

# Adiponektin – parametr s protizánětlivým a protiaterogenním potenciálem

Novotný D.<sup>1</sup>, Vaverková H.<sup>2</sup>, Karásek D.<sup>2</sup>, Halenka M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc

<sup>2</sup>III. interní klinika LF a Fakultní nemocnice Olomouc

## SOUHRN

Adiponektin je hormon tukové tkáně, který je přítomen v krvi v poměrně vysokých koncentracích. Působí jako protektivní faktor při iniciaci a progresi aterosklerózy díky svým protizánětlivým a protiaterogenním vlastnostem. Jeho sérové hladiny jsou sníženy u obézních jedinců, pacientů s diabetem 2. typu, u pacientů s onemocněním koronárních arterií atd. Hladina adiponektinu pozitivně koreluje s hladinou HDL cholesterolu, negativně naopak s markery zánětu, inzulinové rezistence, triacylglyceroly a markery metabolismu na triacylglyceroly bohatých lipoproteinových částic, a dalšími adipokiny. Adiponektin působí jako ochranný faktor v rozvoji onemocnění spojených s obezitou. Protizánětlivý efekt může být hlavní složkou jeho kladného působení při potlačování kardiovaskulárních a metabolických onemocnění včetně aterosklerózy a inzulinové rezistence. Navíc se zdá, že vykazuje přímou biologickou aktivitu, a to mj. indukci klasické cesty aktivace komplementu. Gen pro adiponektin je polymorfní a v jeho blízkosti leží také susceptibilní lokusy pro DM 2. typu a metabolický syndrom. Tato přehledná práce se zabývá adiponektinem a jeho vztahem k ateroskleróze, popisuje některé polymorfismy na genu pro adiponektin a všírá si jeho protizánětlivého účinku.

**Klíčová slova:** adiponektin, ateroskleróza, metabolický syndrom, protizánětlivý efekt, genový polymorfismus.

## SUMMARY

**Novotný D., Vaverková H., Karásek D., Halenka M.: Adiponectin – a parameter with anti-inflammatory and anti-atherogenic potentials**

Adiponectin is an adipose tissue-derived hormone which circulates at relatively high concentrations in blood. Adiponectin has protective actions in the initiation and progression of atherosclerosis through anti-inflammatory and anti-atherogenic effects. Adiponectin serum levels are decreased in obesity, type 2 diabetes, and patients with coronary artery disease, etc. The level of circulating adiponectin correlates positively with HDL cholesterol, and negatively with inflammatory markers, markers of insulin resistance, triglyceride-rich lipoprotein particles, and other adipokines. Adiponectin displays protective actions on development of various obesity-linked diseases. The anti-inflammatory properties may be the major component of its beneficial effects on cardiovascular and metabolic disorders including atherosclerosis and insulin resistance. In addition, adiponectin displays a direct biological activity through the induction of a classical pathway of complement activation. The polymorphic gene for adiponectin is located in the close proximity of susceptibility loci for type 2 diabetes and metabolic syndrome. This review deals with adiponectin and its relationship to atherosclerosis, describes some adiponectin gene polymorphisms and focuses on its anti-inflammatory effects.

**Key words:** adiponectin, atherosclerosis, metabolic syndrome, anti-inflammatory effect, gene polymorphism.

Tuková tkáň tvořící více než 10 % tělesné hmotnosti je v současnosti považována nejen za rezervoár skladované energie, ale i za aktivní endokrinní tkáň. Produkuje celou řadu proaktivních látek, mezi něž patří také adipocytokiny (nebo adipokiny), které mají řadu důležitých metabolických efektů [1]. Jedním z nich je adiponektin, který je v krvi přítomen v poměrně vysokých koncentracích. Bývá označován také jako AdipoQ, ACRP30, apM1 nebo GBP28. Adiponektin hraje klíčovou roli ve vztahu k obezitě, DM 2. typu a inzulinové rezistenci (IR) [2].

Lidský adiponektin je protein obsahující 244 aminokyselin a je produkován apM1 cDNA transkriptem. Adiponektin se skládá ze dvou strukturně odlišných domén, přičemž C-terminální část je pravděpodobně zapojena do ochrany vůči ateroskleróze – obrázek 1. Spadá do superrodiny rozpustných kolagenů se strukturní homologií s kolagenem typu VIII, X, komplementem C1q a rodinou tumor nekrotického faktoru alfa (TNF- $\alpha$ ) [2]. V lidské plazmě je adiponektin přítomen v různých heterogenních formách – od velkých multimerických struktur o vysoké molekulové hmotnosti

po trimerickou formu. Monomerní forma je přítomna pouze v tukové tkáni. Biologická aktivita rozličných multimerických forem není doposud plně známa, zdá se však, že různé izoformy mají různě velký účinek u různých onemocnění.



Fig. 1. Structure of adiponectin (adapted from [2])

Gen pro adiponektin je lokalizován na 3q27, obsahuje 3 exony a 2 introny. V roce 2003 byly identifikovány sekvence DNA kódující dva receptory pro adiponektin: AdipoR1 a AdipoR2 [3]. Jsou umístěny na chromozomu 1 (1p36.13-q41), respektive 12 (12p13.31), a jsou exprimovány ve většině orgánů – AdipoR1 zvláště v kosterním svaly, zatímco AdipoR2 zejména v játrech. Receptory obsahují 7 transmembránových domén

a aktivují signální molekuly, jako jsou např. receptor aktivovaný proliferátory peroxizomů alfa (PPAR alfa) nebo AMPK systém (adenozinmonofosfátem aktivovaná proteinkináza) [3]. Gen pro adiponektin je polymorfní a je lokalizován v regionu, který mj. obsahuje susceptibilní lokusy pro DM 2. typu a metabolický syndrom (MS). Na genu byla zjištěna řada jednonukleotidových polymorfismů (SNPs) a missence mutací, a to zejména v exonech 2 a 3 a v oblasti genového promotéru. Jejich možné efekty jsou uvedeny dále v textu.

