMT_2	0,3	0,046
OSTEOPROTEGERIN	GMT_3	0,36	0,018
OSTEOPROTEGERIN	GMT_4	0,36	0,023
OSTEOPROTEGERIN	Hb_1	0,32	0,017
OSTEOPROTEGERIN	Hb A1c_1	0,4	0,01
OSTEOPROTEGERIN	Insulin_2	0,42	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	Insulin_3	0,52	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	Kys.močová_1	0,29	0,027
OSTEOPROTEGERIN	Kys.močová_4	0,33	0,036
OSTEOPROTEGERIN	Leukocyty_3	0,34	0,03
OSTEOPROTEGERIN	Leptin_1	0,27	0,039
OSTEOPROTEGERIN	Leptin_2	0,38	0,01
OSTEOPROTEGERIN	Leptin_3	0,35	0,02
OSTEOPROTEGERIN	OPG_4	0,45	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	SHBG_3	-0,38	0,01
OSTEOPROTEGERIN	Trg_2	0,5	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	Trg_4	0,5	<0,01

Tabulka 49. Vztahy mezi koncentrací osteoprotegerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u kontrolní skupiny

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
OSTEOPROTEGERIN	AFABP	0,35	0,02
OSTEOPROTEGERIN	TAG	0,43	0,02
OSTEOPROTEGERIN	Leptin	0,31	0,01
OSTEOPROTEGERIN	Insulin	0,48	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	BMI	0,3	0,048

Tabulka 50. Vztahy mezi koncentrací osteoprotegerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 3 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
OSTEOPROTEGERIN	Ca_2	0,31	0,03
OSTEOPROTEGERIN	E2_4	-0,4	0,01
OSTEOPROTEGERIN	FGF-21_4	0,34	0,034
OSTEOPROTEGERIN	FSH_3	0,33	0,032
OSTEOPROTEGERIN	FSH_4	0,39	0,01
OSTEOPROTEGERIN	OPG_3	0,39	0,014
OSTEOPROTEGERIN	Osteokalocin_4	0,35	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	P_2	0,31	0,03
OSTEOPROTEGERIN	Testosteron_2	0,3	0,038

Tabulka 51. Vztahy mezi koncentrací osteoprotegerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 6 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
OSTEOPROTEGERIN	Adiponectin_4	0,4	0,02
OSTEOPROTEGERIN	E2_4	-0,4	0,01
OSTEOPROTEGERIN	BMI_1	-0,35	0,024
OSTEOPROTEGERIN	BMI_2	-0,32	0,04
OSTEOPROTEGERIN	BMI_3	-0,35	0,03
OSTEOPROTEGERIN	E2_3	-0,3	0,04
OSTEOPROTEGERIN	HbA1c_3	-0,39	0,01
OSTEOPROTEGERIN	Insulin_2	-0,446	0,02
OSTEOPROTEGERIN	Leptin_2	-0,44	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	OPG_2	0,39	0,01
OSTEOPROTEGERIN	Osteokalcin_2	0,32	0,047
OSTEOPROTEGERIN	Osteokalcin_4	0,34	0,044
OSTEOPROTEGERIN	Věk	0,37	0,018

Tabulka 52. Vztahy mezi koncentrací osteoprotegerinu v séru a dalšími sledovanými parametry u skupiny A po 9 měsících po chirurgické kastraci

Parametr 1	Parametr 2	Korelační koeficient	Hladina významnosti p
OSTEOPROTEGERIN	AFABP_1	0,44	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	AFABP_3	0,34	0,04
OSTEOPROTEGERIN	AFABP_4	0,45	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	ALT_4	0,44	<0,01
OSTEOPROTEGERIN	cholesterol_1	0,36	0,02
OSTEOPROTEGERIN	cholesterol_2	0,36	0,03
OSTEOPROTEGERIN	LDL_1	0,35	0,04
OSTEOPROTEGERIN	LDL_2	0,32	0,042
OSTEOPROTEGERIN	LDL_3	0,31	0,043
OSTEOPROTEGERIN	LDL_4	0,32	0,048
OSTEOPROTEGERIN	LH_3	0,32	0,047
OSTEOPROTEGERIN	LH_4	0,33	0,049
OSTEOPROTEGERIN	OPG_1	0,45	<0,01

5 . Diskuse

V době přípravy disertační práce nebyl k dispozici žádný komerčně dostupný rutinní postup na stanovení koncentrace Angiopoietin- like proteinu 4, lipocalinu-2 v séru nebo chemerinu ELISA v krvi. Existovaly pouze možnosti stanovení exprese (např. pomocí PCR, Western blottingu, hybridizace in situ, ev. imunocytohistochemie). Opakovaným vyšetřením koncentrací adipokinů jsme si ověřili uspokojivé analytické charakteristiky diagnostické soupravy, které umožňovaly získávat robustní výsledky. Tato fakta byla později potvrzena využitím uvedených diagnostických souprav na řadě pracovišť v ČR i zahraničí a komercionalizací diagnostických souprav. **(1, 2, 3)**

Následující část diskuse je věnována informacím, které byly získány a ověřovány v klinických studiích v rámci disertační práce.

5.1 Vliv operační kastrace na hodnoty sexagenů

Chirurgickou indukci menopauzy dojde v organismu k odstranění endokrinologicky aktivní hormonální tkáň. To se projeví změnami poklesu koncentrace steroidních pohlavních hormonů. (Alexandris E et al. 1997; Muttukrishna S et al. 2002) Tyto pozorované změny byly potvrzeny také v této práci ve skupině I. (žen po chirurgické kastraci), kdy byl 5. pooperační den zaznamenán signifikantní pokles hladiny estradiolu. **(4)** Na rozdíl od přirozené menopauzy, kdy dochází k postupnému poklesu ovariální aktivity, který se začíná objevovat již několik let před menopauzou. (Burger HG et al. 2002), dojde po chirurgické kastraci k prudkému poklesu koncentrace estradiolu, která vykazuje strmý pokles do 6 hodin po oboustranné ovariectomii. (Muttukrishna S et al. 2002) Poloviční koncentrace estradiolu je dosaženo již po 60 minutách od operace. Po 6-ti hodinách od operace jsou již hodnoty estradiolu stabilní. To vysvětluje skutečnost, proč ve skupině II (pacientek v podskupině bez hormonální substituce po chirurgicky indukované menopauze) ve sledovaném období od 5. dne do 9. měsíce po operaci již změna koncentrace podskupině bez hormonální substituce pozorována nebyla. **(5-9)** V souladu s předchozími studiemi byl také zaznamenán pokles hladiny progesteronu. (Alexandris E et al. 1997; Muttukrishna S et al. 2002) Hodnoty progesteronu vykazují po kastraci také pokles, ale na rozdíl od estradiolu přetrvávají nejprve po dobu asi 6 hodin stabilní a až poté dochází k jejich poklesu. (Muttukrishna S et al. 2002) V důsledku chirurgické indukce dochází také ke změnám v koncentraci gonadotropinů.

Řada studií prokázala po chirurgické kastraci pokles inhibinu, estradiolu a progesteronu. (Alexandris E et al. 1997) Časně po odstranění ovárií dojde k poklesu hladiny inhibinů A a B, estradiolu a progesteronu, který vede ke zpětnovazebnému zvýšení syntézy FSH, LH a tím k vzestupu jejich koncentrace v séru. V souladu s předpokladem tak byl v souboru pacientek po kastraci zaznamenali signifikantní vzestup koncentrace LH a FSH. **(4-9)** I když k nárůstu koncentrace FSH dochází po kastraci jak ve folikulární a luteální fázi, v časném období po kastraci lze zpočátku pozorovat rozdílnou dynamiku hormonálních změn gonadotropinů a steroidních hormonů v závislosti na fázi menstruačního cyklu, kdy byl operační výkon proveden. Absolutní koncentrace FSH jsou vyšší, pokud je chirurgická kastrace provedena ve folikulární fázi cyklu, kdy je hypofýza citlivější vůči zpětnovazebnému mechanismu. Nárůst dynamiky LH je pomalejší, syntéza LH je méně citlivá vůči zpětnovazebnému mechanismu. (Muttukrishna S. et al. 2002). Hodnoty FSH při kastraci ve folikulární fázi zůstávaly stabilní do 6 hodin po kastraci, následně dochází k jejich progresivnímu navýšení (mezi 12.-24. hodinou po operaci dochází k jejich 2-násobnému zvýšení). Pokud byla oboustranná ovariectomie provedena v luteální fázi cyklu, vykazují sérové koncentrace estradiolu a progesteronu rapidní pokles ihned po operačním výkonu. (Muttukrishna S et al. 2002) Nárůst FSH byl zaznamenán po 6 hodinách a jeho hodnoty zůstávaly stabilní až do 24 hodin od operačního výkonu, pak následoval lineární nárůst až do konce sledovaného období, tedy do 3. pooperačního dne. (Muttukrishna S et al. 2002) Analogickou dynamiku růstu vykazovaly koncentrace LH. (Muttukrishna S et al. 2002) Rozdíl v dynamice růstu hodnot LH a také FSH se nejpozději 8. den po operaci vyrovná a hodnoty již dále rostou nezávisle na fázi cyklu, kdy byl operační výkon proveden. (Alexandris E et al. 1997)

V naší práci byla v souboru sledována dynamika změn hormonů v období od 5. dne do 9-ti měsíců, proto se zdá, že tato fáze cyklu, kdy byl výkon proveden již neměla vliv na shodnocení dynamiky nárůstu gonadotropinů. Po menopauze není zpětnovazebný mechanismus mezi ovárií a hypofýzou již funkční, což prokazuje i další studie, provedená u postmenopauzálních žen, u kterých byla provedena oboustranná ovariectomie, kdy se hodnoty LH, FSH ani estradiolu po operaci neměnily (Dafopoulos K et al. 2004) Po menopauze je absence zpětnovazebného mechanismu způsobena ovariální insuficiencí. Schopnost hypotalamo - hypofyzárního systému reagovat negativní či pozitivní zpětnou vazbou na podání exogenních estrogenů však zůstává zachována. (Gill S et al. 2002)

V rámci souboru A v podskupině užívající v rámci substituce estrogeny došlo během 9-ti měsíců vlivem užívání HRT k významnému vzestupu hodnot estradiolu. Došlo k nárůstu FSH, změny ale nebyly tak významné jako u osob bez substituce. Hodnoty LH se vlivem estrogení substituce neměnily. Charakter změn v hladinách gonadotropinů pozorovaný v podskupině užívající estradiol demonstruje závislost reakce sekrece gonadotropinů na dávce podaných estrogenů. V dřívějších pozorováních bylo zjištěno, že podání HRT s obsahem estrogenů při dosažení koncentrace estradiolu jako ve folikulární fázi menstruačního cyklu, zvyšuje se výrazně citlivost hypofýzy k sekreci GnRH a dojde k obnovení zpětnovazebného mechanismu. (Lind T et al. 1978; Lutjen PJ et al. 1986) Tento efekt byl však pozorován až při dávce 2,5 mg estradiolu denně, kdy byla dosažena premenopauzální koncentrace estradiolu v séru. (Dafopoulos K et al. 2004)

V podskupině pacientek po chirurgické kastraci léčených tibolonem ke změnám v hodnotách LH a FSH během sledovaného období po chirurgické kastraci nedošlo. Stejně jako u jiných autorů také během sledovaného období nebyly při této terapii pozorovány změny v koncentraci estradiolu. (Ödmark I et al. 2006; Dören M et al. 2001) Došlo k významnému vzestupu DHEAS, rozdíl byl ve srovnání se skupinou bez substituce signifikantní. Pozorovaný nárůst koncentrace DHEAS je pravděpodobně odrazem modifikace adrenální produkce androgenů tibolonem a jeho zvýšení lze považovat za výhodné, protože tento prohormon redukuje výskyt vasomotorických symptomů, zvyšuje sexuální apetenci i kognitivní funkce. (Liu JH, 2005) U pacientek užívajících tibolon došlo také k poklesu SHBG a během 9-ti měsíčního období od operace k poklesu koncentrace progesteronu, který byl stejně jako ve skupině bez hormonální substituce důsledkem odstranění funkční ovariální tkáně. Poklesu SHBG pak odpovídal nárůst koncentrace volného testosteronu. Pokles SHBG sám o sobě lze považovat za nevýhodný vzhledem k tomu, že bývá spojován s metabolickými abnormalitami typickými u metabolického syndromu (pokles HDL cholesterolu, vysoká hodnota triacylglycerolů, androidní obezita. I z tohoto pohledu náš nález potvrzuje studie jiných autorů, které spojují vznik menopauzy se vznikem metabolického syndromu a zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. (Sutton-Tyrrell K et al. 2005) I když nebylo jasně prokázáno, že podávání tibolonu vede ke zvýšení kardiovaskulárních komplikací, je nutno k tomuto našemu nálezu přihlížet z hlediska metabolických onemocnění hromadného výskytu obezitelně a volit tuto pravděpodobně léčbu u pacientů s nízkým rizikem tohoto onemocnění. Stejně jako jiní autoři jsme prokázali po léčbě tibolonem vzestup volného testosteronu.

5.2 Vliv indukované menopauzy a HRT na ostatní parametry klinické biochemie

U osob bez hormonální substituce došlo na rozdíl od ostatních skupin k poklesu TAG, což svědčí o negativních metabolických účincích menopauzy. Pokles hodnot leukocytů, CRP a vzestup urikémie a albuminémie během doby sledování byl zřejmě způsoben vlivem regeneračních procesů po provedeném operačním výkonu. Ke změnám v hladině osteokalcinu nedošlo. Současně došlo u žen, které užívaly estrogeny k vzestupu celkového HDL cholesterolu, albuminu, CRP, hemoglobinu a poklesu počtu leukocytů, které považujeme za změny v rámci regenerace po výkonu. Zaznamenaný pokles hodnot osteokalcinu by mohl svědčit o pozitivním efektu této hormonální substituce na kostní remodelaci a je v souladu s literárními údaji (Delmas PD et al. 2008). Za metabolicky příznivý považujeme i nedávno popsany a námi potvrzený vzestup HDL cholesterolu, pokles glykémie a hodnot TAG (Winkler UH et al. 2009; Saglam K, 2004). Za zajímavý lze považovat fakt, že po podávání tibolonu nedošlo k poklesu HDL cholesterolu nebo změnám glykémie a koncentrací TAG, které bývají v některých studiích popisovány. Pokles hodnot leukocytů, CRP a vzestup urikémie a albuminémie během doby sledování byl s největší pravděpodobností způsoben vlivem regeneračních procesů po provedeném operačním výkonu.

5.3 Leptin a indukovaná menopauza

Leptin a hormonální změny u žen

O vlivu pohlavních hormonů na hladiny leptinu se stále diskutuje. Připouští se i přímý vliv pohlavních hormonů na hladinu leptinu, což dokumentují zjištěné pohlavní rozdíly v koncentraci leptinu. (Demerath EW et al. 1999) Vliv hormonálních změn spojených s nástupem menopauzy na hladinu leptinu je stále nedostatečně objasněn. Řada pozorování zjistila vztah mezi estrogeny a hladinou leptinu. Jedná se jednak o pozorování, která sledovala koncentraci leptinu v jednotlivých fázích menstruačního cyklu, kdy dochází k cyklickým fyziologickým změnám hladin estrogenů. Jejich výsledky jsou rozdílné. Některé studie zjistily kolísání hladiny leptinu v průběhu menstruačního cyklu (Riad-Gabriel MG et al. 1998), naopak jiné změnu koncentrace leptinu v průběhu cyklu nepozorovaly nebo změny nebyly významné. (Teirmaa T et al. 1998; Yamada M et al. 2000; Lin KC et al. 1999) Výsledky naší studie, kde byl nalezen vzestup leptinu po podávání estrogenů odpovídají nálezům jiných autorů, kterými byl u premenopauzálních žen nalezen signifikantní nárůst koncentrace leptinu

v pozdní folikulární fázi, či vzestup hladiny leptinu v době prudkého vzestupu LH. (Mannuci E et al. 1998; Riad-Gabriel MG et al. 1998)

Nalezené pozitivní souvislosti mezi leptinem a a estrogeny 5. den po operačním výkonu u celé skupiny (tedy dle typu HRT) vysvětlit nedokážeme; pravděpodobnou příčinou je vliv podávání estrogenů v podskupině léčené estradiolem, který statisticky působí na ostatní dvě podskupiny (bez terapie, tibolon).