### Experimentální studie (vztah k ateroskleróze, funkcím endotelu, metabolické působení)

Na obrázku 2 jsou schematicky znázorněny některé antiaterogenní vlastnosti adiponektinu směrem k různým typům buněk, jež byly zjištěny na experimentálních modelech. Adiponektin negativně reguluje expresi TNF- $\alpha$  a C-reaktivního proteinu (CRP) v tukové tkáni, jeho exprese je naopak inhibována TNF- $\alpha$  a interleukinem 6 (IL-6). Adiponektin redukuje expresi vaskulárních a intracelulárních adhezivních molekul (VCAM 1, ICAM 1), E-selektinu, IL-8 a adhezi monocytů k lidským endoteliálním buňkám z aorty po jejich stimulaci TNF- $\alpha$  [4]. Ruší nebo zmenšuje proliferaci a migraci buněk hladkého svalstva indukovanou destičkovým růstovým faktorem (PDGF). Inhibuje aktivaci nukleárního faktoru kappa B v endoteliálních buňkách – tento efekt je částečně zprostředkován jeho schopností podpořit působení systému cyklický adenosinmonofosfát-proteinkináza A (cAMP-PKA).

V endoteliálních buňkách adiponektin tlumí také produkci reaktivních forem kyslíku (ROS) indukovanou vysokými hladinami glukózy, opět přes systém cAMP-PKA. Adiponektin inhibuje transformaci makrofágů na pěnové buňky, redukuje v nich intracelulární obsah esterů cholesterolu, a to supresí exprese scavenger receptorů třídy A (SR-A). V těchto buňkách adiponektin redukuje produkci TNF- $\alpha$ , která byla stimulovaná lipopolysacharidy. V prasečích makrofázích navozuje adiponektin produkci protizánětlivého interleukinu 10, tímto mechanismem také v lidských makrofázích zvyšuje produkci tkáňových inhibitorů metaloproteinázy 1. Soudobé klinické studie ukazují na pozitivní korelaci plazmatických hladin adiponektinu a IL-10 [5]. Ve shodě s výše uvedenými poznatky vykazuje adiponektin antiaterogenní působení na myších modelech. Adenoviry zprostředkovaná suplementace adiponektinem inhibuje formování aterosklerotických lézí a snižuje hladiny informačních ribonukleových kyselin (mRNA) SR-A, TNF- $\alpha$  a VCAM 1 v cévní stěně [6]. Je zajímavé, že na těchto modelech nemá adiponektin žádný efekt na hladiny glukózy a lipidové parametry. Autoři vyvozují závěr, že adiponektin ovlivňuje aterosogenezi prostřednictvím řady protizánětlivých efektů na makrofágy a cévní endotelium.

Velmi důležitý poznatek přinesla recentní práce popisující vztah adiponektin-imunitní systém. Adiponektin je schopen se vázat k řadě cílových molekul včetně poškozeného endotelu a včetně povrchu apoptotických buněk. Význam této vazby však není zcela