Leptin a tuková tkáň

Sérová koncentrace leptinu vylučovaného adipocyty prokazatelně pozitivně koreluje s množstvím tukové hmoty a BMI. (Hadji P et al. 2000; Panidis DK et al. 2001; Milewicz A. et al. 2001; Rajatanavin R et al. 1998, Stejskal D et al. 1997) Stejně jako u ostatních autorů byla nalezena pozitivní souvislosti leptinu s BMI a to ve všech sledovaných skupinách i po celou dobu sledování, u premenopauzálních i postmenopauzálních žen.

Leptin, pohlavní diferenciaci, regulace

Výskyt nižší hladiny leptinu u mužů může být důsledkem vyšších hladin androgenů. Bylo zjištěno, že syntéza leptinu je inhibována testosteronem a při exogenním podání testosteronu byl u mužů pozorován pokles jeho koncentrace v séru. (Luukkaa V et al. 1998) Pro vliv estrogenů na hladinu leptinu by mohly svědčit rozdílné koncentrace u mužů a u žen. Tyto rozdíly mohou být částečně vysvětleny rozdílným množstvím podkožním tukové tkáně, protože sérová koncentrace leptinu je úzce spjata množstvím tukové tkáně. Ženy obecně mají v organismu větší množství tukové tkáně, rozdílná je rovněž její distribuce. Ženy také mají oproti mužům více podkožního tuku než tuku viscerálního. Bylo prokázáno, že podkožní tuková tkáň exprimuje více leptinové mRNA než abdominální tuková tkáň, tato skutečnost by mohla částečně vysvětlit rozdílné koncentrace leptinu u mužů a u žen. (Lönnqvist F et al. 1995) I přes tyto poznatky není vyloučen přímý vliv pohlavních hormonů na sekreci a regulaci sérové hladiny leptinu. Rozdíly mezi pohlavími jsou připisovány jednak vyššímu množství tukové a vyššímu zastoupení tukové tkáně u žen. Nelze však vyloučit i přímý vliv pohlavních hormonů.

Leptin a menopauza

Z výše uvedených výsledků by tedy mělo vyplývat, že množství tukové tkáně u žen po menopauze by mělo být signifikantním prediktorem sérové koncentrace leptinu. V důsledku hormonálních změn, spojených s menopauzou, i sníženého energetického výdeje, dochází ke zvýšení celkového množství tukové hmoty a ke změně distribuce tukové tkáně. U postmenopauzálních žen převažuje abdominální distribuce tukové hmoty - androidní typ obezity, který je spojen s převažujícím androgenním hormonálním profilem, zvýšenou hladinou testosteronu a sníženou hladinou SHBG (tyto nálezy jsme potvrdili i v naší práci nálezem negativních souvislostí mezi leptinem a SHBG a pozitivních souvislostí mezi leptinem a volným testosteronem). Klinicky se androgenní typ obezity manifestuje změnou WHR (poměru pas/boky) nebo nárůstem obvodu pasu (WC). Za tuto změnu je zodpovědný s menopauzou asociovaný nárůst poměru androgeny/estrogeny. Někteří autoři zaznamenali vyšší sérové hladiny leptinu u žen s andoridním typem obezity. (Martinez-Caprio et al. 2003; Garaulet M et al. 2000), nicméně studie jiných autorů vztah mezi WHR a leptinem neprokázaly (Minocci A et al. 2000), protože množství tukové tkáně není pravděpodobně jedinou determinantou sérové hladiny leptinu.

Řada autorů připouští přímou souvislost mezi leptinem a ženskými a mužskými pohlavními hormony. K nejvýraznějším hormonálním změnám dochází u žen s nástupem menopauzy. Proto se klinická pozorování zaměřují právě na toto období. Řada studií prokázala, že v premenopauze bývají hodnoty leptinu vyšší (Rosenbaum M et al. 1996; Ayub N et al. 2006), jiní autoři zjistili, že u jimi sledovaných souborů žen byly hodnoty leptinu vyšší v napopak postmenopauze, přičemž za hlavní příčiny považovali vznik abdominální obezity a pokles estrogenů. (Di Carlo C et al. 2007) Stále zde však existuje třetí skupna autorů, kteří neprokázali rozdíly v hladinách leptinu mezi pre- a postmenopazálními ženami s tím, že pokles endogenní hladiny estradiolu u jimi studovaných žen neměl vliv na hladiny leptinu v séru. (Hadji P et al. 2000; Lambrinouadaki I et al. 2003; Ayub N et al. 2006; Friedman JM et al. 1998) Příčinou těchto diskrepancí jsou pravděpodobně rozdílné studované soubory žen nestejně hmotnosti i věku, rozdílný cíl i metodika uvedených prací. Rozporuplnost výsledků potvrdila i naše práce, kdy jsme významné rozdíly mezi leptinemi u kontrolního souboru fertálních žen a žen po kastraci nenalezli.

Leptin a chirurgická kastrace

Naše práce je ojedinělá v tom, že sledovala dynamiku změn hormonů po chirurgické kastraci. K této problematice bylo doposud publikováno jen několik studií. Podobně jako jiní autoři jsme i my prokázali několik dnů po ovariectomii pozitivní souvislosti mezi koncentrací leptinu a estradiolu po operaci. (Messinis IE et al. 1999; Milewicz T et al. 2006) Na rozdíl od těchto autorů však bezprostředně po operaci nebyl zaznamenán pokles leptinu, podobně jako jiná autorská skupina, která dokonce neprokázala vztah mezi leptinem a estradiolem, SHBG a testosteronem. (Nar A et al. 2009) Rozporuplné výsledky uvedených studií potvrzuje i naše práce, kde nebyla po celou dobu sledování přítomna souvislost mezi leptinem a hladinami progesteronu a gonadotropinů LH i FSH. Příčinou jsou pravděpodobně v rozsáhlých regulačních mechanismech, které po ovariectomii vznikají.

Leptin a HRT

Vliv hormonální substituční terapie na hladinu leptinu nebyl doposud plně objasněn. Výsledky doposud provedených studií jsou ve vzájemném rozporu. Byla provedena řada studií, které posuzovaly vliv HRT různého složení, dávek a také aplikačních forem. Někteří autoři zastávají názor, že HRT moduluje hladinu leptinu (Di Carlo C et al. 2007), jiní naopak vliv HRT na leptinémii nezaznamenali. V naší práci jsme potvrdili vliv podání nízkodávkové estrogenní substituční terapie na hladinu leptinu po 3, 6 i 9 měsících od výkonu. Toto zjištění je v souladu se závěry analogické studie. (Milewicz T et al. 2006) Nicméně je potřeba připomenout, že v jiné práci byl naopak u žen v postmenopauze po nasazení HRT pozorován pokles zvýšených koncentrací leptinu až k premenopauzálním hodnotám. (Di Carlo C et al. 2007) K tomu lze dodat, že u námi sledovaných pacientek se hodnoty leptinu v menopauze nezvyšovaly (oproti kontrolnímu souboru) a tudíž nelze porovnávat výsledky studie Di Carla s výsledky naší práce. V kontextu výše uvedeného lze uvést práce posledních let, které se zabývaly transdermální formou estrogenní substituční terapie, která podle některých vedla po 2 měsících k mírnému zvýšení koncentrace leptinu v séru. (Elbers JM et al. 1999) Podle jiných ke změnám nedocházelo. (Cagnacci A et al. 2002) Zdá se, že zjištěné rozdílné výsledky i koncentrace leptinu jsou důsledkem použití rozdílného složení a dávek podávaných přípravků, rozdílným věkem pacientů, trvání menopauzy, či metodikou studií. (Lin KC et al. 2000) Bylo také provedeno několik studií, které posuzovaly vliv užívání tibolonu na hladinu leptinu. Naše výsledky jsou ve shodě s jinými autory, kteří při porovnání hladiny leptinu u postmenopauzálních pacientek, užívajících tibolon, a pacientek, které byly bez hormonální substituce, nezjistili vliv užívání tibolonu na sérovou hladinu leptinu. (Tommaselli GA et al.

2006; Lambroudiaki I et al. 2003) Opět je zde ale nutno zmínit prospektivní, dvojitě zaslepenou a placebem kontrolovanou studii, ve které bylo zaznamenáno snížení hladiny leptinu při 6-ti měsíčním podání tibolonu. (Odabasi AR et al. 2006) Příčinou rozdílných výsledků je podle našeho názoru jiná metodika práce a v neposlední formě i jiné spektrum pacientek.

Leptin a kostní denzita

Leptin má osteoanabolický efekt a stimuluje osteoblasty ke zvyšování kostní formace. (Zofkova I, 2009) Hodnoty leptinu sice dle některých autorů u postmenopauzálních žen souvisí s kostní masou, nicméně po adjustaci na tělesnou konstituci a tukovou hmotu tyto souvislosti odpadají, leptin není považován na rozdíl od adiponektinu za prediktor kostní denzity. (Lei X et al. 2009) V souladu s recentními nálezy jsme ani my v minulosti tyto souvislosti nenalezli.

Leptin a metabolický syndrom

Naše práce v souladu s recentními publikacemi (Sieminska L et al. 2006) prokázala, že koncentrace leptinu roste s počtem komponentů metabolického syndromu a leptin lze i u menopauzálních žen za určitých podmínek (tzv. leptinová rezistence) považovat za ukazatel přítomnosti metabolického syndromu. V našem případě, podobně jako u jiných autorů nešlo však o ukazatel nezávislý, na rozdíl od premenopauzálních žen a mužů, což je možná způsobeno i hormonální dysbalancí v menopauze. (Ntyintyane L et al. 2009; Samara A et al. 2009) V této oblasti existují však stále nejasnosti, protože byla prezentována i studie s opačným výsledkem, kdy se jevil leptin jako nezávislý prediktor metabolického syndromu pouze u žen v menopauze. (Sieminska L et al. 2006) Zdá se, že příčinou diskrepancí je opět jiný cíl i metodika publikovaných studií.

5.4 Adiponektin a indukovaná menopauza

Adiponektin a hormonální změny u žen

Podobně jako jiní autoři jsme ani my neprokázali souvislost mezi adiponektingem a koncentracemi sexuálních steroidů. (Hall N et al. 2009)

Adiponektin a tuková tkáň

Adiponektin je produkován tukovou tkání na rozdíl od leptinu jeho zvýšení nevede k obesitě. Adiponektin zvyšuje senzitivitu k insulinu oxidaci masných kyselin a snižuje produkci glukózy v játrech (Gaoic S et al. 2009). Nedávno bylo potvrzeno, že diabetici mají hodnoty adiponektinu významně nižší než nediabetici (i po korekci na BMI), a že koncentrace adiponektinu negativně koreluje u pacientů s markery insulinové resistance. Byly potvrzeny také informace o tom, že muži, hypertonici a jedinci s aterogenním lipotypem mají hodnoty adiponektinu sniženy. Za velice zajímavý nález lze považovat skutečnost, že adiponektin u diabetiků 2. typu negativně koreluje s hodnotou glykovaného hemoglobinu A1c. Z tohoto pohledu by mohlo být stanovení adiponektinu považováno za nový ukazatel metabolické kompenzace jedinců s vysokým rizikem vzniku kardiovaskulárních komplikací aterosklerózy. Tuto hypotézu může potvrzovat i další zjištění, že osoby se známkami zánětu mají nízké koncentrace adiponektinu. (Stejskal D, 2007)

Adiponektin a menopauza

Hypoteticky by se nárůst hmotnosti a množství tukové hmoty v postmenopauze společně s přednostní intraabdominální distribucí tukové hmoty měly projevit poklesem hladiny adiponektinu. Avšak ani výsledky provedených studií, kdy řada autorů sledovala hladinu adiponektinu u pacientek v postmenopauze nejsou jednoznačné. Také v naší práci jsme prokázali, že se hodnoty adiponektinu se ve skupině během sledovaného období významně neměnily. V naší práci jsme také nezjistili rozdíly v koncentraci adiponektinu mezi kontrolní skupinou a postmenopauzálními pacientkami. Závěry některých autorů jsou ve shodě s těmito výsledky, kdy ve skupině postmenopauzálních žen nebyly oproti premenopauze zjištěny rozdílné koncentrace adiponektinu. (Sieminska L et al. 2005, Chu MC et al. 2006, Jürimäe J et al. 2007) Naopak jiná pozorování dospěla k odlišným výsledkům, kdy byly např. ve skupině postmenopauzálních obézních žen nalezeny snížené hladiny adiponektinu oproti skupině pre-menopauzálních žen. (Chu MC et al. 2006) Další autoři sice zaznamenali vztah mezi hladinou adiponektinu a věkem pacientek, avšak nebyly pozorovány rozdíly v koncentraci adiponektinu v závislosti na menopauzálním stavu. (Jürimäe J et al. 2007) Odlišné výsledky jednotlivých studií mohou být způsobeny rozdílným věkovým složením souborů. Příčinou rozdílných výsledků jsou také bezesporu rozdílné hodnoty BMI tedy i množství tukové hmoty, které je jednou z hlavních determinant sérové koncentrace adiponektinu v jednotlivých skupinách analyzovaných souborů. V námi sledované skupině pacientek po kastraci se jednalo o pacientky s relativně nízkými hodnotami BMI a během 9-ti

měsíčního pozorování jsme nezaznamenali změny hodnot BMI ani v jedné pozorované podskupině; to je možná také jeden z důvodů našich nálezů. Mezi doposud publikovanými studii existují také značné rozdíly v době trvání menopauzy v analyzovaných skupinách pacientek. V našem případě byla délka trvání menopauzy byla vzhledem k tomu, že pacientky byly sledovány po bilaterální ovariectomii ve všech analyzovaných podskupinách stejná.

Adiponektin a chirurgická kastrace

Naše práce je ojedinělá v tom, že sledovala dynamiku změn adiponektinu po chirurgické kastraci. K této problematice jsme našli jedinou, pilotní studii. (Chalvatzas N et al. 2009) Stejně jako v této studii jsme ani my nenalezli významné změny adiponektinu po kastraci.

Adiponektin a HRT

Vliv hormonální substituční terapie na hladinu adiponektinu nebyl doposud plně objasněn. Ve sledovaném souboru pacientek nebyl zaznamenán vliv různých způsobů substituce na hodnoty adiponektinu, což bylo především v případě podávání estrogenů v nízké dávce překvapující. Někdy se totiž připouští možný výskyt vyšších hladin adiponektinu u uživatelék HRT a to především díky efektu užívání hormonální substituční terapie na snížení nárůstu hmotnosti v postmenopauze a pozitivnímu efektu na distribuci tukové hmoty. Na druhé straně je nutno připomenout práci jiných autorských skupin, kde bylo prokázáno, že u postmenopauzálních žen s HRT nejsou nacházeny změny koncentrací adiponektinu. (Im JA et al. 2006; Sumino H et al. 2004; Sieminska L et al. 2005; Chalvatzas N et al. 2009) Rozdíly mezi výsledky jednotlivých pozorování lze vysvětlit různou délkou užívání hormonální substituce a jednak různým složením podávaných preparátů.