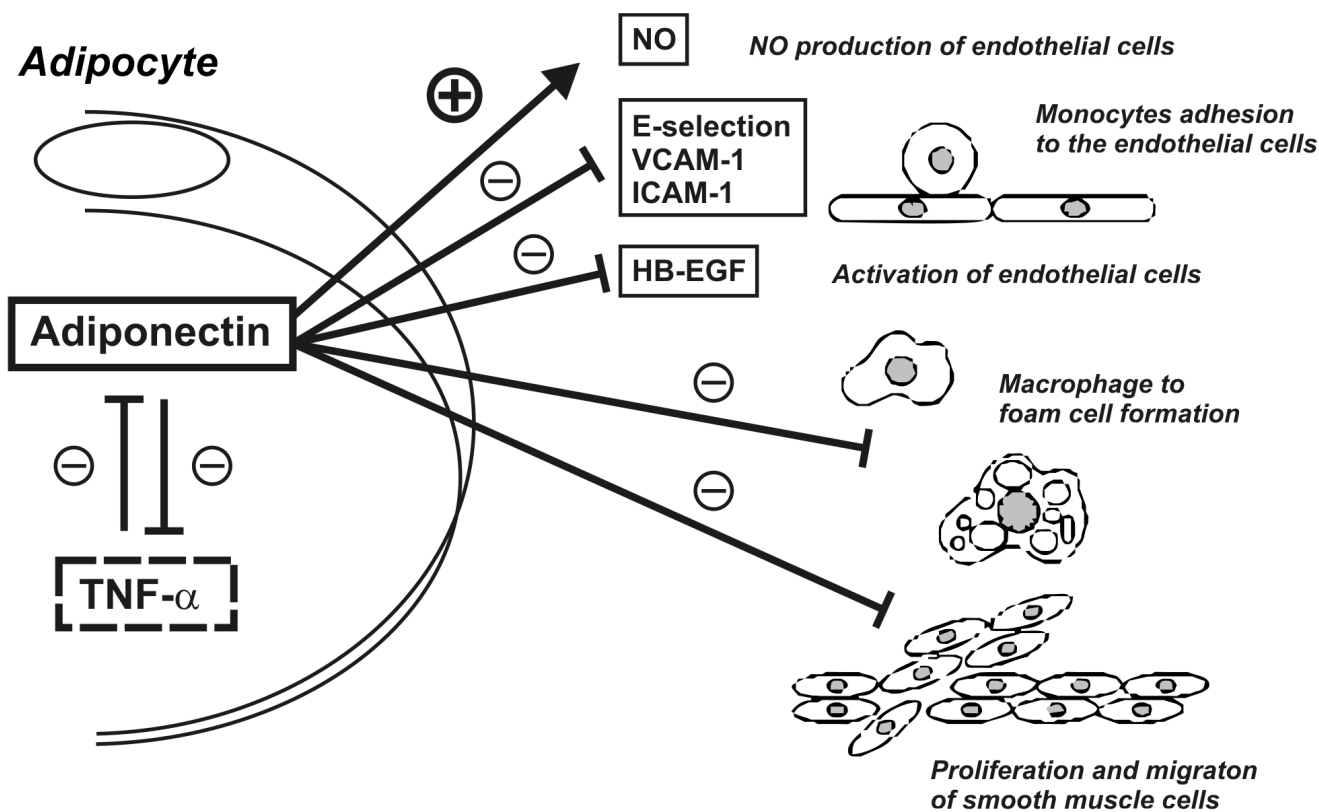


Fig. 2. Some of protective actions of adiponectin (adapted from [2])

zřejmý. Uvedená studie popisuje *in vitro* vazbu purifikované C1q složky komplementu k rekombinantnímu adiponektinu a závislost této vazby na přítomnosti vápenatých a hořečnatých iontů. Bylo zjištěno, že tato vazba podněcuje klasickou cestu aktivace komplementu. Adiponektin tedy nepůsobí jen jako protizánětlivý faktor, ale může indukovat biologickou aktivitu formou aktivace komplementu. Autoři vyslovují hypotézu, že při vazbě k C1q dochází ke konformačním změnám adiponektinu, což právě indukuje klasickou cestu aktivace komplementu. Adiponektin může hrát důležitou roli v imunitě svým přímým biologickým účinkem [7]. Existují též důkazy o akumulaci adiponektinu v arteriální stěně poškozených cév (nikoli však zdravých), což může vést k hypotéze o možnosti „konzumace“ cirkulujícího adiponektinu u pacientů s ischemickou srdeční chorobou.

Řada studií uvádí, že adiponektin vykazuje pozitivní efekt při udržování endoteliální homeostázy. Působí jako regulátor enzymu endoteliální syntázy oxidu dusnatého (eNOS), což je klíčová determinanta endoteliální funkce a angiogeneze (produkce NO potlačuje zánětlivou reakci v cévách), podporuje fosforylaci eNOS v endoteliálních buňkách, zvyšuje její expresi a znovu navozuje produkci po supresi její aktivity způsobené účinkem oxidovaných nízkodenzitních lipoproteinů (oxLDL) [8]. V kardiálních buňkách suprimuje adiponektin produkci TNF- $\alpha$  stimulací cesty cyklooxygenáza 2 (COX 2)-prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). COX 2 a její metabolity hrají důležitou ochrannou roli při myokardiální ischemii/reperfučním poškození. Působení adiponektinu podporuje expresi COX 2 a syntézu PGE<sub>2</sub> v kardiálních buňkách. Adiponektin zde také vykazuje antiapoptotické vlastnosti *in vitro*, podobně jako v endoteliálních buňkách. V srdci tedy působí adiponektin jako regulátor kardiálního poškození přes jeho protizánětlivý účinek a jako faktor zabráňující přestavbě srdeční tkáně. Aby se mohl adiponektin stát užitečným biomarkerem kardiovaskulárního rizika, je třeba zjistit, které jeho izoformy jsou kardioprotektivní a objasnit mechanismus jeho působení při různých patofyziologických stavech [7].

Vzrůstající počet prací na experimentálních modelech poukazuje na fakt, že adiponektin hraje důležitou ochrannou roli v rozvoji inzulinové rezistence a diabetu. U adiponektin-deficientních knockout myší (AD-KO) došlo k navození těžké inzulinové rezistence při podávání diety s vysokým obsahem tuků a/nebo sacharidů. Podáváním adiponektinu došlo k redukci hyperglykémie u diabetických myší bez ovlivnění hladin inzulinu; v jiné studii nastalo zvýšení oxidace mastných kyselin ve svalech a redukce plazmatických hladin glukózy, volných mastných kyselin a triacylglycerolů (TGL). Další práce na experimentálních zvířecích modelech ukazují na fakt, že podávání adiponektinu má příznivý efekt proti rozvoji obezity a s ní svázaných cévních onemocnění včetně aterosklerózy. Zdá se, že adiponektin působí nejen jako faktor zvyšující citlivost k inzulinu. Některé práce také ukazují, že jeho protektivní působení může být výsledkem jeho schopnosti tlumit produkci prozánětlivých cytokinů – adenoviry

zprostředkovaná suplementace adiponektinem vedla u AD-KO myší ke snížení hladin TNF- $\alpha$ . Tento efekt byl zároveň doprovázen zlepšením parametrů inzulinové rezistence [4].

## Klinické studie

### Vztah k obezitě a přidruženým syndromům

Ve vztahu k obezitě zjistila řada klinických studií významně snížené hladiny adiponektinu u obézních jedinců ve srovnání s jedinci s normálním body mass indexem (BMI) [např. 9]. Inverzní vztah k BMI byl zaznamenán u obou pohlaví, stejně jako negativní korelace adiponektinu s akumulací viscerálního tuku. Je zřejmé, že hypoadiponektinémie (hladiny obvykle menší než 4 mg/l) je spojena s rozvojem inzulinové rezistence a DM 2. typu, a to nezávisle na BMI, a s metabolickým syndromem. Nízké hladiny bývají považovány za nezávislý rizikový faktor pro rozvoj hypertenze. Kern et al. [9] ve své práci zkoumali expresi adiponektinu měřením jeho plazmatické koncentrace a hladiny mRNA v tukové tkáni u nediabetických jedinců s různým stupněm obezity a IR. Zjistili silnou korelaci těchto dvou parametrů, přičemž obézní jedinci měli významně nižší adiponektin v plazmě. Při BMI pod 30 kg/m<sup>2</sup> měly ženy dvojnásobek tělesného tuku, avšak adiponektin byl u nich v průměru o 65 % vyšší než u mužů (14,2 vs 8,6 mg/l). Jedinci s nejvyšší hladinou mRNA secernovali nejnižší hladiny TNF- $\alpha$  v tukové tkáni. Autoři poukazují na skutečnost, že exprese adiponektinu v tukové tkáni je nejvyšší u hubených jedinců a žen (rozdíly mezi pohlavími) a koreluje s vyšší hladinou indexu inzulinové senzitivity a nižší expresí TNF- $\alpha$ . Jiná studie zjistila, že exprese mRNA adiponektinu v tukové tkáni může odrážet krátkodobé energetické změny u některých obézních subjektů. Exprese adiponektinu a citlivost k inzulinu může být ovlivňována genetickými variacemi na genu pro adiponektin při odpovědi na akutní energetické výkyvy [10].

Metabolický syndrom charakterizovaný abdominální obezitou, dyslipidemií, hypertenzí a hyperglykemií představuje obecné riziko pro rozvoj aterosklerotických vaskulárních onemocnění. Studie provedená na 661 japonských jedincích [11] zjišťovala možné uplatnění adiponektinu jako biomarkeru metabolického syndromu. Jeho plazmatické hladiny negativně korelovaly s obvodem pasu, viscerálním tukem, koncentrací TGL, glykemií a inzulinémií nalačno, systolickým a diastolickým krevním tlakem, pozitivně pak s hladinou HDL cholesterolu. Se snižující se hladinou adiponektinu se naopak zvyšoval počet složek metabolického syndromu. Celkem 52 % mužů a 38 % žen s hladinou menší než 4 mg/l splňovalo kritéria MS. Autoři se domnívají, že hypoadiponektinémie těsně asociuje s klinickým fenotypem MS a měření adiponektinémie by mohlo být užitečné při léčbě MS. Saely et al. zjistili na skupině pacientů podstupujících koronární angiografii pro vyhodnocení srdečního onemocnění, že nízké hladiny adiponektinu jsou nezávisle spojeny jak

s metabolickým syndromem, tak s angiograficky potvrzenou koronární aterosklerózou [12]. Nejvyšší hladiny adiponektinu naměřili u jedinců bez MS a srdečního onemocnění ( $12,1 \pm 8,3$  mg/l), naopak nejnižší hladiny byly zjištěny u pacientů s MS a srdečním onemocněním ( $6,7 \pm 3,8$  mg/l). Další práce potom zjistila spojitost mezi sérovými adipokiny a metabolismem cholesterolu u jedinců s MS. U 58 subjektů s porušenou glukózovou tolerancí nebo zvýšenou glukózou nalačno a znaky MS byly stanovovány markery syntézy cholesterolu, určován poměr non-cholesterolových sterolů k cholesterolu, dietní podíl cholesterolu, a to ve vztahu k adipokinům a ultrasenzitivnímu CRP (hsCRP). Bylo zjištěno, že adiponektin, leptin a hsCRP byly spojeny s metabolity (variace) cholesterolu a že vysoký poměr syntézy cholesterolu k jeho absorpci je charakterizován vysokými hladinami sérového leptinu a nízkým adiponektinem [13].

### Vztah k srdečním chorobám

U pacientů s angiograficky dokumentovanou koronární aterosklerózou nebo akutním koronárním syndromem byla též zjištěna hypoadiponektinémie. U mužů významně predikoval plazmatický adiponektin rozsah koronární aterosklerózy [14]. Prospektivní studie pacientů s konečným stavem ledvinového selhávání uvádí inverzní vztah mezi adiponektiněmi a kardiovaskulárními příhodami. Vyšší adiponektin představoval nízké riziko infarktu myokardu u zdravých jedinců-mužů a středně snížené riziko onemocnění srdečních arterií u diabetiků-mužů [4]. Naproti tomu koncentrace adiponektinu významně nekorelovala s rizikem srdečního onemocnění ani u amerických indiánů, ani u britských žen. Velká prospektivní studie, zahrnující britské muže se srdečním onemocněním, kombinovaná s metaanalýzou dříve publikovaných sedmi prací zjistila jen slabou asociaci adiponektinu s onemocněním [4]. Tato nekonzistentní data by mohla být způsobena rozdíly ve studovaných populacích (etnikum, pohlaví, typ onemocnění). Každopádně zůstává nejasné, zda je hypoadiponektinémie spolehlivým indikátorem srdečních onemocnění, což musí objasnit další studie.