Zatím byla provedena pouze jedna studie, která posuzovala vliv užívání tibolonu na hladinu adiponektinu v postmenopauze. Během 3 měsíců užívání došlo ve skupině uživatelék tibolonu k statisticky významnému poklesu hodnot adiponektinu. Kromě tibolonu studie rovněž analyzovala efekt podání estradiolu, kdy byl, na rozdíl od naší studie, zaznamenán vzestup hladiny adiponektinu. (Christodoulakos GE et al. 2008) V rámci námi sledované skupiny jsme však efekt tibolonu nezaznamenali.

Vzhledem k výše uvedenému lze říci, že nejen vliv hormonálních změn provázejících menopauzu, ale rovněž vliv užívání HRT na koncentraci adiponektinu v postmenopauze není doposud zcela objasněn.

Adiponektin a kostní denzita

Hodnoty adiponektinu dle některých autorů u postmenopauzálních žen souvisí s kostní masou a adiponektin bývá považován za prediktor kostní denzity. (Lei X et al. 2009)

V naší práci jsme našli negativní souvislost s kostní denzitou, což potvrzuje známé zjištění, že osoby s nadváhou, resp. metabolickým syndromem mají vyšší hodnoty kostní denzity a menší tendenci ke vzniku osteoporózy. (Jurimae J et al. 2005)

Patofyziologický vztah mezi adiponektinem a osteoporózou byl potvrzen i nálezem negativní souvislosti mezi koncentrací OPG a adiponektinu na konci sledování, která nebyla zatím jinými autory prokázána, ale považujeme ji za reakci na změny kostní denzity v menopauze.

Adiponektin a metabolický syndrom

V kontrolní skupině fertálních žen byl nalezen očekávaný negativní vztah mezi adiponektinem, insulinem a TAG. Nepodařilo se nám však prokázat souvislost s BMI, což přikládáme relativně normálním hodnotám BMI u kontrolního souboru.

Nálezy u žen v postmenopauze (především negativní vztah s GMT, BMI, chemerinem, magnesiem a pozitivní souvislost s HDL v séru) taktéž potvrzují, že adiponektin je významný negativní rizikový faktor kardiovaskulárních komplikací. (Sieminska L et al. 2006) Během sledování se objevila navíc inverzní závislost mezi adiponektinem a HbA1c, TAG a kyselinou močovou, což je dalším z důkazů negativních vztahů mezi metabolickým syndromem a adiponektinem, resp. jeho popisovaným antiaterogenním a antidiabetickým efektem. V naší práci jsme potvrdili recentní závěry jiných autorů, že adiponektin je efektivní ukazatel přítomnosti metabolického syndromu (Lim S et al. 2009), nicméně na rozdíl od starých osob jde o ukazatel závislý.

5.5 AFAB-P a chirurgicky indukovaná menopauza

AFABP a hormonální změny u žen

Doposud nebyla provedena studie, která by posoudila vliv menopauzy a s ní souvisejících hormonálních a metabolických změn na hladinu A-FABP. V důsledku poklesu endogenní koncentrace estrogenů a sníženého energetického výdeje dochází k nárůstu množství tukové tkáně. Mechanismus jakým působí ženské pohlavní hormony na tukovou tkáň není zcela objasněn. Vzhledem k prokázané asociaci A-FABP s množstvím tukové tkáně a vzhledem k v předchozích studiích prokázané asociaci mezi AFABP a BMI lze

předpokládat, že s nárůstem množství tukové hmoty by měly hladiny A-FABP vykazat růst. Ve skupině pacientek po chirurgicky indukované menopauze nebyly však změny zjištěny.

Nejsou k dispozici poznatky, zda je hladina A-FABP ovlivňována sexageny. Pokud se jedná o vztah k androgenům byl v úvodu sledování a v období 3 měsíců od operace nalezen, ale později vymizel. V kontrolním souboru premenopauzálních pacientek asociace mezi A-FABP a ženskými pohlavními hormony ani androgeny nebyla přítomna.

Vůbec poprvé bylo tedy zjištěno, že v námi analyzovaném souboru pacientek po chirurgicky indukované menopauze ani u premenopauzálních pacientek nebyla přítomna souvislost mezi sérovými hladinami A-FABP a sexageny či gonadotropiny.

A-FABP a tuková tkáň

U jedinců s nadváhou byly zjištěny vyšší hodnoty A-FABP než u jedinců s normální hmotností a to jak u mužů i žen. (Xu A et al. 2006) Byla také zaznamenána silná pozitivní korelace mezi A-FABP a indikátory obezity – BMI, WHR, obvodem pasu a množstvím tukové tkáně. (Xu A et al. 2006) Tato asociace naznačuje, že tuková tkáň, která je z největší části tvořena adipocyty a makrofágy, je hlavním zdrojem A-FABP vylučovaného do oběhu. Popisovaná korelace mezi BMI a A-FABP byla zaznamenána jak u žen tak i u mužů.

A-FABP a menopauza

Neexistují důkazy o souvislostech mezi A-FABP a menopauzou. V rámci naší pilotní studie jsme dynamiku změn A-FABP po kastraci ani diferenci mezi fertillními kontrolami a menopauzálními ženami nenalezli, což nás vede k hypotéze, že neexistuje vztah mezi sexageny, pituitárnímí hormony a A-FABP. Lze tedy konstatovat, že hormonální změny asociované s menopauzou přímo neovlivňují hladinu A-FABP.

A-FABP a chirurgická kastrace

V době psaní disertace nebyla prezentována žádná studie, která by se touto problematikou zabývala. Z naší pilotní studie vyplývá, že tento výkon nemá na hladinu A-FABP v séru vliv.

A-FABP a hormonální substituce

Vliv podávání ERT či tibolonu na hladiny A-FABP v séru nebyl v době psaní disertace ještě publikován. V rámci naší pilotní studie jsme neprokázali vliv podávání estrogenů ani tibolonu, což odpovídá hypotézám, které byly publikovány o adipokinech dříve.

A-FABP a kostní denzita

Souvislost mezi A-FABP a kostní masou ještě doposud nebyla sledována. V rámci naší pilotní studie jsme žádný vztah prokázali. Vyjma pozitivního vztahu mezi OPG a A-FABP na konci studie nebyly vztahy mezi markery kostní remodelace zjištěny.

A-FABP a metabolický syndrom

Byly prokázány souvislosti mezi rizikovými parametry metabolického syndromu a hodnotami A-FABP (s BMI, GMT, HbA1c, insulinem, kyselinou močovou, LDL, TAG a leptinem), současně byly prokázány pozitivní souvislosti s hodnotami volného testosteronu a negativní s hodnotami SHBG, počtem leukocytů a OPG).

Při využití ROC analýzy bylo zjištěno, že A-FABP byl sice i po menopauze dostatečně diagnosticky efektivní pro přítomnost metabolického syndromu, nicméně po využití logistické krokové regrese bylo zjištěno, že koncentrace A-FABP nebyla do modelu pro predikci zahrnuta. To potvrdil i fakt, že po adjustaci A-FABP na věk a BMI schopnost diferenciaci přítomnosti metabolického syndromu pomocí stanovení A-FABP vymizela. Zdá se tedy, že u žen po menopauze není vztah mezi A-FABP a metabolickým syndromem nezávislý.

5.6 FGF-21 a chirurgicky indukovaná menopauza

FGF-21 a hormonální změny u žen

Mechanismus jakým působí ženské pohlavní hormony na tukovou tkáň není zcela objasněn. Jednou z diskutovaných možností tohoto efektu je přímá vazba mezi pohlavními hormony a adipokiny, která však zatím nebyla jednoznačně prokázána a většina autorů vliv sexagenů na hladinu adipokinů neguje. V době psaní této práce nebyla k dispozici žádná publikace ani informace o vztahu mezi hormonálními změnami způsobenými menopauzou a hladinami FGF-21. Vůbec poprvé bylo tedy zjištěno, že v námi analyzovaném souboru pacientek po chirurgicky indukované menopauze ani u premenopauzálních pacientek nebyla zjištěna souvislost mezi sérovými hladinami FGF-21 a sexageny či gonadotropiny.

FGF-21 a tuková tkáň

FGF-21 je produkován tukovou tkání a jeho koncentrace souvisí s hodnotami BMI, obvodem pasu a procentem tělesného tuku. (Zhang X et al. 2008) Sami jsme v rámci pilotní studie na fertálních i postmenopauzálních ženách tento vztah u BMI potvrdili.

FGF-21 a menopauza

Prozatím lze pouze spekulovat, zda nárůst sérových hladin FGF-21 u patologických procesů spojených s obezitou může být odpovědí organismu reagující na stres vyvolaný obezitou nebo naopak může obezita vyvolat rezistenci na působení FGF-21, což následně vede k nárůstu koncentrace FGF-21. Deficit estrogenů asociovaný s menopauzou vede ve svém důsledku ke zvýšenému výskytu metabolického syndromu. V době psaní disertace nebyla publikována k této problematice žádná informace. V rámci naší pilotní studie jsme dynamiku změn FGF-21 po kastraci ani diferenci mezi fertlními kontrolami a menopauzálními ženami nenalezli, což nás vede k hypotéze, že neexistuje vztah mezi sexageny, pituitárnímimi hormony a FGF-21. Lze tedy konstatovat, že hormonální změny asociované s menopauzou přímo neovlivňují hladinu FGF-21.

FGF-21 a chirurgická kastrace

V době psaní disertace nebyla prezentována žádná studie, která by se touto problematikou zabývala. Z naší pilotní studie vyplývá, že chirurgická indukce menopauzy nemá na hladinu FGF-21 v séru vliv.

FGF-21 a hormonální substituce

Vliv podávání estrogenní hormonální substituce na hladiny FGF-21 v séru nebyl v době psaní disertace ještě publikován. V rámci naší pilotní studie jsme neprokázali vliv podávání estrogenů ani tibolonu na koncentrace FGF-21, což odpovídá hypotézám, které byly publikovány o adipokinech dříve.

FGF-21 a kostní denzita

Souvislost mezi adipokinem FGF-21 a kostní masou ještě nebyla sledována. V rámci naší pilotní studie jsme žádný vztah neprokázali.

FGF-21 a metabolický syndrom

V nedáno publikované studii byl vůbec poprvé prokázán vztah mezi FGF-21 a komponenty metabolického syndromu. (Zhang X et al. 2008) Sami jsme v rámci pilotní studie vůbec poprvé sledovali vztah FGF-21 a metabolického syndromu u fertlních žen a žen po chirurgické indukci menopauzy. Prokázali jsme sice významné pozitivní souvislosti mezi FGF-21 a parametry typickými pro metabolický syndrom a zvýšené kardiovaskulární riziko (ať již adipokiny, TAG, GMT, glykémii) a negativní souvislosti s negativními rizikovými

faktory (HDL, adiponektin), nicméně pouhé stanovení FGF-21 nebylo u námi sledovaného souboru, na rozdíl od dříve publikované studie (Zhang X et al. 2008) dostatečně diagnosticky efektivní. Domníváme se, že možnou příčinou jsou metabolické imbalance spojené s pre-, peri- a post-menopauzou a specifické složení souboru, kde jsou převážně zastoupeny pacientky s mírně zvýšenými hodnotami BMI.

5.7 Chemerin a indukovaná menopauza

Chemerin a hormonální změny u žen

V době psaní této práce nebyla k dispozici žádná publikace ani informace o vztahu mezi hormonálními změnami způsobenými menopauzou a hladinami chemerinu. Vůbec poprvé bylo tedy zjištěno, že v námi analyzovaném souboru pacientek po chirurgicky indukované menopauze ani u premenopauzálních pacientek nebyla zjištěna souvislost mezi sérovými hladinami chemerinu a sexageny či gonadotropiny.

Chemerin a tuková tkáň

Chemerin je produkován tukovou tkání a jeho koncentrace souvisí s hodnotami BMI. (Stejskal D et al. 2008) Sami jsme v rámci pilotní studie na fertálních i postmenopauzálních ženách tento vztah potvrdili.

Chemerin, pohlavní diferenciaci, regulace

Chemerinu v rámci klinických studií bylo zatím věnováno pouze několik prací, jejich výsledky jsou navíc rozporuplné. V jedné ze studií nebyly zaznamenány pohlavní změny (Stejskal D, et al. 2008), v jiné byly naopak zjištěny u ženy hodnoty vyšší. (Bozaoglu K, et al. 2007)

Chemerin a menopauza

V době psaní disertace nebyla publikována k této problematice žádná informace. V rámci naší pilotní studie jsme dynamiku změn chemerinu po kastraci ani diferenci mezi fertálními kontrolami a menopauzálními ženami nenalezli, což nás vede k hypotéze, že neexistuje vztah mezi sexageny, pituitárnímí hormony a chemerinem.

Chemerin a chirurgická kastrace

V době psaní disertace nebyla prezentována žádná studie, která by se touto problematikou zabývala. Z naší pilotní studie vyplývá, že tento výkon nemá na hladinu chemerinu v séru vliv.

Chemerin a hormonální substituce

Vliv podávání estrogenní hormonální substituce na hladiny chemerinu v séru nebyl v době psaní disertace ještě publikován. V rámci naší pilotní studie jsme neprokázali vliv podávání estrogenů na koncentrace chemerinu, což odpovídá hypotézám, které byly publikovány o adipokinech dříve. Také vliv podávání tibolonu na hladiny chemerinu v séru nebyl v době psaní disertace ještě publikován. V rámci naší pilotní studie jsme neprokázali vliv podávání tibolonu na koncentrace chemerinu, což odpovídá hypotézám, které byly o adipokinech publikovány dříve.

Chemerin a kostní denzita

Souvislost mezi adipokinem chemerinem a kostní masou ještě nebyla sledována. V rámci naší pilotní studie jsme prokázali vztah mezi kostní denzitou v oblasti femuru a chemerinem, který je pravděpodobně sekundární a souvisí se známým vztahem obezita = nízké riziko vzniku osteoporózy.

Chemerin a metabolický syndrom

V současnosti se pozornost zaměřuje na možnou souvislost mezi koncentrací chemerinu v séru a metabolickým syndromem, především pro jeho možné využití jako ukazatele přítomnosti nebo rizika vzniku metabolického syndromu. Některými autory byla popsána souvislost hladiny cirkulujícího chemerinu s klíčovými parametry metabolického syndromu, jako jsou hodnoty TAG, hodnotami krevního tlaku či obezitou (BMI) (Bozaoglu K et al. 2007, Stejskal D et al. 2008). Tato zjištění naznačují roli chemerinu při rozvoji metabolického syndromu a o chemerinu je dokonce uvažováno jako o potencionálním markeru metabolického syndromu. Zatím nebyla prezentována žádná studie zkoumající vztah mezi chemerinem a metabolickým syndromem u postmenopauzálních žen. V rámci naší pilotní studie jsme také prokázali, že koncentrace chemerinu souvisí s dalšími parametry typickými pro kardiovaskulární riziko a metabolický syndrom jako GMT, FGF-21, BMI, insulinem, leptinem, triacylglyceroly a negativně souvisí s hodnotou adiponektinu.

I přes výše uvedené však u našich pacientek, na rozdíl od běžné populace, nebylo možno stanovení chemerinu jako ukazatele metabolického syndromu použít. Jednou z možných příčin je hormonální a metabolická dysbalance, která je pro menopauzu typická.

5.8 Osteoprotegerin a indukovaná menopauza

Osteoprotegerin a hormonální změny u žen

Vůbec poprvé bylo tedy zjištěno, že v námi analyzovaném souboru pacientek po chirurgicky indukované menopauze ani u premenopauzálních pacientek nebyla zjištěna souvislost mezi sérovými hladinami OPG a sexageny či gonadotropiny.