### Zánětlivé stavy

CRP bývá označován za nezávislý prediktor budoucího rizika pro kardiovaskulární příhody a rizikový faktor rozvoje MS. Jeho pozitivní asociace s BMI ho předurčuje jako užitečný biomarker pro chronické zánětlivé stavy svázané s obezitou. Plazmatické hladiny CRP negativně korelují s hladinami adiponektinu [15], což bylo potvrzeno řadou studií. Jelikož je mRNA CRP u lidí exprimována v tukové tkáni, může zřejmě adiponektin participovat na ovlivnění hladin CRP v plazmě cestou regulace jeho exprese. Na regulaci syntézy CRP v játrech se podílejí rovněž prozánětlivé adipokiny IL-6 a TNF- $\alpha$ . Na jedné straně je tedy exprese adiponektinu regulována prozánětlivými cytokiny, na straně druhé adiponektin moduluje působení a produkci TNF- $\alpha$  v různých tkáních. Řada studií zjistila spojení mezi hypoadiponektiněmi a zvýšenou hladinou IL-6 v séru. Doposud však neexistuje u lidí žádný důkaz o spojení

mezi adiponektinem a TNF- $\alpha$  v plazmě. Nishida et al. [16] popisují působení IL-6, adiponektinu, CRP a metabolického syndromu u subklinické aterosklerózy. Byl zjišťován relativní vliv těchto parametrů na skupině zdravých jedinců. U 714 mužů a 364 žen ve věku 40 až 59 let byla měřena tloušťka komplexu intima-media (IMT), pulzní průtoková rychlost krve a komponenty MS. Hladiny IL-6 korelovaly s parametrem IMT, zatímco adiponektin negativně koreloval s IMT pouze u mužů, nikoli u žen. Jedinci buď s vysokým IL-6, nebo hsCRP anebo nízkou hladinou adiponektinu měli zvýšenou IMT za přítomnosti MS. Zvýšení počtu složek MS bylo silněji vyjádřeno u žen než u mužů, a to zhoršením parametru IMT nebo průtokové rychlosti. Autoři se domnívají, že IL-6 a adiponektin jsou důležitými rizikovými faktory časných arteriálních alterací u mužů. V jiné studii byl u pacientů s onemocněním koronárních arterií zjišťován vztah adiponektinu k markerům zánětu, aterogenní dyslipidémii a srdečnímu onemocnění [17]. Sledovaní jedinci byli účastníky rehabilitačního programu s cílem redukce kardiovaskulárních rizikových faktorů. Po úpravě výsledků vzhledem k věku a pohlaví adiponektin asocioval pozitivně s hladinou HDL cholesterolu a také N-terminálního propeptidu natriuretického peptidu B (NT-proBNP), naopak negativní byla jeho asociace k triacylglycerolům. V této studii nebylo zjištěno jakékoli spojení s markery zánětu. Tytéž výsledky byly dosaženy po další adjustaci dat na BMI, příjem alkoholu, kouření, přítomnost diabetu a/nebo hypertenze, terapii hypolipidemiky a glukózu nalačno, nebyla tedy prokázána žádná asociace s markery zánětu. Autoři se domnívají, že hladiny sérového adiponektinu jsou spojeny s přítomností aterogenní dyslipidémie a s koncentrací NT-proBNP, ale nikoli s markery systémového zánětu (IL-6, hsCRP) u pacientů s manifestním koronárním srdečním onemocněním. Aterogenní dyslipidémie může být vazbou mezi adiponektinem a progresí aterosklerózy. Jako hypotéza je diskutována možnost, že role systémového zánětu jako části vztahu adiponektin-ateroskleróza se může během průběhu onemocnění snižovat, tj. že se uplatňuje spíše v ranějším stadiu rozvoje onemocnění.

### Genové varianty adiponektinu a jejich vztah k onemocnění

Jak již bylo uvedeno výše, gen pro adiponektin je lokalizován na 3. chromozomu 3q27 a obsahuje 3 exony a 2 vložené introny. Tento region též obsahuje susceptibilní lokusy pro DM 2. typu a metabolický syndrom. U lidského genu byl zjištěn sekvenční polymorfismus ve formě několika jednonukleotidových záměn (SNP) a řada missense mutací. Sekvenční analýza genu pro adiponektin u Japonců a kavkazské populace zjistila více než 10 SNPs, z nichž některé jsou spojeny s BMI, metabolickým syndromem, senzitivitou k inzulinu, hyperglykemií, DM 2. typu, hladinou adiponektinu v plazmě apod. Výsledky studií však dávaly rozporuplné, v některých případech navzájem protichůdné výsledky. V řadě případů byla provedena také analýza haplotypů sestavených z kombinace alel jednotlivých SNPs.



Kondo et al. analyzovali soubor japonských pacientů s DM 2. typu a soubor nondiabetických kontrol za účelem zjištění mutací na genu pro adiponektin [18]. Byly identifikovány 4 missense mutace v globulární doméně (I+164T, R+112C, H+241P, R+221S). Frekvence jedné z mutací, záměna I+164T, byla významně vyšší u pacientů než u kontrol, věkově i hmotnostně srovnatelných. Nosiči mutace měli nižší koncentraci adiponektinu v plazmě, navíc vykazovali přítomnost některého rysu charakteristického pro metabolický syndrom (hypertenzi, hyperlipidémii, diabetes, aterosklerózu). Hypoadiponektinémie byla přítom patrná již u heterozygotů I+164T i u nosičů mutace R+112C, avšak tato byla zjištěna pouze u 3 jedinců. Autoři se domnívají, že varianta I+164T je spojena s nízkou hladinou adiponektinu v plazmě a DM 2. typu. Jiná práce zkoumala genový lokus pro adiponektin jako kandidátní místo pro onemocnění srdečních arterií [19]. Předmětem této studie bylo 383 japonských pacientů s angiograficky potvrzeným onemocněním a 318 jedinců adjustovaných na věk a BMI. Analýza SNPs byla provedena za pomoci polymerázové řetězové reakce v reálném čase (rtPCR) a délkového polymorfismu restričních fragmentů (PCR-RFLP). U pacientů byl zjištěn vyšší výskyt mutace I+164T a nižší hladiny adiponektinu v plazmě, a to nezávisle na BMI. Subjekty s mutací vykazovaly klinický fenotyp metabolického syndromu. Je vysloven závěr, že u japonské populace je I+164T spojena s metabolickým syndromem a onemocněním koronárních arterií.

V další studii autoři Hara et al. zkoumali vztah dvou SNPs lokalizovaných na 2. exonu genu pro adiponektin (T+45G a G+276T) a DM 2. typu u japonské populace [20]. Subjekty s genotypem GG na pozici 45 nebo 276 měli zvýšené riziko DM ve srovnání s genotypy TT. Homozygoti GG +276 vykazovali vyšší index inzulínové rezistence a přítomnost alely G na pozici 276 byla charakterizována nižšími hladinami adiponektinu v plazmě u jedinců s vyšším BMI (GG: 10,4 mg/l, TT: 16,6 mg/l). Jiné výsledky ukázala práce zaměřená na určování vztahu mezi haplotypy genového lokusu pro adiponektin s obezitou a dalšími znaky metabolického syndromu na nediabetické kavkazské populaci [21]. Oba polymorfismy, T+45G a G+276T, významně korelovaly s IR, a to každý zvlášť. Jimi definovaný haplotyp byl také těsně spojen s řadou složek metabolického syndromu. Homozygoti-nosiči rizikového haplotypu TG (tj. jedinci s TT variantou +45 a GG variantou +276) měli vyšší tělesnou hmotnost, obvod pasu, krevní tlak, glukózu nalačno, inzulín, poměr cholesterol/HDL cholesterol a nižší adiponektin v plazmě po adjustaci na věk, pohlaví a tělesnou hmotnost. U druhé skupiny vyšetřovaných osob (614 kavkazských jedinců s DM 2. typu) byla potvrzena asociace rizikového haplotypu se zvýšenou tělesnou hmotností, nikoli však s DM. Je vyslovena hypotéza, že variabilita na genu pro adiponektin je sice spojena s obezitou a dalšími rysy inzulínové rezistence, avšak rizikový haplotyp je pravděpodobně markerem vazebné nerovnováhy s dosud neidentifikovaným polymorfismem, který

přímo ovlivňuje plazmatické hladiny adiponektinu a citlivost k inzulínu. Ke zcela odlišným poznatkům dospěli italská autoři, kteří na souboru 253 nediabetických jedinců sledovali dva výše zmíněné SNPs, na pozici +45 a +276 [22]. Nejistili žádnou asociaci SNP T+45G s inzulínovou rezistencí a sledovali asociaci G+276T s vyšším BMI, inzulínem a nižším adiponektinem, avšak nikoli u genotypů GG a/nebo GT, ale u genotypu TT. V následné diskusi autoři rozebírají možné příčiny těchto výsledků a opět docházejí k závěru již dříve uvedenému: existuje možnost dalšího SNP, mutace nebo genu, který je ve vazebné nerovnováze s uvedeným SNP +276 a který determinuje jeho působení.

Variace na genu pro adiponektin a následné riziko pro DM 2. typu u žen byly předmětem zájmu práce autorů Hu et al. [23]. Jednalo se o skupinu 642 náhodně vybraných žen s DM 2. typu a 995 kontrol participujících na studii Nurses' Health Study. Bylo mj. sledováno celkem 5 SNPs na genu pro adiponektin: C-11365G, A-4034C, A-3964G, T+45G a G+276T. Studie ne zjistila mezi skupinami žádné významné rozdíly ve frekvenci alel a genotypů. Významnou asociaci s rizikem DM vykazovali nosiči mutace T+276G, avšak pouze v kombinaci s variantou 12Ala na genu pro PPAR gama nebo obézní jedinci. Výsledky studie ukazují na možnou interakci mezi genotypy adiponektinu a PPAR gama nebo obezitou a poukazují na nutnost dalšího výzkumu.

Prospektivní studie z roku 2004 zaměřená na stanovení podílu SNPs na rozvoji syndromu IR u francouzské populace zjistila, že variace na genu pro adiponektin ovlivňují nárůst tělesné hmotnosti, distribuci tělesného tuku a rozvoj a nástup hyperglykémie, stejně jako hladiny sérového adiponektinu [24]. Na počátku tříleté studie normoglykemičtí jedinci, u kterých se během doby vyvinula hyperglykémie (diabetes nebo porušená glukózová tolerance), byli ovlivněni zejména dvěma SNPs: G-11391A a T+45G.

Zajímavou práci publikovali v roce 2006 v *Clinical Chemistry* Hegener et al. [25]. Šlo o prospektivní studii sledující riziko aterosklerotických onemocnění u jedinců, kteří neměli diabetes. Bylo sledováno 5 SNPs na genu pro adiponektin u 600 kavkazských jedinců-mužů s následnou aterosklerotickou příhodou (infarktem myokardu nebo mozkovou mrtvicí) a u 600 kontrol. Regresní analýza následně odhalila po adjustaci na potenciální rizikové faktory asociaci dvou variant se sníženým rizikem mozkové mrtvice (C-11377G a G-11066A). Studie poskytla důkaz o spojení specifických variant na genu pro adiponektin se sníženým rizikem mrtvice.

## Vlastní práce vztahující se k adiponektinu

V roce 2007 publikují Vaverková et al. v časopise *Atherosclerosis* studii hodnotící vztah adiponektinu v plazmě k rozpustným formám adhezivních molekul u pacientů s kardiovaskulárním onemocněním

nebo dyslipidemií [26]. Na 264 pacientech lipidového centra Fakultní nemocnice Olomouc, kteří nebyli léčeni hypolipidemikou minimálně 6 týdnů, byl zjištěn očekávaný pozitivní vztah mezi adiponektinem a HDL cholesterolem, dále k VCAM 1 a negativní vztah k hsCRP, což ukazuje na jeho antiaterogenní potenciál. Korelace s VCAM 1 však byla neočekávaná. V diskusi je vyslovena hypotéza, která vychází z poznatku, že adiponektin se akumuluje v arteriální stěně pouze v místech poškození endotelu nebo aterosklerotických plátech, tj. v těch samých místech, kde probíhá exprese VCAM 1. Adiponektin může být zřejmě přímo nebo nepřímo zahrnut do odstraňování ektodomén VCAM 1 z endoteliálního povrchu; tímto způsobem snižuje jejich efekt působení. Vysoké hladiny adiponektinu pravděpodobně chrání cévní stěnu před adhezí leukocytů a progresí aterosklerózy. Tento proces může být protektivní zejména v časnějších stádiích rozvoje onemocnění.