Osteoprotegerin a tuková tkáň

OPG je produkován i v tukové tkáni, čehož příčinou by mohla být společná buněčná linie osteoblastů a adipocytů. (Juan-Ji An et al. 2007) Bylo zjištěno, že v diferencovaných 3T3L1 adipocytech se exprese OPG zvyšuje, přičemž se exprese RANKL nemění. Exprese OPG se zvyšuje více v bílé než hnědé tukové tkáni. Podle očekávání bylo také prokázáno, že se podáváním insulinového senzitizeru mění index exprese OPG/RANKL, který klesá. Někteří autoři prokázali vztah mezi OPG a kostní densitou, my jsme však podobné souvislosti nenalezli (pravděpodobně složení souboru). (Nabipour R et al. 2009)

Osteoprotegerin a menopauza

V době psaní disertace bylo o problematice k dispozici jen několik publikací. Zdá se, že se OPG zvyšuje u postmenopauzálních žen, kdy souvisí s trváním menopauzy a věkem.

V rámci naší pilotní studie jsme dynamiku změn chemerinu po kastraci ani diferenci mezi fertillními kontrolami a menopauzálními ženami nenalezli, což nás vede k hypotéze, že neexistuje vztah mezi sexageny, pituitárnímí hormony a OPG.

Osteoprotegerin a chirurgická kastrace

V době psaní disertace nebyla prezentována žádná studie, která by se touto problematikou zabývala. Z naší pilotní studie vyplývá, že tento výkon nemá na hladinu OPG v séru vliv.

Osteoprotegerin a hormonální substituce

Vliv podávání hormonální substituce estrogeny na hladiny OPG v séru nebyl v době psaní disertace ještě publikován. V rámci naší pilotní studie jsme neprokázali vliv podávání estrogenů na koncentrace OPG, což odpovídá hypotézám, které byly publikovány o adipokinech dříve. Rovněž vliv podávání tibolonu v rámci hormonální substituce na hladiny OPG v séru nebyl v době psaní disertace ještě publikován. V rámci naší pilotní studie jsme neprokázali vliv podávání tibolonu na koncentrace osteoprotegerinu, což odpovídá hypotézám, které byly publikovány o adipokinech dříve.

Osteoprotegerin a kostní denzita

Již několika let je známo, že vysoké hodnoty OPG bývají spojovány s nízkou kostní denzitou (Kaneda T et al. 2000; Nabipour I et al. 2009; Uemura H et al. 2008), nicméně několik prací tento vztah OPG-kostní denzita i neprokázalo (Ulivieri FM et al. 2005). V rámci naší pilotní studie jsme prokázali, že OPG nebyl efektivní ukazatel přítomnosti osteoporózy (na rozdíl od jiných autorů). Byl sice potvrzen vztah mezi kostní denzitou a OPG, hladinou kalcia, který pravděpodobně souvisí s výsledky recentní studie, která potvrdila, že zvýšené hodnoty OPG jsou spojeny s výskytem kalcifikací na koronárních i periferních tepnách. (Morena M et al. 2009)

Nedávno bylo také popsáno, že progestron, resp. estrogeny vedou k poklesu kostní denzity a OPG (Horner KC, 2009) a že OPG hraje roli ve snížení kostní denzity a vystupňování osteoresorpce u cvičících žen po menopauze. (West SL et al. 2009) Tyto souvislosti jsme v naší práci neprokázali.

Osteoprotegerin a metabolický syndrom

Nedávno byla prezentována studie, která prokázala vztah mezi hladinou OPG a přítomností metabolického syndromu. (Gannage-Yared MH, 2006) Zatím nebyla prezentována žádná studie zkoumající OPG a metabolický syndrom u postmenopauzálních žen; na druhé straně existují práce, které potvrzují úzký vztah mezi OPG a kalcifikací periferních i koronárních tepen. (Morena M et al. 2009) V rámci naší pilotní studie jsme také prokázali, podobně jako jiní autoři, že koncentrace OPG souvisí s dalšími parametry typickými pro kardiovaskulární riziko a metabolický syndrom jsou HbA1c, kyselina močová, leptin, A-FABP a TAG. I přes výše uvedené však u našich pacientek OPG jako ukazatele metabolického syndromu použít. Jednou z možných příčin je hormonální a metabolická dysbalance, která je pro menopauzu typická.

6 . Závěr

Ve spolupráci s Oddělením laboratorní medicíny ve Šternberku, Prostějově a vývojovými laboratořemi firmy Biovendor byla navržena a validována diagnostická souprava na stanovení lipocalin-2 a Angiopoietin-like protein 4, která vykazovaly uspokojivé analytické charakteristiky.

Bylo zjištěno, že již 5. den po indukované menopauze dochází ke zvýšení hodnot gonadotropinů a poklesu estradiolu, který se významně neliší od hodnot u žen s déletrvající menopauzou.

Nebyly zjištěny rozdíly v koncentraci adipokinů leptinu, adiponektinu, chemerinu, FGF-21, A-FABP a OPG u fertálních žen a osob v menopauze. Byly sice prokázány významné souvislosti mezi adipokiny a pohlavními hormony, ale tyto byly pravděpodobně až sekundární; jejich koncentrace tedy u našeho souboru přímo neovlivňovala koncentrace sledovaných adipokinů.

Vůbec poprvé bylo zjištěno, že 9-měsíční podávání perorální nízkodávkové estrogenní hormonální terapie vede k vzestupu leptinémie ve srovnání s ostatními typy substituce (nezávisle na BMI); koncentrace adiponektinu, A-FABP, FGF-21, chemerinu ani OPG se vlivem hormonální terapie nemění.

Stejně tak byla sledována dynamika některých adipokinů po indukované menopauze (leptin, adiponektin, A-FABP, FGF-21, chemerin, osteoprotegerin), kdy nebyly zjištěny změny v koncentracích v důsledku chirurgicky indukované menopauzy.

9-měsíční podávání tibolonu nemělo vliv na hladinu adipokinů. Podávání uvedené hormonální substituce nevedla ani v jednom případě ke změně parametrů kostní denzity.

Za zajímavou považujeme skutečnost, že se nepodařilo prokázat, že by tyto adipokiny byly nezávislé parametry metabolického syndromu (na rozdíl od fertálních žen, kde to bylo prokázáno). Ve všech případech sice souvisely s parametry typickými pro metabolický syndrom, ale tyto souvislosti byly až sekundární.

7 . SOUHRN

Úvod:

Během svého života prochází žena celou řadou období, která se vzájemně výrazně liší hormonální aktivitou ovárií. Po fertilním období spojeném s maximem hormonální aktivity nastává menopauza, kdy dochází k jejímu postupnému poklesu. Specifickým druhem menopauzy je menopauza indukovaná. Chirurgicky indukovaná menopauza je závažným nevratným procesem, který má bezprostřední dopad jednak v podobě akutní symptomatologie postkastračního syndromu a jednak také v následném rozvoji estrogen deficitního organického syndromu a metabolického estrogen – deficitního syndromu, který se klinicky manifestuje ve formě dyslipidémie, arterosklerózy a osteoporózy. Hlavním důsledkem kastrace u žen fertilního věku, v premenopauze a v perimenopauze je vznik postkastračního estrogen-deficitního syndromu, který svou závažností zhoršuje kvalitu života a ohrožuje její zdraví. Metabolický dopad kastrace dokazuje poměrně často a rychle vznikající porucha lipidového metabolismu po kastraci. Postmenopauzální ženy mají vyšší celkovou hladinu cholesterolu, LDL cholesterolu, TAG a lipoproteinů a nižší hladiny HDL cholesterolu než ženy v premenopauze. Samotný postmenopauzální stav je spojen s nárůstem rizika výskytu metabolického syndromu i po vyloučení faktorů ovlivňujících jeho výskyt jako jsou věk, BMI a fyzická aktivita. Předpokládá se, že zhruba polovina kardiovaskulárních příhod u žen je spojena s výskytem metabolického syndromu. Kromě již zavedených laboratorních parametrů, které jsou považovány za běžné rizikové faktory rozvoje kardiovaskulárních onemocnění (KVO), se předpokládá významná role v etiopatogenezi a ve zvýšení incidence KVO a jejich komplikací také u relativně nedávno objevených adipokinů, jako jsou např. adiponektin, leptin, A-FABP, chemerin nebo FGF-21. Jejich vztah k hormonálním změnám, které doprovázejí menopauzu a jejich podíl na metabolických změnách asociovaných s menopauzou nebyl doposud plně objasněn.

Cíle disertační práce:

1. Specifikovat charakter změn v sekreci hypofyzárních gonadotropinů po chirurgické kastraci.
2. Objasnit vztahy mezi hormonálními změnami asociovanými s indukovanou menopauzou a moderními laboratorními ukazateli vztaženými k metabolickému riziku hromadného výskytu (tedy k osteoporóze, metabolickému syndromu, atp.).
3. Posoudit vliv podání hormonální substituční terapie; konkrétně perorální nízkodávkové estrogenní hormonální terapie a tibolonu na hladinu vybraných adipokinů, u nichž nebyly žádné vztahy zatím popsány.

Experimentální část:

Ve spolupráci s Oddělením laboratorní medicíny ve Šternberku, Prostějově a vývojovými laboratořemi firmy Biovendor jsem se podílel na návrhu a validaci vybraných diagnostických souprav na stanovení některých adipokinů. Šlo o lipocalin-2 a Angiopietin-like protein 4, které jsme sice v rámci našich souborů nesledovali, ale metodicky šlo o stejný způsob práce, proto je zde uvádím. Současně podrobně uvádím i výsledky se sledovaným adipokinem chemerinem, k jehož stanovení v séru byla využita ELISA ve formátu sendvič.

První část práce se snaží specifikovat charakter změn v sekreci hypofyzárních gonadotropinů po chirurgické kastraci (studie I). V rámci prospektivní studie byl sledován soubor 14 osob, z toho 7 před menopauzou a 7 po menopauze. U všech osob byla provedena chirurgická kastrace v důsledku abdominální hysterektomie s oboustrannou adnexetomií.

V druhé části (studie II) jsme prospektivně sledovali celkem 70 žen ve fertlním věku (skupina A), které podstoupily operační výkon, v jehož důsledku došlo k chirurgické indukci menopauzy.

Pacientky byly po operaci metodou náhodného výběru zařazeny do jedné ze tří podskupin:

1. podskupinu tvořilo 23 žen bez hormonální substituce
2. podskupinu tvořilo 25 pacientek užívající v rámci hormonální substituční terapie estradiol perorálně, kontinuálně v dávce 1 mg denně
3. podskupina byla složena z 22 pacientek, které užívaly v rámci hormonální substituce tibolon perorálně v dávce 2,5 mg denně.

Hormonální substituční terapie byla v příslušných skupinách nasazena 5. pooperační den. Kontrolní skupina (skupina B) byla složena z 12-ti pacientek v premenopauze, bez zdravotních obtíží, nekuřáček, neobézních, bez hormonální terapie, které měly pravidelný menstruační cyklus. U všech 14 žen sledovaných v rámci první studie (studie I) byly před operací a 5. pooperační den provedeny ráno nalačno odběry žilní krve z kubitální žíly. Ze séra byly bezprostředně analyzovány tyto parametry: FSH, LH, progesteron, testosteron, SHBG, estradiol, DHEAS, kortizol, T3 a TSH. V rámci dalších studií žen po chirurgické indukci menopauzy (studie II) byly 5. pooperační den a v období tří, šesti a devíti měsíců od operačního výkonu z krve stanoveny parametry krevního obrazu a část séra byla použita k bezprostřední analýze (urey, kreatininu, cholesterolu, LDL cholesterolu, HDL cholesterolu, TAG, glukózy, kyseliny močové, ALT, AST, GMT, CRP, FSH, LH, progesteronu, testosteronu, SHBG, estradiolu, DHEAS, insulínu, HbA1). Další skupina vzorků byla alikvotována a zamražena při -80 °C a následně v nich stanoveny osteoprotegerin, leptin, A-FABP, FGF-21, chemerin a adiponektin. Kromě stanovení biochemických parametrů byla u všech osob před vyšetřením zjištěna aktuální hmotnost i výška a následně byla ze získaných hodnot vypočtena hodnota BMI. Rovněž byla 5. pooperační den a za 9 měsíců od operace provedena kostní DEXA-denzitometrie (HOLOGIC QDR 2000) v lokalitách celkového proximálního femuru, Wardova trojúhelníku a lumbální oblasti L1-4. V jednotlivých lokalitách byly stanoveny hodnoty BMD, T a Z skóre.

Výsledky:

Vývoj a validace souprav pro detekci lipocalinu-2 a Angiopoietin-like proteinu 4

- Opakovaným vyšetřením koncentrací lipocalinu-2 a Angiopoietin-like proteinu 4 jsme si ověřili uspokojivé analytické charakteristiky diagnostické soupravy, které umožňovaly získávat robustní výsledky. Specifičnost měření chemerinu byla potvrzena testováním zkřížené reaktivity mezi séry různých savčích druhů. V testech správnosti bylo zjištěno, že průměrná hodnota výtěžnosti při testu standardního přídatku činila 96,7 %. Průměrná hodnota výtěžku při testu linearita činila 102,4 %. Variační koeficient byl v obou testovaných případech menší než 7 %.

- Hormonální změny po chirurgicky indukované menopauze

Ve skupině I. (žen po chirurgické kastraci) byl 5. pooperační den zaznamenán signifikantní pokles hladiny estradiolu a progesteronu. V souladu s předpokladem byl v souboru pacientek po kastraci zaznamenán signifikantní vzestup koncentrace LH a FSH. Vlivem substituce estrogenu došlo během 9-ti měsíců k významnému vzestupu hodnot

estradiolu. Došlo k nárůstu FSH, změny ale nebyly tak významné jako u osob bez substituce. Hodnoty LH se vlivem estrogenní substituce neměnily. Došlo k nárůstu FSH, změny ale nebyly tak významné jako u osob bez substituce. Hodnoty LH se vlivem estrogenní substituce neměnily. V podskupině pacientek po chirurgické kastraci léčených tibolonem ke změnám v hodnotách LH a FSH během sledovaného období po chirurgické kastraci nedošlo. Během sledovaného období nebyly při této terapii pozorovány změny v koncentraci estradiolu. Došlo k významnému vzestupu DHEAS, rozdíl byl ve srovnání se skupinou bez substituce signifikantní. U pacientek užívajících tibolon došlo také k poklesu SHBG a během 9-ti měsíčního období od operace k poklesu koncentrace progesteronu.

- Leptin:

Rozdíly mezi leptinemií u kontrolního souboru fertálních žen a žen po kastraci nebyly nalezeny. V období po chirurgické indukci menopauzy nebyly zjištěny změny v koncentraci leptinu. 5. den po chirurgické kastraci byla přítomna pozitivní souvislost mezi koncentrací leptinu a estradiolu po operaci. Po celou dobu sledování nebyla přítomna souvislost mezi leptinem a hladinami progesteronu a gonadotropinů LH i FSH. V naší práci jsme potvrdili vliv podání nízkodávkové estrogenní substituční terapie na hladinu leptinu po 3, 6 i 9 měsících od výkonu. Ve sledované podskupině došlo vlivem užívání estradiolu během 9 měsíců k nárůstu průměrné koncentrace leptinu v séru z 17,6 µg/l na 23,2 µg/l (mediány z 13,7 µg/l na 18,3 µg/l). Nebyl zjištěn vliv užívání tibolonu na sérovou hladinu leptinu. Byla nalezena pozitivní souvislost leptinu s BMI a to ve všech sledovaných skupinách i po celou dobu sledování. Bylo prokázáno, že koncentrace leptinu roste s počtem komponentů metabolického syndromu a leptin lze i u menopauzálních žen za určitých podmínek (tzv. leptinová rezistence) považovat za ukazatel přítomnosti metabolického syndromu.

- Adiponektin: Hodnoty adiponektinu se ve skupině pacientek po chirurgické kastraci během sledovaného období významně neměnily. V naší práci jsme také nezjistili rozdíly v koncentraci adiponektinu mezi kontrolní skupinou a postmenopauzálními pacientkami. Nebyly prokázány souvislosti mezi adiponektinem a koncentracemi sexuálních steroidů ani gonadotropinů. Ve sledovaném souboru pacientek nebyl zaznamenán vliv užívání estrogenní hormonální substituce či tibolonu na hodnoty adiponektinu. Byla nalezena negativní souvislost mezi hladinou adiponektinu a kostní denzitou. Byla zjištěna negativní souvislost mezi koncentrací OPG a adiponektinu na konci sledování. V kontrolní skupině fertálních žen byl nalezen negativní vztah mezi adiponektinem, insulinem a TAG, nepodařilo se však prokázat souvislost s BMI.

- A-FABP: V analyzovaném souboru pacientek po chirurgicky indukované menopauze ani u premenopauzálních pacientek nebyla přítomna souvislost mezi sérovými hladinami A-FABP a sexageny či gonadotropiny. Změna koncentrace A-FABP po kastraci ani diferenci mezi fertillními kontrolami a menopauzálními ženami nebyla nalezena. Nebyl prokázán vliv podávání estrogenů ani tibolonu na koncentrace A-FABP. Souvislost mezi A-FABP a kostní masou nebyla prokázána. Vyjma pozitivního vztahu mezi OPG a A-FABP na konci studie nebyly vztahy mezi markery kostní remodelace zjištěny. Byly prokázány souvislosti mezi rizikovými parametry metabolického syndromu a hodnotami A-FABP (s BMI, GMT, HbA1c, insulinem, kyselinou močovou, LDL, TAG a leptinem); současně byly prokázány pozitivní souvislosti s hodnotami volného testosteronu a negativní s hodnotami SHBG, počtem leukocytů a OPG.

-FGF-21: V analyzovaném souboru pacientek po chirurgicky indukované menopauze ani u premenopauzálních pacientek nebyla zjištěna souvislost mezi sérovými hladinami chemerinu a sexageny či gonadotropiny. Dynamika změn FGF-21 po kastraci ani difference mezi fertillními kontrolami a menopauzálními ženami nebyla nalezena. Nebyl prokázán vliv podávání estrogenů ani tibolonu na koncentrace FGF-21. Nebyl prokázán vztah mezi FGF-21 a kostní denzitou u fertillních žen a žen po chirurgické indukci menopauzy. Prokázali jsme sice významné pozitivní souvislosti mezi FGF-21 a parametry typickými pro metabolický syndrom a zvýšené kardiovaskulární riziko (at' již adipokiny, TAG, GMT, glykemií) a negativní souvislosti s negativními rizikovými faktory (HDL, adiponektin), nicméně pouhé stanovení FGF-21 nebylo u námi sledovaného souboru dostatečně diagnosticky efektivní.

-Chemerin: V souboru pacientek po chirurgicky indukované menopauze ani u premenopauzálních pacientek nebyla zjištěna souvislost mezi sérovými hladinami chemerinu a sexageny či gonadotropiny. Nebyla zjištěna difference v hladině chemerinu mezi fertillními kontrolami a pacientkami po chirurgické indukci menopauzy. Nebyl prokázán vliv podávání estrogenů ani tibolonu na koncentrace chemerinu. Prokázali jsme vztah mezi kostní denzitou v oblasti femuru a chemerinem. Koncentrace chemerinu souvisela s dalšími parametry typickými pro kardiovaskulární riziko a metabolický syndrom jako jsou GMT, FGF-21, BMI, insulinem, leptinem, TAG a negativně souvisí s hodnotou adiponektinu.

- Osteoprotegerin: Změna koncentrace chemerinu po kastraci ani diferenci mezi fertillními kontrolami a menopauzálními ženami nebyla přítomna. V analyzovaném souboru pacientek po chirurgicky indukované menopauze ani u premenopauzálních pacientek nebyla zjištěna souvislost mezi sérovými hladinami OPG a sexageny či gonadotropiny. Nebyl prokázán vliv podávání estrogenů ani tibolonu na koncentrace OPG. OPG také nebyl efektivní ukazatel

přítomnosti osteoporózy, nebyl nalezen vztah mezi kostní denzitou ani markery kostní přestavby a OPG. Nebyla přítomna korelace mezi OPG a komponentami metabolického syndromu.

Závěry:

Ve spolupráci s Oddělením laboratorní medicíny ve Šternberku, Prostějově a vývojovými laboratořemi firmy Biovendor byla návrženy a validovány diagnostických soupravy na stanovení lipocalin-2 a Angiopietin-like protein 4, která vykazovaly uspokojivé analytické charakteristiky.

Bylo zjištěno, že již 5. den po indukované menopauze dochází ke zvýšení hodnot gonadotropinů a poklesu estradiolu, který se významně neliší od hodnot u žen s déletrvající menopauzou.

Nebyly zjištěny rozdíly v koncentraci adipokinů leptinu, adiponektinu, chemerinu, FGF-21, A-FABP a OPG u fertálních žen a osob v menopauze. Byly sice prokázány významné souvislosti mezi adipokiny a pohlavními hormony, ale tyto byly pravděpodobně až sekundární; jejich koncentrace tedy u našeho souboru přímo neovlivňovala koncentrace sledovaných adipokinů.

Vůbec poprvé bylo zjištěno, že 9-měsíční podávání perorální nízkodávkové estrogenní hormonální terapie vede k vzestupu leptinémie ve srovnání s ostatními typy substituce (nezávisle na BMI); koncentrace adiponektinu, A-FABP, FGF-21, chemerinu ani OPG se vlivem hormonální terapie nemění.

Stejně tak byla sledována dynamika některých adipokinů po indukované menopauze (leptin, adiponektin, A-FABP, FGF-21, chemerin, osteoprotegerin), kdy nebyl zjištěn změny v koncentracích v důsledku chirurgicky indukované menopauzy.

9-měsíční podávání tibolonu nemělo vliv na hladinu adipokinů. Podávání uvedené hormonální substituce nevedla ani v jednom případě ke změně parametrů kostní denzity.

Za zajímavou považujeme skutečnost, že se nepodařilo prokázat, že by tyto adipokiny byly nezávislé parametry metabolického syndromu (na rozdíl od fertálních žen, kde to bylo prokázáno). Ve všech případech sice souvisely s parametry typickými pro metabolický syndrom, ale tyto souvislosti byly až sekundární.

8 . Summary

Introduction: During life of a women several periods of different hormonal ovarian activity occure. Fertile period is followed by meopause. Menopause is specified by decrease in ovarian hormonal activity. Induced menopause is a specific type of menopause. Surgically induced menopause is nonreversible process, which has a severe impact in form of estrogen deficient syndrome, which clinically manifests as dyslipidemia, arteriosclerosis and osteoporosis. Postmenopausal women have higher levels of total cholesterole, LDL cholesterole, TAG and lipoproteins and lower levels of HDL cholesterole than premenopausal women. Postmenopausal status is associated with increased risk of emergence of metabolic syndrome. It is presumed that about half of cardiovascular events in women is linked with metabolic syndrome. Beside standard established laboratory parameters, which are considered as standard risk factors of cardiovascular disease, the important role of recently discovered adipokines such as adiponectin, leptin, A- FABP, chemerin or FGF-21 is considered. The relation between adipokines and hormonal changes that are associated with menopausal transition and their contribution to metabolic changes that accompany menopause is not completely clarified.

Objectives of disertation thesis:

1. Specify the changes in gonadotropines after surgical induction of menopause.
2. Clarify relations between hormonal changes assotiated with menopause and recent laboratory parameters relative to osteoporosis and metabolic syndrome.
3. Consider the influence of hormonal substitutional therapy administration, concretelly low dose estrogen therapy and tibolone on selected adipokines, in which any relations have not been up to date described.

Experimental part:

In cooperation with Department of laboratory medicine in Šternberk, Prostějov and laboratories of Biovendor company I was participating on design and validation of selected diagnostic kits for several adipokines, concretelly Lipocalin-2 and Angiopoietin-like protein 4, which were not assesed in our samples, but the methodic of the procedure was identical. I also present results of assesment of adipokine chemerin, which was assessed by ELISA.

First part of thesis tries to specify the character of changes in secretion of hypophysal gonadotropins after surgical induction of menopause (study I) in a prospective study the of 14 subjects (7 subjects were premenopausal, 7 subjects were postmenopausal). In all subjects menopause was surgically induced by performance of abdominal hysterectomy with bilateral adnexectomy.

In the second part (study II) we prospectively observed 70 fertile women (group A) who underwent surgical procedure that resulted in induction of menopause. Patients were randomly assigned into one of three subgroups.

1. subgroup consisted of 23 women without hormonal substitution
2. subgroup consisted of 25 women receiving estradiole 1 mg per day continually
3. subgroup consisted fo 22 patients receiving tibolone 2,5 mg per day

Administration of hormonal substitution therapy started on the 5th postoperative day. Control group (group B) consisted of 12 premenopausal healthy, nonsmoking, nonobese patients without hormonal therapy and with regular menstruation cycle. In all 14 women which participatedn in the dirst study (study I) venous blood was drawn from cubital before surgery and on 5th postoperative day. The serum was immediately assayed for: FSH, LH, progesterone, testosterone, SHBG, estradiole, DHEAS, TSH, T3 and cortisole. In further studies with women after surgically induced menopause (study II) on the 5th day and 3, 6 and 9 monts after surgery the collected serum was assayed for (urea, creatinine ,cholesterole, LDL cholesterole, HDL cholesterole, TAG, glucose, uric acid, ALT, AST, GMT, CRP, FSH, LH, progesterone, testosterone, SHBG, estradiole, DHEAS, insuline and HbA1c). Another group of samples was frozen first by -80 °C for assesment of OPG, leptin, A-FABP, FGF-21, chemerin a adiponectin, which was proceded later. Beside of assesment of biochemical parameters all subjects were measured and weighted before examination and the BMI was calculated. Bone mineral density was measured by DEXA (HOLOGIC QDR 2000) on the 5th postoperative day and after 9 months after surgery in the lumbal area L1-L4, proximal femur area and Ward's triangle, beside the BMD values also the T a Z score values were determined.

Results:

-Development and validation of Lipocalin-2 and Angiopoietin- like protein 4 detection kits

By repeated assesment of concentrations of Lipocalin-2 and Angiopoietin-like protein 4we have verified satisfactory analytical characteristics of diagnostic kit, which enabled to obtain robust results. Specity of chemerin measurement was confirmed by cross reactivity between serum of different mamal kinds.

During the tests of accuracy it was found that mean recovery factor in test with standard addition was 96,7 %. Mean recovery factor during linearity test was 102,4%. Variation coefficient was in both cases less than 7 %.

-Hormonal changes after surgical induction of menopause:

In group I. (women after surgical induction of menopause) a significant decrease in estradiol and progesterone concentration was found. In concordance with presumptions a significant increase of LH and FSH concentrations was present. In the group using estrogen substitution therapy a significant increase of estradiol concentration was present. There was an increase in FSH, but the changes were not as significant as in subjects without hormonal therapy. The levels of LH were not influenced by estrogen therapy. In the group using tibolone there were no changes of estradiol, LH and FSH were found. There was a significant increase in DHEAS compared with group without hormonal substitution. As a result of 9 months tibolone administration a fall of SHBG and progesterone values occurred.

-Leptin: There were no significant differences between leptin concentration in premenopausal women and women after surgical induction of menopause. No changes of leptin concentration occurred during 9 months after surgical induction of menopause. There was a positive correlation between leptin and estradiol serum concentration. During the whole period of observation there were no correlations between leptin, progesterone, LH and FSH. We have confirmed the influence of low dose estrogen substitution therapy after 3, 6 and 9 months following surgical procedure. Usage of estradiol resulted in increase of men leptin serum concentration from 17,6 µg/l to 23,2 µg/l (medians from 13,7 µg/l to 18,3 µg/l). It had no effect on serum leptin concentration. A positive relationship between leptin and BMI was found in all analyzed groups. It was proven that concentration of leptin rises with number of components of metabolic syndrome and that in postmenopausal women leptin can be in certain conditions (in so called leptin resistance) considered as indicator of presence of metabolic syndrome.

-Adiponectin: The concentration of adiponectin in the group of patients after surgically induced menopause didn't significantly change during observed period. We didn't find any differences in adiponectin concentration between postmenopausal and premenopausal women. There was no association present between adiponectin and sex steroid hormones or gonadotropins. No influence of various types of hormonal therapy on adiponectin level was observed. There was a negative correlation between adiponectin and bone mineral density. There was a negative relationship between adiponectin and osteoprotegerin in the end of the study. In the control group of fertile women a negative relationship between adiponectin,

insulin and TAG was found. However there was no relationship between adiponectin and BMI.

- A-FABP: There was no relationship between concentration of A-FABP and sex hormones or gonadotropines in the group of patients after surgically induces menopause or premenopausal patients. There was no change of A-FABP concentration in whole period after induction of menopause. There was no difference in the A-FABP concentration between women after surgical induction of menopause and premenopausal controls. There was no influence of estrogen or tibolone administration on A-FABP concentration and also no relationship between A-FABP concentration and bone mineral density. Positive relationship between OPG and A-FABP was found in the end of a study. Relationship between components of metabolic syndrome (BMI, GMT, HbA1c, insuline, LDL, TAG, leptin) and A-FABP. We observed positive corelations between free testosterone and A-FABP and negative corelations with SHBG, OPG and leucocyte values.

-FGF21: There was no relationship between concentration of FGF-21 and sex hormones or gonadotropines in the group of patients after surgically induces menopause or premenopausal patients. There was no change of FGF-21 concentration in whole period after induction of menopause. There was no influence of estrogen or tibolone administration on FGF-21 concentration and relationship between FGF-21 concentration and bone mineral density.

We have proven positive corelation between FGF-21 and several parameters typical for metabolic syndrome and increasedcardiovascular risk (adpokines, TAG, GMT, glycemia) or negative corelation (HDL, adiponectin) but isolated assesment of FGF-21 wasn't diagnostically efective.

-Chemerin: There was no relationship between concentration of chemerin and sex hormones or gonadotropines in the group of patients after surgically induces menopause or premenopausal patients. There was no change of chemerin concentration in whole 9 months period after induction of menopause. There was no influence of estrogen or tibolone administration on chemerin concentration. We have proven relationship between bone mineral density in the proximal femur area and chemerin. Concentration of chemerin corelated positively with with several parameteres typical for cardiovascular risk and metabolic syndrome such as GMT, FGF-21, BMI, insuline, leptin, TAG and corelated negatively with adiponectin.

- Osteoprotegerin: There was no relationship between concentration of OPG and sexual hormones or gonadotropines in the group of patients after surgically induces menopause or premenopausal patients. There was no change of OPG concentration in whole period after induction of menopause. There was no influence of estrogen or tibolone administration on OPG concentration. Also no relationship between OPG concentration and bone mineral density was present. There was no correlation between OPG and components of metabolic syndrome.

Conclusions:

In cooperation with Department of laboratory medicine in Šternberk, Prostějov and laboratories of Biovendor company Lipocalin-2 and Angiopoietin-like protein 4 detection kits were developed, which have shown satisfactory analytical characteristics.