V jiné práci byl sledován možný vztah SNP +276 na genu pro adiponektin a markery inzulinové rezistence včetně lipidového a lipoproteinového profilu, ve skupině 176 dyslipidemických pacientů a jejich prvostupňových příbuzných [27]. GG genotyp byl spojen s vyšší hladinou celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a apolipoproteinu B, zatímco přítomnost alely T na pozici +276 byla spojena s vyšší koncentrací inhibitoru aktivátoru plazminogenu I (PAI-I) a vyšší hladinou ICAM 1 v plazmě. Genová varianta G+276T je pravděpodobně markerem jednoho nebo více haplotypů obsahujících kauzální polymorfismus podmiňující inzulinovou rezistenci. K vyhodnocení jejího vlivu na IR bude zapotřebí řady dalších studií.

## Závěr

Adiponektin je dalším perspektivním parametrem metabolického syndromu, aterosklerózy a přidružených syndromů. Jeho působení by mělo být zkoumáno v řadě dalších situací. Už nyní ale jeho stanovení v plazmě poskytuje cennou informaci, např. u pacientů s angiograficky prokázanou ischemickou chorobou srdeční, i když to všechny publikované práce bezvýjimečně nepotvrzují. Při jeho určování se lze opřít o skutečnost, že jeho hladiny vykazují žádnou nebo jen velmi malou cirkadiánní variabilitu, jeho koncentrace není závislá na lačnění, v čase vyazuje nízkou intraindividuální variabilitu, je přítomen v plazmě ve vysokých koncentracích a jeho hladinu lze ovlivnit dietou, životním stylem nebo medikací [28]. Zřejmě nejefektivnější cestou ke zvýšení hladin adiponektinu v plazmě, a tedy ke snížení kardiovaskulárního rizika u obézních jedinců, je snížení tělesné hmotnosti. Benefiční efekt mají také thiazolidindiony, které se používají k léčbě pacientů s DM 2. typu a které zvyšují jeho produkci a hladinu v plazmě.

V každém případě bude zapotřebí objasnit perspektivu jeho využití v řadě dalších studií.

## Literatura

1. **Funahashi, T., Nakamura, T., Shimomura, I. et al.** Role of adipocytokines on the pathogenesis of atherosclerosis in visceral obesity. *Intern. Med.*, 1999, 38, p. 202–206.
2. **Shimada, K., Miyazaki, T., Hiroyuki, D.** Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin. Chim. Acta*, 2004, 344, p. 1–12.
3. **Yamamouchi, T., Kamon, J., Ito, Y. et al.** Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 2003, 423, p. 762–769.
4. **Ouchi, N., Walsh, K.** Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin. Chim. Acta*, 2007, 380, p. 24–30.
5. **Choi, K. M., Ryu, O. H., Lee, K. W. et al.** Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2007, 75, p. 235–240.
6. **Okamoto, Z., Kihara, S., Ouchi, N. et al.** Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mouse. *Circulation*, 2002, 106, p. 2767–2770.
7. **Peake, P. W., Shen, Y., Walther, A., Charlesworth, J. A.** Adiponectin binds C1q and activates the classical pathway of complement. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008, doi: 10.1016/j.bbrc.2007.12.161.
8. **Motoshima, H., Wu, X., Mahadev, K., Goldstein, B. J.** Adiponectin suppresses proliferation and superoxide generation and enhances eNOS activity in endothelial cells treated with oxidized LDL. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004, 315, p. 264–271.
9. **Kern, P. A., Di Gregorio, G. B., Lu, T., Rassouli, N., Ranganathan, G.** Adiponectin expression from human adipose tissue. Relation to obesity, insulin resistance and tumor necrosis alpha expression. *Diabetes*, 2003, 52, p. 1779–1785.
10. **Liu, Y. M., Lacorte, J. M., Viguerie, N. et al.** Adiponectin gene expression in subcutaneous adipose tissue of obese women in response to short-term low calorie diet and refeeding. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, 88, p. 5881–5886.
11. **Ryo, M., Nakamura, T., Kihara, S. et al.** Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ. J.*, 2004, 68, p. 975–981.
12. **Saely, Ch. H., Risch, L., Hoefle, G. et al.** Low serum adiponectin is independently associated with both the metabolic syndrome and angiographically determined coronary atherosclerosis. *Clin. Chim. Acta*, 2007, 383, p. 97–102.
13. **Hallikainen, M., Kolehmainen, M., Schwab, U. et al.** Serum adipokines are associated with cholesterol metabolism in the metabolic syndrome. *Clin. Chim. Acta*, 2007, 383, p. 126–132.
14. **von Eynatten, M., Schneider, J. G., Humpert, P. M. et al.** Serum adiponectin levels are an independent predictor of the extent of coronary artery disease in men. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2006, 47, p. 2124–2126.
15. **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, p. 671–674.
16. **Nishida, M., Moriyama, T., Ishii, K. et al.** Effects of IL-6, adiponectin, CRP and metabolic syndrome on subclinical atherosclerosis. *Clin. Chim. Acta*, 2007, 384, p. 99–104.
17. **von Eynatten, M., Hamann, A., Twardella, D. et al.** Relationship of adiponectin with markers of systemic inflammation, atherogenic dyslipidemia, and heart failure in patients with coronary heart disease. *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 853–859.