9 . Seznam vlastní literatury a prezentací vztahujících se k tématu

1. Stejskal D, Karpíšek M, **Petzel M**. Lipocalin-2 (LCN-2): Development, Analytical Characterization, and Clinical Testing of a New ELISA. *Horm Metab Res*, 2008, 40: 381-385. IF v roce 2006 1,997.
2. Stejskal D, Karpíšek M, Reutová H, **Petzel M**, Vařeka I, Stejskal P. Angiopoietin-like protein 4 (Angptl4): development, analytical characterization, and clinical testing of new ELISA. *Gen Physiol Biophys*, 2008, 27: 59-63. IF v roce 2006 0,771
3. Stejskal D, Karpisek M, Hanulova Z, Svestak M, **Petzel M**. Chemerin is an independent marker of the metabolic syndrome in a Caucasian population – A pilot study. *Biomedical papers* 2008; 152: 217-223.
4. Koliba P, **Petzel M**, Kuchařová Z. Stárnutí gonadálních funkcí. Konference ČMAS Kvalita života po menopauze a andropauze, Hradec nad Moravicí, 21.10.2006
5. **Petzel M**, Stejskal D, Jedelsky L, Kadalova L, Safarcik K. The influence of estradiole and tibolone administration on leptin levels in women with surgically induced menopause. *Biomedical papers* 2008; 152: 101-107

6. **Petzel M**, Švesták M, Hejduk P, Sporová L, Stejskal D. Adiponektin a chirurgicky indukovaná menopauza. Česká gynekologie - v recenzním řízení
7. **Petzel M**, Švesták M, Hejduk P, Sporová L, Stejskal D. A-FABP, osteoprotegerin a chirurgicky indukovaná menopauza. XIII. Kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn, 10.-12.12.2009
8. **Petzel M**, Švesták M, Hejduk P, Sporová L, Stejskal D. Serum FGF-21 levels in patients with surgically induced menopause and the influence of different types of hormonal therapy on its serum concentrations. Biomedical papers, v tisku
9. Stejskal D, **Petzel M**, Švesták M, Hejduk P, Sporová L. Chemerin and surgically induced menopause. Scand Lab of Clin Investig, v tisku
10. Stejskal D, Vavroušková J, Mareš J, Vranová H, Karpíšek M, Kušnierová P, **Petzel M**. Fosforylovaná neurofilamenta typu H (pNF-H) jako nový laboratorní ukazatel roztroušené sklerózy. Agel Academy 2008; 2: 1-4.
11. **Petzel M**. Action of leptin on bone and its relationship to menopause, Biomedical papers, 2007, 151(2):195–199.

10. Literatura

Adamczak M, Wiecek A, Funahashi T et al. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Amer J Hypertension*, 2003, 16:72-75.

Ahima RS, Dushay J, Flier SN, et al. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. *Journal of Clinical Investigation*, 1997, 99:391-395.

Aiman J, Forney JP, Parker Jr CR. Secretion of androgens and estrogens by normal and neoplastic ovaries in postmenopausal women. *Obstet Gynecol*, 1986, 68:1-5.

Alexandris E, Milingos S, Kollios G, et al. Changes in gonadotrophin response to gonadotrophin releasing hormone in normal women following bilateral ovariectomy. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1997, 47:721-726.

Attoub S, Levasseur S, Buyse M, et al.. Physiological role of cholecystokinin B/gastrin receptor in leptin secretion. *Endocrinology*. 1999, 140(10):4406-10.

Austin M, Breslow J, Hennekens C, et al. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*, 1993, 260:1917-1921.

Austin M, King M-C, Vranizan K, et al. Inheritance of low density lipoprotein subclass patterns: results of complex segregation analysis. *Am J Hum Genet*, 1998, 43:838-846.

Ayub N, Khan SR, Syed F. Links Leptin levels in pre and post menopausal Pakistani women. *J Pak Med Assoc*, 2006, 56:3-5.

Bachmann G. Physiologic aspects of natural and surgical menopause. *J Reprod Med*, 2001, 46 (3 Suppl):307-15.

Badman MK, Pissionis P, Kennedy AR, et al. Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPAR α and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metab*, 2007, 5:426-437.

Baratta R, Amato S, Degano C et al. Adiponectin relationship with lipid metabolism is independent of body fat mass: evidence from both cross-sectional and interventional studies. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(6):2665-2671.

Barnes JF, Farish E, Rankin M et al. A comparison of the effects of two continuous HRT regimens on cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis*, 2002, 160:185-193.

Beardsworth SA, Kearney CE, Purdie DW. Prevention of postmenopausal bone loss at lumbar spine and upper femur with tibolone: a two-year randomised controlled trial. *Br J Obstet Gynaecol*, 1999, 106:678-83.

Berg AH, Combs T, Du X, et al. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med*, 2001, 7:947-53.

Berg GA, Siseles N, Gonzalez AI, et al. Higher values of hepatic lipase activity in postmenopause: relationship with atherogenic intermediate density and low density lipoproteins. *Menopause*, 2001, 8:51-57.

Berning B, Kuijk CV, Kuiper JW, et al. Effects of two doses of tibolone on trabecular and cortical bone loss in early postmenopausal women: a two-year randomized, placebo-controlled study. *Bone*, 1996, 19:395-9.

Bjorkelund C, Lissner L, Andersson S, et al. Reproductive history in relation to relative weight and fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1996, 20:213-219.

Bonnet M, Delavaud C, Laud K, Gourdou I, Leroux C, Djiane J, Chilliard Y. Mammary leptin synthesis, milk leptin and their putative physiological roles. *Reprod Nutr Dev*, 2002 Sep-Oct, 42(5):399-413.

Boord JB, Fazio S, Linton MF. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 2002, 13:141-7.

Boord JB, Maeda K, Makowski L, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, Hotamisligil GS. Combined adipocyte-macrophage fatty acid-binding protein deficiency improves metabolism, atherosclerosis, and survival in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 2004, 110: 1492-1498.

Boord JB, Maeda K, Makowski L, et al. Combined adipocyte-macrophage fatty acid-binding protein deficiency improves metabolism, atherosclerosis, and survival in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 2004, 110:1492-8.

Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, et al. Chemerin Is a Novel Adipokine Associated with Obesity and Metabolic Syndrome. *Endocrinology*, 2007, 148, (10): 4687-4694.

Burger HG, Dudley EC, Robertson DM et al. Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Prog Horm Res*, 2002, 57:257-275.

Busch TL, Barrett-Connor E, Cowan LD et al. Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women. *Circulation*, 1987, 75: 1102-11.

Cagnacci A, Malmusi S, Arangino S, Zanni A, Rovati L, Cagnacci P, et al. Influence of transdermal estradiol in the regulation of leptin levels of postmenopausal women: double-blind, placebo-controlled study. *Menopause*, 2002; 9:65-71.

Cammisotto PG and Ludwik J. Bukowiecki. Mechanisms of leptin secretion from white adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 283(1): 244-C250.

Campillo B, Sherman E, Richardet JP, Bories PN. Serum leptin levels in alcoholic liver cirrhosis: relationship with gender, nutritional status, liver function and energy metabolism. *Eur J Clin Nutr*, 2001, 55(11):980-8.

Campos H, McNamara JR, Wilson PW, et al. Differences in low density lipoprotein subfractions and apolipoproteins in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 67:30-35.

Carr MC, Brunzell JD. Increased hepatic lipase activity and intraabdominal fat across the transition from pre- to postmenopause. Program of the 85th Annual Meeting of The Endocrine Society, Philadelphia, PA, 2003 (Abstract P2-280).

Carr MC, Kim KH, Zambon A, et al. Changes in LDL density across the menopausal transition. *J Invest Med*, 2000, 48:245-250.

Chalvatzas N, Dafopoulos K, Kosmas G, et al. Effect of ovarian hormones on serum adiponectin and resistin concentrations. *Fertil Steril*, 2009, 91:1189-94.

Chen WW, Li L, Yang GY, et al. Circulating FGF-21 levels in normal subjects and in newly diagnose patients with Type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2008, 116: 65-68.

Chmurzyńska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism, *J Appl Genet*, 2006, 47(1):39-48.

Christodoulakos GE, Lambrinoudaki IV, Creatsa MG, et al. Circulating levels of atherogenesis-associated adipocytokines and apoptotic markers are differentially influenced by hormone therapy, tibolone and raloxifene in healthy postmenopausal women. *Climacteric*, 2008, 11(2):155-65.

Chu MC, Cospes P, Orio F, et al. Insulin resistance in postmenopausal women with metabolic syndrome and the measurements of adiponectin, leptin, resistin, and ghrelin. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 194 (1):100-104.

Cioffi JA, Van Blerkom J, Antczak M, et al. The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Molecular Human Reproduction*, 1997, 3:467-472.

Clarkson TB, Anthony MS, Wagner JD. A comparison of tibolone and conjugated equine estrogens effects on coronary artery atherosclerosis and bone density of postmenopausal monkeys. *J Clin Endocrinol*, 2001, 86:5396-5404.

Cnop M, Havel J, Utzschneider KM, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia*, 2004, 46:459-69.

Coe NR, Simpson MA, Bernlohr DA. Targeted disruption of the adipocyte lipid-binding protein (aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular fatty acid levels. *J Lipid Res*, 1999, 40:967-72.

Combs TP, Berg AH, Obici S, et al. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest*, 2001, 108:1875-81.

Combs TP, Berg AH, Rajala MW, et al. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes*, 2003, 52:268-76.

Corsico B, Cistola DP, Frieden C, et al. The helical domain of intestinal fatty acid binding protein is critical for collisional transfer of fatty acids to phospholipid membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95, 12174-12178.

Crawford SL, Casey VA, Avis NE, et al. A longitudinal study of weight and the menopause transition: results from the Massachusetts Women's Health Study. *Menopause*, 2000, 7:96-104.

Dafopoulos K, Kotsovassilis CG, Milingos S, et al. Changes in pituitary sensitivity to GnRH in estrogen-treated post-menopausal women: evidence that gonadotrophin surge attenuating factor plays a physiological role. *Hum Reprod*, 2004, 19:1985-1992.

Dafopoulos K, Mademtzis I, Vanakara P, et al. Evidence that termination of the estradiol-induced luteinizing hormone surge in women is regulated by ovarian factors. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91:641-645.

De Beer F, Smelt AH, van Vark LC, et al. The effect of tibolone on the lipoprotein profile of postmenopausal women with type III hyperlipoproteinemia. *J Intern Med*, 2002, 251:148-55.

Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88:5452-5.

Delmas PD, Davis SR, Hensen J, et al. Effects of tibolone and raloxifene on bone mineral density in osteopenic postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2008, 8:1153-60.

Demerath EW, Towne B, Wisemandle W, et al. Serum leptin concentration, body composition, and gonadal hormones during puberty. *International journal of obesity*, 1999, 23: (7), 678-685.

Despres JP: Abdominal obesity as important component of insulinresistance syndrome. *Nutrition*, 1993, 9:452-459.

Dessolin S, Schalling M, Champigny O, et al. Leptin gene is expressed in rat brown adipose tissue at birth. *FASEB J*, 1997, 11:382-387.

Devogelaer JP: A review of the effects of tibolone on the skeleton. *Expert Opin Pharmacother*, 2004, 5:941-9.

Di Carlo C, Tommaselli GA, Di Spiezio Sardo A, et al. Longitudinal evaluation of serum leptin and bone mineral density in early postmenopausal women. *Menopause*, 2007, 14:450-454.

Donát J., Jirkalová V, Kubíček J, et al. A detailed study of gonadotropine fuction of the pituitary gland in women after castration. *Sborník vědeckých prací lékařské fakulty univerzity Karlovy*, 1983, 26(2):131-147.

Donát J. Endokrinologický pohled na profylaktickou kastraci. *Gynekolog*, 2001, 10(2):54-55.

Dören M, Rübige A, Coelingh Bennink H, et al. Differential effects on the androgen status of postmenopausal women treated with tibolone and continuous combined estradiol and norethindrone acetate replacement therapy. *Fertility and sterility*, 2001, 75(3): 554-559

Dostálová I, Kaválková P, Haluzíková D, Lacinová Z, Mráz M, Papežová H, Haluzík M: Plasma concentrations of fibroblast growth factors 19 and 21 in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93:3627-3632.

Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS et al. Adiponectin and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*, 2004, 53:2473-2478.

Elbers JM, de Roo GW, Popp-Snijders C, et al. Effects of administration of 17beta-oestradiol on serum leptin levels in healthy postmenopausal women. *Clin Endocrinol*, 1999; 51:449-54.

Ettinger B, Genant HK, Steiger P et al. Low-dose micronized 17-estradiol prevents bone loss in postmenopausal women. *AJOG*, 1992, 166:479-88.

Fait T. Tibolon tak trochu jiná HRT. *Praktická gynekologie*, 2003, 3:6-8.

Fait T. Tibolon v klinických studiích. *Farmakoterapie*, 2007, 3:266-290.

Farish E, Barnes JF, Fletcher CD et al. Effects of tibolone on serum lipoprotein and apolipoprotein levels compared with a cyclical estrogen/progestogen regimen. *Menopause*, 1999, 6:98-104.

Fernandez-Real JM, Castro A, Vázquez G et al. Adiponectin is associated with vascular function independent of insulin sensitivity. *Diabetes Care*, 2004, 27: 739-745.

Fisher RM, Eriksson P, Hoffstedt J, et al. Fatty acid binding protein expression in different adipose tissue depots from lean and obese individuals. *Diabetologia*, 2001;44:1268-1273.

Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 1998, 395:763-770.

Friso-S, Lamon-Fava S, Jang H, et al. Oestrogen replacement therapy reduces total plasma homocysteine and enhances genomic DNA methylation in postmenopausal women. *British Journal of Nutrition*, 2007, 97:617-621.

Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 2005-10.

Fu Y, Luo N, Lopes-Virella MF, et al. The adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene facilitates foam cell formation in human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis*, 2002, 165:259-269.

Fu Y, Luo N, Lopes-Virella MF. Oxidized LDL induces the expression of ALBP/aP2 mRNA and protein in human THP-1 macrophages. *J Lipid Res*, 2000, 41:2017-23.

Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, [Epub ahead of print].

Galván RE. Adiponectin concentrations during menstration cycle. *Gynecol obstetr Mex*, 2007, 75 (8): 435-438.

Gannagé-Yared MH, Fares F, Semaan M, Khalife S, Jambart S. Circulating osteoprotegerin is correlated with lipid profile, insulin sensitivity, adiponectin and sex steroids in an ageing male population. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006; 64:652-8.

Garaulet M, Perex-Llamas F, Fuente T, Zamora S, Tebar FJ. Anthropometric, computed tomography and fat cell data in an obese population: relationship with insulin, leptin, tumor necrosis factor- α , sex hormone-binding globulin and sex hormones. *Eur J Endocrinol*, 2000, 143:657-666.

Garnero P, Jamin C, Benhamou CL, et al. Effects of tibolone and combined 17 β -estradiol and norethisterone acetate on serum C-reactive protein in healthy post-menopausal women: a randomized trial. *Human Reproduction*, 2002, 17(10):2748-2753.

Geisthövel F, Jochmann N, Widjaja A, Horn R, Brabant G. Serum pattern of circulating free leptin, bound leptin, and soluble leptin receptor in the physiological menstrual cycle. *Fertility and Sterility*, 2004, 81:398-402.

Gill S, Sharpless JL, Rado K et al.. Evidence that GnRH decreases with gonadal steroid feedback but increases with age in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87:2290-2296.

Glatz JFC, van der Vusse GJ. Cellular fatty acid binding proteins: their function and physiological significance. *Prog Lipid Res*, 1996, 35: 243-282.

Godsland IF. Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on lipid, lipoprotein and apolipoprotein (a) concentrations: analysis of studies published from 1974–2000. *Fertil Steril*, 2001, 75:898-915.

Goralski KB, McCarthy T, Hanniman E, et al. Chemerin, a Novel Adipokine That Regulates Adipogenesis and Adipocyte Metabolism. *J. Biol. Chem.*, 2007, 282 (38):28175-28188.

Grady D, Herrington D, Bittner V. HERS II. Cardiovascular disease outcomes during 6–8 years of hormone therapy, *JAMA*, 2002, 288: 49-57.

Gravholt C, Hojbjerg S, Bennett P, et al. Reduced androgen levels in adult Turner syndrome: influence of female sex steroids and growth hormone status. *Clinical Endocrinology*, 1999, 50(6):791-800.

Grodstein , Stampfer MJ, Manson JE et al. Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease. *NEJM*, 1996; 335: 453-461.

Guo SS, Zeller C, Chumlea WC, et al. Aging, body composition, and lifestyle: the Fels Longitudinal Study. *Am J Clin Nutr*, 1999, 70:405-411.

Hadji P, Gorke K, Hars O, Bauer T, Emons G, Schulz KD. The influence of hormone replacement therapy (HRT) on serum leptin concentrations in postmenopausal women. *Maturitas*, 2000, 37:105-111.

Hadji P, Hars O, Bock K, et al. The influence of menopause and body mass index on serum leptin concentrations. *Eur J Endocrinol*, 2000, 143:55-60.

Hadji P, Hars O, Bock K, Sturm G, Bauer T, Emons G et al. The influence of menopause and body mass index on serum leptin concentrations. *Eur J Endocrinol*, 2000, 143:55-60.

Hajamor S, Després JP, Couillard C, et al. Relationship between sex hormone-binding globulin levels and features of the metabolic syndrome. *Metabolism*, 2003, 52 (6):724-730.

Hall N, White C, O'Sullivan A. J. The relationship between adiponectin, progesterone, and temperature across the menstrual cycle. *Journal of endocrinological investigation*, 2009, 32(3): 279-283.

Haluzík M, Pařízková J, Haluzík MM. Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. *Physiol Res*, 2004, 53: 123-129.

HAMPL R, KANCHEVA R, HILL M, et al. Interpretation of Sex Hormone-Binding Globulin Levels in Thyroid Disorders. *Thyroid*, 2003, 13(8):755-760.

Havel PJ. Update on adipocyte hormones. Regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes*, 2004, 53:143-151.

Hokanson JE, Austin MA: Plasma triglyceride is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*, 1996, 3:213-219.

Holt JA, Luo G, Billin AN, et al. Definition of a novel growth factor-dependent signal cascade for the suppression of bile acid biosynthesis. *Genes Dev*, 2003, 17:1581-1591.

Horner KC. The effect of sex hormones on bone metabolism of the otic capsule-an overview. *Hear Res.*, 2009, 252(1-2):56-60.

Hotamisligil GS, Johnson RS, Distel RJ, et al. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science*, 1996, 274:1377-9.

Hotta K, Funahashi T, Arita Y et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Tromb BASF Biol*, 2000, 20:1595-1599.

Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL et al. Circulating concentrations of adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes*, 2001, 50:1126-1133.

Housová J., Křížová J, Anderlová K, et al. Sérové koncentrace adiponectinu u pacientek s restriktivním a purgativním podtypem mentální anorexie: *Čas. Lék. čes.*, 2005, 144, 278-281.

Hughes DE, Dai A, Tiffée JC, et al. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF- β . *Nat Med*, 1996, 2:1132-1136.

Im JA, Lee JW, Lee HR, et al. Plasma adiponectin levels in postmenopausal women with or without long-term hormone therapy. *Maturitas*, 2006, 20, 54(1):65-71.

Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, et al. Endocrine regulation of the fasting response by PPAR α -mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab*, 2007, 5:415-425.

Itoh N, Ornitz DM: Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends Genet*, 2004, 20:563-569.

Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K et al. Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension. *Hypertension*, 2004, 43:1318-1323.

Jensen J, Nilas L, Christiansen C. Influence of menopause on serum lipids and lipoproteins. *Maturitas*, 1990, 12:321-331.

Juan-Ji A, Dong-He H, Dol-Mi K, Se-Hwa K, Yumie R, Eun-Jig L, Sung-Kil L. Expression and Regulation of Osteoprotegerin in Adipose Tissue, *Yonsei Med J*, 2007, 48(5):765-772.

Judd HL, Lucas WE, Yen SSC. Effect of oophorectomy on circulating testosterone and androstenedione levels in patients with endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol.*, 1974, 38:793–798.

Jürimäe J, Jürimäe T. Plasma adiponectin concentration in healthy pre- and postmenopausal women: relationship with body composition, bone mineral, and metabolic variables. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2007, 293(1):E42-7.

Jürimäe J, Rembel K, Jürimäe T, et al. Adiponectin is associated with bone mineral density in perimenopausal women. *Horm Metab Res.*, 2005,37:297-302.

Kaneda T, Nojima T, Nakagawa M et al. Endogenous production of TGF-beta is essential for osteoclastogenesis induced by a combination of receptor activator of NF-kappa B ligand and macrophage-colony-stimulating factor. *J Immunol*, 2000, 165:4254-4263.

Kannel WB, Cupples LA, Ramaswami R, et al. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham Study. *J Clin Epidemiol*, 1991, 44:183-190.

Karjalainen A, Paasilta M, Heikkinen J, et al.. Effects of peroral and transdermal oestrogen replacement therapy on glucose and insulin metabolism. *Clinical Endocrinology*, 2001, 54(2):165-173.

Karlsson C, Lindell K, Svensson et al. Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab.*, 1997, 82(12):4144-8.

Kern PA, Di Gregorio GB, Lu T et al. Adiponectin expression from human adipose tissue. Relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor- α expression. *Diabetes*, 2003, 52:1779-1785.

Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest*, 2005, 115:1627-1635.

Khastgir, G, Studd J, Holland A, et al. Anabolic effect of estrogen replacement on bone in postmenopausal women with osteoporosis: histomorphometric evidence in longitudinal study. *JCEM*, 2001, 86:289-95.

Kleiblová P. The influence of hormonal changes during menstrual cycle on serum adiponectin concentrations in healthy women. *Physiol. Research*, 2006, 55: 661-666.

Kremler F, Breban D, Oberkofler H, et al. Leptin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and CCAAT/enhancer binding protein-alpha mRNA expression in adipose tissue of humans and their relation to cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2000, 20:443.

Krotkiewski M, Bjorntorp P, Sjostrom L, et al. Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest*, 1983, 72:1150-1162.

Kubíček V. Hormonální substituční terapie androgeny pro muže. *Praktická gynekologie*, 2002, 6: 6-9.

Kuller L, Meilahn E, Lassila H, et al. Cardiovascular risk factors during first five years postmenopause in nonhormone replacement users. In: Forte T, ed. *Hormonal, metabolic, and cellular influences on cardiovascular disease in women*. Armonk: Futura, 1997, 273-287.

Kumada M, Kihara S, Ouchi N et al. Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase- 1 through interleukin-10 expression in human macrophages. *Circulation*, 2004, 109: 2046–2049.

Lahlou N, Issad T, Lebouc Y, et al. Mutations in the Human Leptin and Leptin Receptor Genes as Models of Serum Leptin Receptor Regulation. *Diabetes*, 2002, 51(6):1980-1985.

Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*, 2002, 288:2709–2716.

Lambrinouadaki I, Christodoulakos G, Panoulis C, Botsis D, Rizot D, Augoulea A, et al. Determinants of serum leptin levels in healthy postmenopausal women. *J Endocrinol Invest*, 2003, 26:1225-1230.

Lapidus L, Bengtsson C, Larsson B, et al. Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *Br Med J*, 1984, 289:1257-1261.

Laughlin GA, Yen SSC. Hypoleptinemia in Women Athletes: Absence of a Diurnal Rhythm With Amenorrhea. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 1997, 52(6):358-360.

Lei X, Peng X, Wu N, et al. Serum adiponectin, leptin level, and bone mineral density in postmenopausal women. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2009, 34 (6): 559-62.

Li Z, McNamara JR, Fruchart JC, et al. Effects of gender and menopausal status on plasma lipoprotein subspecies and particle sizes. *J Lipid Res*, 1996, 37:1886-1896.

Lihn AS, Pedersen SB, Richelsen B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes Rev*, 2005, 6: 13-21.

Lim S, Yoon JW, Choi SH, et al. Combined Impact of Adiponectin and Retinol-binding Protein 4 on Metabolic Syndrome in Elderly People: The Korean Longitudinal Study on Health and Aging. *Obesity (Silver Spring)*, 2009, [Epub ahead of print]

Lin KC. Changes of circulating leptin levels during normal menstrual cycle: relationship to estradiol and progesterone. *Kaohsiung Journal of Medical Science*, 1999, 15:597-602.

Lind T, Cameron EH and Hunter WM. Serum prolactin, gonadotrophin and oestrogen levels in women receiving hormone replacement therapy. *Br J Obstet Gynaecol*, 1978, 85:138-141.

Lindquist O. Intraindividual changes of blood pressure, serum lipids, and body weight in relation to menstrual status: results from a prospective population study of women in Goteborg. *Prev Med*, 1982, 11:162-172.

Liou H, Kahn PC, Storch J. Role of the helical domain in fatty acid transfer from adipocyte and heart fatty acid-binding proteins to membranes. *J Biol Chem*, 2002, 277:1806-1815.

Liu MY, Xydakis AM, Hoogeveen RC, Jones PH, Smith EO, Nelson KW, et al. Multiplexed analysis of biomarkers related to obesity and the metabolic syndrome in human plasma, using the Luminex- 100 system. *Clin Chem*, 2005, 51:1102-9.

Lloyd G, Patel NR, McGing EA et al. Acute effects of hormone replacement with tibolone on myocardial ischaemia in women with angina. *Int J Clin Pract*, 1998, 52:155-157.

Lönnqvist F, Arner P, Nordfors L, et al. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. *Nat Med*, 1995, 1:950-953.

Ludwig M, Klein HH, Diedrich K, Ortmann O. Serum leptin concentrations throughout the menstrual cycle. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2000, 263:99-101.

Lundasen T, Galman C, Angelin B, et al. Circulating intestinal fibroblast growth factor 19 has a pronounced diurnal variation and modulates hepatic bile acid synthesis in man. *J Intern Med*, 2006, 260:530-536.

Lutjen PJ, Findlay JK, Trounson AO, et al. Effect on plasma gonadotropins of cyclic steroid replacement in women with premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab*, 1986, 62:419-423.

Luukkaa V, Pesonen U, Huhtaniemi I, et al. Inverse Correlation between Serum Testosterone and Leptin in Men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1998, 83(9): 3243-3246.

Madeddu P, Emanuelli C, Varoni MV, et al. Regulation of bradykinin B₂-receptor expression by estrogen *British Journal of Pharmacology*, 2002, 121 (8):1763-1769.

Maeda K, Cao H, Kono K, et al. Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes. *Cell Metab*, 2005, 1:107-119.

Maeda K, Okubo K, Shimomura I et al. cDNA cloning and expression of a novel adipose-specific collagen like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 221: 286-289.

Makowski L, Boord JB, Maeda K, et al. Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. *Nat Med*, 2001, 7:699-705.

Makowski L, Brittingham KC, Reynolds JM, et al. The fatty acid-binding protein, aP2, coordinates macrophage cholesterol trafficking and inflammatory activity. *J Biol Chem*, 2005, 280:12888-12895.

Makowski L, Hotamisligil GS., Fatty acid binding proteins - the evolutionary crossroads of inflammatory and metabolit responses. *J Nutr*, 2004, 134:2464S-8S.

Mannucci E, Ognibene A, Becorpi A, et al. Relationship between leptin and oestrogens in healthy women. *European Journal of Endocrinology*, 1998, 139:198-201.

Martinez-Carpio PA, Fiol C, Hurtado I, Hurtado I, Arias C, Ruiz E, Orozco P, Corominas A. Relation between leptin and body fat distribution in menopausal status. *J Physiol Biochem*, 2003, 59:301-307.

Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.*, 1997, (9):1029-33.

Matsuzawa Y. Adiponectin: Identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. *Atheroscler Suppl*, 2005, 6:7-14.

Matthews KA, Kuller LH, Sutton-Tyrrell K, et al. Changes in cardiovascular risk factors during the perimenopause and postmenopause and carotid artery atherosclerosis in healthy women. *Stroke*, 2001, 32:1104-1111.

Matthews KA, Meilahn E, Kuller LH, et al. Menopause and risk factors for coronary heart disease. *N Engl J Med*, 1989, 321:641-646.

Messinis IE, Milingos SD, Alexandris E, et al. Leptin concentrations in normal women following bilateral ovariectomy. *Hum Reprod*, 1999; 14:913–18.

Milewicz A, Bidzińska B, Mikulski E, Demissie Tworowska U. Influence of obesity and menopause on serum leptin, cholecystokinin, galanin and neuropeptide levels. *Gynecol Endocrinol*, 2000, 13:1-8.

Milewicz T, Krzysiek J, Janczak-Saif A, et al. Zależność stężenia leptyny od wieku, poziomu insuliny, SHBG i hormonów płciowych u kobiet. *Endokrynologia Polska / Polish Journal of Endocrinology*, 2005, 6(56): 436-439.

Minocci A, Savia G, Lucantoni R, Berselli ME, Tagliaferri M, Calo G, Petroni ML, de Medici C, Viberti GC, Liuzzi A. Leptin plasma concentrations are dependent on body fat distribution in obese patients. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2000, 24:1139-1144.

Montague CT, Farooqi S, Whitehead J, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 1997, 387:903-908.

Morena M, Dupuy AM, Jausent I, et al. A cut-off value of plasma osteoprotegerin level may predict the presence of coronary artery calcifications in chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant.*, 2009, [Epub ahead of print]

Morris EP, Denton ERE, Robinson J et al. High resolution ultrasound assessment of the carotid artery: its relevance in postmenopausal women and the effects of tibolone on carotid artery ultrastructure. *Climacteric*, 199; 2:13-20.

Moyers JS, Shiyanova TL, Mehrbod F, et al. Molecular determinants of FGF-21 activity-synergy and cross-talk with PPAR γ signaling. *J Cell Physiol*, 2007, 210:1-6.

Muttukrishna S, Sharma S, Barlow DH, et al. Serum inhibins, estradiol, progesterone and FSH in surgical menopause: a demonstration of ovarian pituitary feedback loop in women. *Hum Repris*, 2002, 17:2535-2539.

Nabipour I, Larijani B, Vahdat K, et al. Relationships among serum receptor of nuclear factor-kappaB ligand, osteoprotegerin, high-sensitivity C-reactive protein, and bone mineral density in postmenopausal women: osteoimmunity versus osteoinflammatory. *Menopause*, 2009, 16(5):950-5.

Nagpal S, Patel S, Jacobe H, et al. Tazarotene-induced gene 2 (TIG2), a novel retinoid-responsive gene in skin. *J Invest Dermatol*, 1997, 109:91-95.

Nakamura Y, Shimada K, Fukuda D et al. Implications of plasma concentrations of adiponectin in patients with coronary artery disease. *Heart*, 2000, 90:528-533.

Nar A, Demirtas E, Ayhan A, et al. Effects of bilateral ovariectomy and estrogen replacement therapy on serum leptin, sex hormone binding globulin and insulin like growth factor-I levels. *Gynecol Endocrinol.*, 2009, 24:1-6. (Epub ahead of print)

Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, et al. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1492:203-206.

Nishiyama M, Makino S, Suemaru S, et al. Glucocorticoid Effects on the Diurnal Rhythm of Circulating Leptin Levels. *Hormone research*, 2000, 54:69-73.

Notelovitz M, Johnson M, Smith S et al. Metabolic and hormonal effects of 25-mg and 50-mg 17 β -estradiol implants in surgically menopausal women. *Obstet Gynecol*, 1987, 70:749-54.

Ntyintyane L, Panz V, Raal FJ, et al. Leptin, adiponectin, and high-sensitivity C-reactive protein in relation to the metabolic syndrome in urban South African blacks with and without coronary artery disease. *Metab Syndr Relat Disord*, 2009, 7:243-8.

Odabasi AR, Yuksel H, Kafkas S, et al. Effects of tibolone on abdominal subcutaneous fat, serum leptin levels, and anthropometric indices: a 6-month, prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Adv Ther*, 2006, 23:926-937.