18. **Kondo, H., Shinomura, I., Matsukawa, Y. et al.** Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes. *Diabetes*, 2002, 51, p. 2325–2328.
19. **Ohashi, K., Ouchi, N., Kihara, S. et al.** Adiponectin I164T mutation is associated with the metabolic syndrome and coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004, 43, p. 1195–2000.
20. **Hara, K., Boutin, P., Mori, Y. et al.** Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*, 2002, 51, p. 536–540.
21. **Menzaghi, C., Ercolino, T., Di Paola, R. et al.** A haplotype locus at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 2002, 51, p. 2306–2312.
22. **Filippi, E., Sentinelli, F., Trischitta, V. et al.** Association of the human adiponectin gene and insulin resistance. *E. J. Hum. Genet.*, 2003, doi:10.1038/sj.ejhg.5201120.
23. **Hu, F. B., Doria, A., Li, T. et al.** Genetic variation at the adiponectin locus and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes*, 2004, 53, p. 209–213.
24. **Fumeron, F., Aubert, R., Siddiq, A. et al.** Adiponectin gene polymorphism and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period. *Diabetes*, 2004, 53, p. 1150–1157.
25. **Hegener, H. H., Lee, I. M., Cook, N. R. et al.** Association of adiponectin gene variations with risk of incident myocardial infarction and ischemic stroke: a nested case-control study. *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 2021–2027.
26. **Vaverkova, H., Karasek, D., Novotny, D. et al.** Positive association of adiponectin with soluble vascular cell adhesion molecule sVCAM-1 levels in patients with vascular disease or dyslipidemia. *Atherosclerosis*, 2007, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.07.005.
27. **Novotny, D., Vaverkova, H., Karasek, D., Halenka, M.** Relationship between +276 G-T single nucleotide polymorphism (SNP) of adiponectin gene and markers of insulin resistance in dyslipidemic patients. *75<sup>th</sup> EAS Congress, Prague, Supplement of book of abstracts*, 2005, p. 7.
28. **Pischon, T., Rimm, E. B.** Adiponectin: a promising marker for cardiovascular disease. *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 797–799.

Tato práce vznikla za podpory grantu IGA MZ ČR číslo NR/9068-3/2006.

Do redakce došlo 20. 3. 2008.

Adresa pro korespondenci:  
Ing. Dalibor Novotný, Ph.D.  
Oddělení klinické biochemie  
Fakultní nemocnice Olomouc  
I. P. Pavlova 6  
775 20 Olomouc  
e-mail: dalibor.novotny@fnol.cz

## Zaujalo nás

### Rychlý test – nový test pro diagnostiku duodenální hypolaktázie

Ojetti, V., La Mura, R., Zocco, M. A., Cesaro, P., De Masi, E., Mazza, A. L., Cammarota, G., Gasbarrini, G., Gasbarrini, A.: Quick Test: A New Test for the Diagnosis of Duodenal Hypolactasia, *Digestive Diseases and Sciences*, 2008, 53, 6, p. 1589–1592.

Dechový vodíkový ( $H_2$ ) laktózový test (BT) je běžně používaným testem pro diagnostiku hypolaktázie. Bohužel jeho citlivost není vždy dostačující. V posledních letech byl vyvinut nový rychlý laktázový test (QLT) pro endoskopickou diagnostiku hypolaktázie dospělého typu. Cílem této studie bylo porovnání účinnosti nového QLT testu s tradičním  $H_2$  laktózovým BT pro diagnostiku hypolaktázie. Do studie bylo zařazeno 50 dyspeptických pacientů (19 mužů a 31 žen, věkový průměr  $38 \pm 6$ ). U všech nemocných byl proveden  $H_2$  laktózový BT a endoskopie horní části trávicí trubice. Dvě duodenální biopsie byly použity pro QLT (Biohit, Helsinky, Finsko). Duodenální biopsie byly inkubovány s laktózou v testovací destičce: u nemocných s normolaktázií vzniká barevná reakce jako výsledek hydrolyzované laktózy (pozitivní nález), zatímco bez reakce je výsledek u nemocných s mírnou nebo těžkou hypo-

laktázií (negativní nález). 22 nemocných z 50 (44 %) mělo pozitivní  $H_2$  laktózový BT. 21 z těchto nemocných vykazovalo mírnou nebo závažnou hypolaktázií pomocí QLT. Pokud se zaměříme na nemocné s negativním  $H_2$  laktózovým BT (28 z 50), tak u 24 byla prokázána normální laktázová aktivita v duodenální biopsii pomocí QLT, zatímco u 4 nemocných byla neshoda obou dvou testů. Tito nemocní byli znovu vyhodnoceni pomocí ( $CH_4$ ) a  $H_2$  laktózového BT a 3 z nich byli neprodukcující  $H_2$  s vysokou hodnotou produkce  $CH_4$ . Pouze 1 nemocný s pozitivním QLT zůstal negativní k laktózovému BT. Naše studie ukazuje velmi dobrou korelaci mezi  $H_2$  laktózovým BT a novým QLT v diagnostice hypolaktázie dospělého typu pro většinu nemocných. Nicméně QLT se ukazuje jako citlivější než  $H_2$  laktózový BT, umožňující definovat podskupinu nemocných s hypolaktázií dospělého typu s negativním výsledkem  $H_2$  laktózového BT. Na základě těchto zkušeností doporučujeme provádět tento levný a rychlý QLT test během horní endoskopie k vyhodnocení aktivity laktázy v duodenálních biopsiích.

(přeložil Petr Kocna)