Ogawa Y, Kuroshu H, Yamamoto M et al. BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104:7432-7437.

Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 2002, 106:2767-2770.

Ouchi N, Kihara S, Arita Y et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*, 1999, 100:2473-2476.

Ouchi N, Kihara S, Arita Y et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation*, 2001, 103:1057-1063.

Ouchi N, Kihara S, Funahashi T et al. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol*, 2003, 14(6):561-566.

Ouchi N, Kihara S, Funahashi T et al. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation*, 2003, 107:671-674.

Ödmark I, Carström K, Jonsson B, et al. Conjugated estrogen/progestagen versus tibolone hormone replacement therapy in postmenopausal women : Effects on carbohydrate metabolism and serum sex hormone-binding globulin. *Maturitas*, 2006, 53(1): 89-96.

Pajvani UB, Du X, Combs TP et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin: implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem*, 2003, 278:9073-85.

Panidis DK, Rousso DH, Kourtis AI, et al. The influence of tibolone upon serum leptin levels in post-menopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2001, 96:85-87.

Panidis DK, Rousso DH, Kourtis AI, et al. The influence of tibolone upon serum leptin levels in post-menopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2001, 96:85-87.

Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, et al. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Intern Med*, 2003, 163:427-436.

Pascot A, Despres JP, Lemieux I, et al. Deterioration of the metabolic risk profile in women. Respective contributions of impaired glucose tolerance and visceral fat accumulation. *Diabetes Care*, 2001, 24:902-908.

Pasquali R, Vicennati V. Determinants of sex hormone-binding globulin blood concentrations in premenopausal and postmenopausal women with different estrogen status. *Metabolism*, 1997, 46(1):5-9.

Plymate SR, Hoop RC, Jones RE et al. Regulation of sex hormone-binding globulin production by growth factors. *Metabolism*, 1990, 39(9):967-70.

Poehlman ET, Toth MJ, Ades PA, et al. Menopause-associated changes in plasma lipids, insulin-like growth factor I and blood pressure: a longitudinal study. *Eur J Clin Invest*, 1997, 27:322-326.

Poehlman ET, Toth MJ, Gardner AW. Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study. *Ann Intern Med*, 1995, 123:673-675.

Prelevic GM, Beljic T, Balint-Peric L et al. Metabolic effects of tibolone in postmenopausal women with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Maturitas*, 1998, 28: 271-276.

Rajatanavin R. Change in body weight after hormone replacement therapy in postmenopausal women is dependent on basal circulating leptin. *Maturitas*, 1998, 30:283-288.

Randell KM, Honkanen, RJ, Kroger H, et al. Does hormone replacement therapy prevent fractures in early postmenopausal women? *J. Bone Miner. Res*, 2002, 17:528-533.

Recker RR, Davies KM, Dowd RM et al. The effect of low-dose continuous estrogen and progesterone therapy with calcium and vitamin D on bone in elderly women. *Ann Intern Med*, 1999, 130:897-904.

Riad-Gabriel MG, Jinagouda SD, Sharma A, et al. Changes in plasma leptin during the menstrual cycle. *European Journal of Endocrinology*, 1998, 139:528-531.

Roh S, Song SH, Choi KC et al. Chemerin – A new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochem and Biophys Research Comm*, 2007, 362:1013-18.

Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, Leibel RL. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:3424-3427.

Rymer J, Crook D, Sidhu M, et al. Effects of tibolone on serum concentrations of lipoprotein(a) in postmenopausal women. *Acta Endocrinologica*, 1993, 128 (3): 259-262.

Saglam K. Insulin resistance and postmenopausal hormone replacement therapy. *Metab Syndr Relat Disord*, 2004, 4:234-40.

Samara A, Herbeth B, Aubert R, et al. Sex-dependent Associations of Leptin With Metabolic Syndrome-related Variables: The Stanislas Study. *Obesity (Silver Spring)*, 2009,. [Epub ahead of print]

Santamarina-Fojo S, Haudenschild C, Amar M. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 1998, 9:211-219.

Sarraf P, Frederich RC, Turner EM, et al. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia. *J Exp Med.*, 1997, 185(1):171-5.

Scheja L, Makowski L, Uysal KT, et al. Altered insulin secretion associated with reduced lipolytic efficiency in *ap2^{-/-}* mice. *Diabetes*, 1999, 48:1987-94.

Schulze MB, Simm EB, Shai I et al. Relationship between adiponectin and glycemic control, blood lipids, and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2004, 27:1680-1687.

Seed M, Knopp RH. Estrogens, lipoproteins and cardiovascular risk factors: an update following the randomized placebo-controlled trials of HRT. *Curr Opin Lipidol*, 2004, 13: 459-467.

Selby JV, Newman B, Quiroga J, et al. Concordance for dyslipidemic hypertension in male twins. *JAMA*, 1991, 265:2079-2084

Señaris R, Garcia-Caballero T, Casabiell X, et al. Synthesis of leptin in human placenta. *Endocrinology*, 1997, 138(10):4501-4.

Sieminska L, Wojciechowska C, Niedziolka D, Marek B, Kos-Kudla B, Kajdaniuk D, Nowak M. Effect of postmenopause and hormone replacement therapy on serum adiponectin levels, 2005, 54(12):1610-4.

Sharma AM and Chetty VT. Obesity, hypertension and insulin resistance. *Acta Diabetol*, 2005, 42: S3-S8.

Sharma K, Considine RV, Dunn M, et al. Plasma leptin is partly cleared by the kidney and is elevated in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 1997, 51(6):1980-5.

Shimada K, Miyazaki T, Daida H. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta*, 2004, 344: 1-12.

Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res*, 2004, 19:429-435.

Shimizu H, Shimomura Y, Nakanishi Y, et al. Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J Endocrinol*, 1997, 154:285-292.

Sieminska L, Wojciechowska C, Niedziolka D, et al. Effect of postmenopause and hormone replacement therapy on serum adiponectin levels. *Metabolism*, 2005, 54(12):1610-4.

Siemińska L, Wojciechowska C, Foltyn W, et al. The relation of serum adiponectin and leptin levels to metabolic syndrome in women before and after the menopause. *Endokrynol Pol.*, 2006, 57:15-22.

Silha JV, Krsek M, Škrhá JV, et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *European Journal of Endocrinology*, 2003, 149(4): 331-335.

Sluijmer AV, Heineman MJ, De Jong FH, Evers JLH. Endocrine activity of the postmenopausal ovary: the effects of pituitary down-regulation and oophorectomy. *J Clin Endocrinol Metab.*, 1995, 80:2163–2167.

Stein S, Bachmann A, Lössner U, et al. Serum levels of the adipokine FGF-21 depend on renal function. *Diabetes Care*, 2009, 32(1):126-8.

Stejskal D, Karpíšek M, Hanulova Z, et al. Chemerin is an independent marker of the metabolit syndrome in caucasian population - a pilot study. *Biomedical Papers*, 2008, 152(2):217-221.

Stejskal D, Růžička V, Adamovská S et al. Adiponectin concentrations as a criterion of metabolic kontrol in persons with type 2 diabetes mellitus? *Biomed Pápera*, 2003, 147:167-172.

Stejskal D, Karpisek M, Hanulova Z, et al. Chemerin is an independent marker of the metabolic syndrome in a Caucasian population – A pilot study. *Biomedical papers*, 2008, 152: 217-223.

Stejskal D. Disertační práce na téma: Leptinový receptor (možnosti jeho stanovení, ověření vybraných hypotéz, klinické aplikace), 2007.

Strandberg TE, Ylikorkala O, Tikkanen MJ. Differing effects of oral and transdermal hormone replacement therapy on cardiovascular risk factors in healthy postmenopausal women. *The American Journal of Cardiology*, 2003, 92(15):212-214.

Studd J, Arnala I, Kicovic PM, et al. A randomized study of tibolone on bone mineral density in osteoporotic postmenopausal women with previous fractures. *Obstet Gynecol*, 1998, 92:574-9.

Sumino H, Sumino H, Takahashi T, et al. Plasma adiponectin levels in post-menopausal women receiving hormone replacement therapy. *J Int Med Res*, 2004, 32(6):639-45.

Sutton-Tyrrell K, Wildman RP, Matthews KA, et al. Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: current concepts *Circulation*, 2005, 111(10):1242-9.

Studd JWW, Chakravarti S, Collins WP. Plasma hormone profiles after the menopause and bilateral oophorectomy. *Postgrad Med J.*, 1978, 54(Suppl 2):25-30.

Tan KC, Wat NM, Tam SC, et al. C-reactive protein predicts the deterioration of glycemia in Chinese subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care*, 2003, 26:2323-8.

Teirmaa T, Luukkaa V, Rouru J, et al. Correlation between circulating leptin and luteinizing hormone during the menstrual cycle in normal-weight women. *European Journal of Endocrinology*, 1998, 139:190-194.

The Writing Group for the PEPI Trial. Effect of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease factors in postmenopausal women. *JAMA*, 1995, 273:199-208.

Tikkanen MJ, Kuusi T, Nikkila EA, et al. Variation of postheparin plasma hepatic lipase by menstrual cycle. *Metabolism*, 1986, 35:99-104.

Tomlinsson E, Fu L, HULTGREN B, et al. Transgenic mice expressing human fibroblast growth factor-19 display increased metabolic rate and decreased adiposity. *Endocrinology*, 2002, 143:1741-1747.

Tommaselli GA, Di Carlo C, Di Spiezio Sardo A, et al. Serum leptin levels and body composition in postmenopausal women treated with tibolone and raloxifene. *Menopause*, 2006, 13:660-668.

Toscano V, Balducci R, Bianchi P, et al. Steroidal and non-steroidal factors in plasma sex hormone binding globulin regulation. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 1992, 43(5):431-437.

Toth MJ, Tchernof A, Sites CK, et al. Effect of menopausal status on body composition and abdominal fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2000, 24:226-231.

Tuncman G, Erbay E, Hom X, et al. A genetic variant at the fatty acid-binding protein aP2 locus reduces the risk for hypertriglyceridemia, type 2 diabetes, and cardiovascular disease *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006,103(18):6970-5.

Uemura H, Yasui T, Miyatani Y, et al. Circulating profiles of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in post-menopausal women. *J Endocrinol Invest*, 2008, 31(2):163-8.

Ulivieri FM, Piodi LP, Marchelli D, et al. Osteoprotegerin: a valid new marker of bone turnover in post-menopausal osteoporosis? *Journal of Orthopaedics and Traumatology* , 2005, 6(2):88-90.

Uysal KT, Scheja L, Wiesbrock SM, Bonner-Weir S, Hotamisligil GS. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2. *Endocrinology* ,2000, 141:3388-96.

Vaverková H, Novotný D, Karásek D et al. Adiponectin and its association with metabolic syndrome, inflammatory markers and dyslipidemic phenotypes. *Atheroscler Suppl*, 2005, 6:29-30.

Von Eckardstein A, Crook D, Elbers J et al. Tibolone lowers high density lipoprotein cholesterol by increasing hepatic lipase activity but does not impair cholesterol efflux. *Clin Endocrinol*, 2003, 58:49-58.

Von Eckardstein A, Schmiedem K, Hövels A. Lowering of HDL cholesterol in postmenopausal women by tibolone is not associated with changes in cholesterol efflux capacity or paraoxonase activity. *Atherosclerosis*, 2001, 159: 433-439.

Wang Y, Xu A, Knight C, et al. Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. *J Biol Chem*, 2002, 277:19521-9.

West SL, Scheid JL, De Souza MJ. The effect of exercise and estrogen on osteoprotegerin in premenopausal women *Bone*, 2009, 44(1):137-44.

Whitcroft SI, Crook D, Marsh MS, et al. Long-term effects of oral and transdermal hormone replacement therapies on serum lipid and lipoprotein concentrations. *Obstet Gynecol*, 1994, 84(2):222-6.

William P, Castelli MD, Robert J, et al. Incidence of Coronary Heart Disease and Lipoprotein Cholesterol Levels The Framingham Study. *JAMA*, 1986, 256(20):2835-2838.

Wilson PW, Kannel WB, Silbershatz H, et al. Clustering of metabolic factors and coronary heart disease. *Arch Intern Med*, 1999, 159:1104-1109.

Winkler UH, Sudik R. The effects of two monophasic oral contraceptives containing 30 mcg of ethinyl estradiol and either 2 mg of chlormadinone acetate or 0.15 mg of desogestrel on lipid, hormone and metabolic parameters. *Contraception*. 2009, 1:15-23.

Wittamer V, Franssen JD, Vulcano M., et al. Specific Recruitment of Antigen-presenting Cells by Chemerin, a Novel Processed Ligand from Human Inflammatory Fluids. *J. Exp. Med.*, 2003, 198:977-985.

Wittamer, V., Bondue, B., Guillaibert, A, et al. Neutrophil-Mediated Maturation of Chemerin: A Link between Innate and Adaptive Immunity, *J. Immunol*, 2005, 175:487-493.

Writing Group for the Women's Health Initiative I. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results. From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*, 2002, 288:321-333.

Wu F, Ames R, Evans MC, et al. Determinants of sex hormone-binding globulin in normal postmenopausal women. *Clinical endocrinology*, 2008, 54 (1): 81 – 87.

Xu A, Tso A, Cheung BM, Wang Y, et al. Circulating adipocyte-fatty acid-binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study. *Circulation*, 2007, 115:1537-1543.

Yamada M, Irahara M, Tezuka M, et al. Serum leptin profiles in the normal menstrual cycles and gonadotrophin treatment cycles. *Gynecologic and Obstetrical Investigation*, 2000, 49:119-223.

Yamauchi T, Kamon J, Ito Y et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolite effects. *Nature*, 2003, 423:762-769.

Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*, 2002, 8:1288-95.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med*, 2001, 7:941-6.

Yaoting G, Silha J, Murphy L. Sexual Dimorphism and Regulation of Resistin, Adiponectin, and Leptin Expression in the Mouse. *Obesity Research*, 2004, 12:1481-1491.

Yeung DCY, Xu A; Cheung CWS; Wat NMS, et al. Serum Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein Levels Were Independently Associated With Carotid Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2007, 27:1796.

Yiannakouris N, Melistas L, Yannakouli M, et al. The -2548G/A polymorphism in the human leptin gene promoter region is associated with plasma free leptin levels; interaction with adiposity and gender in healthy subjects. *Hormones*, 2003, 2:229-236.

Yura S, Ogawa Y, Sagawa N, et al. Accelerated puberty and late-onset hypothalamic hypogonadism in female transgenic skinny mice overexpressing leptin. *J Clin Invest*, 2000, 105(6):749-755.

Zabel BA, Silverio AM, Butcher EC, et al. Chemokine-like receptor 1 expression and chemerin-directed chemotaxis distinguish plasmacytoid from myeloid dendritic cells in human blood. *J Immunol*, 2003, 174:244-251.

Zabel, BA, Zuniga L, Ohyama T, et al. Regulation of Chemerin Bioactivity by Plasma Carboxypeptidase N, Carboxypeptidase B (Activated Thrombin-activable Fibrinolysis Inhibitor), and Platelets *Exp. Hematol*, 2006, 34:1021-1032.

Zamboni M, Armellini F, Milani MP, et al. Body fat distribution in pre- and postmenopausal women: metabolic and anthropometric variables and their interrelationships. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1992, 16:495-504.

Zhang X, Yeung DC, Karpisek M, et al. Serum FGF-21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes*, 2008, 57:1246-1253.

Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G et al. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events in patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13:134-141.

Zofková I. Relationships of hormones of adipose tissue and ghrelin to bone metabolism. *Vnitr Lek.* , 2009, 55(6): 560-4.

Zumbach MS, Boehme MW, Wahl P, Stremmel W, Ziegler R, Nawroth PP. Tumor necrosis factor increases serum leptin levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82(12):4080-2.