

Pozitivní asociace adiponektinu s adipocytárním proteinem vázajícím mastné kyseliny u pacientů s nepříznivým dyslipidemickým fenotypem

Novotný D.¹, Vaverková H.², Karásek D.², Bartková M.¹, Lukeš J.¹

¹ Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc, Česká republika

² III. Interní klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc, Česká republika

SOUHRN

Cíl studie: Vyšetřili jsme 214 asymptomatických dyslipidemických jedinců rozdělených do dvou skupin, DLP1 (n = 66) a DLP2 (n = 148), podle hladiny triacylglycerolů (TG) a apolipoproteinu B (Apo B). Cílem studie bylo vyhodnotit vztah adiponektinu (ADP) s adipocytárním proteinem vázajícím mastné kyseliny (A-FABP), a dále zjistit jejich možnou asociaci s lipidovými parametry, markery inzulínové rezistence a markery hemostázy ve sledovaných skupinách.

Typ studie: prospektivní observační

Výsledky: Ve skupině DLP2 (TG \geq 1,5 mmol a/nebo Apo B \geq 1,2 g/l) byla nalezena pozitivní korelace adiponektinu s věkem, HDL cholesterolem, apolipoproteinem A1, N-terminálním prohormonem mozkového natriuretického peptidu, von Willebrandovým faktorem a A-FABP, a negativní korelace s body mass indexem, obvodem pasu, TG, aterogenním indexem plazmy, inzulínem, C-peptidem a proinzulínem. V téže skupině byla zaznamenána významná pozitivní korelace A-FABP s věkem, body mass indexem, obvodem pasu, C-reaktivním proteinem, N-terminálním prohormonem mozkového natriuretického peptidu, von Willebrandovým faktorem, inhibitorem aktivátoru plazminogenu-1, C-peptidem, proinzulínem a ADP. Po provedení vícečetné regresní analýzy byl zjištěn nezávislý vztah ADP s věkem (beta = 0,3764, $p < 0,0080$) a A-FABP (beta = 0,2062, $p = 0,0111$). Ve skupině DLP2 jsme dále pozorovali nezávislou asociaci A-FABP s body mass indexem (beta = 1,0375, $p = 0,0107$) a ADP (beta = 0,2322, $p = 0,0088$). Tyto výsledky nebyly dosaženy ve skupině DLP1.

Závěr: U pacientů s nepříznivým dyslipidemickým fenotypem byla zjištěna nezávislá reciproční asociace mezi ADP a A-FABP, která může být spojena s vyšším kardiovaskulárním rizikem.

Klíčová slova: dyslipidémie, adipokiny, adiponektin, A-FABP, von Willebrandův faktor

SUMMARY

Novotný D., Vaverková H., Karásek D., Bartková M., Lukeš J.: Positive association of adiponectin with adipocyte fatty acid binding protein in patients with unfavourable dyslipidemic phenotype

Objective: We examined 214 asymptomatic dyslipidemic individuals divided into two groups, DLP1 (n = 66) and DLP2 (n = 148), according to triglyceride (TG) and apolipoprotein B (Apo B) levels. The aim of our study was to evaluate the relationship of adiponectin (ADP) with adipocyte fatty acid binding protein (A-FABP), and to elucidate possible associations to lipid parameters, markers of insulin resistance and endothelial haemostatic markers in observed groups.

Design: prospective observational

Results: In DLP2 group (TG \geq 1.5 mmol and/or Apo B \geq 1.2 g/l), we found the positive correlations of ADP with age, HDL cholesterol, apolipoprotein A1, N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide, von Willebrand factor and A-FABP, and the negative correlation with body mass index, waist circumference, TG, atherogenic index of plasma, insulin, C-peptide and proinsulin. In the same group, the significant positive correlations of A-FABP with age, body mass index, waist circumference, C-reactive protein, N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide, von Willebrand factor, plasminogen activator inhibitor-1, C-peptide, proinsulin and ADP were observed. The multiple regression analysis with adipokines as dependent variables and correlated parameters as independent predictors revealed the independent positive relationship of ADP with age (beta = 0.3764, $p < 0.0080$) and A-FABP (beta = 0.2062, $p = 0.0111$). In DLP2 group, we also found the independent positive association of A-FABP with body mass index (beta = 1.0375, $p = 0.0107$) and ADP (beta = 0.2322, $p = 0.0088$), in contrast to DLP1 group.

Conclusion: The independent positive reciprocal association of ADP with A-FABP in subjects with unfavourable dyslipidemic phenotype could be related to the higher cardiovascular risk.

Keywords: dyslipidemia, adipokines, adiponectin, adipocyte fatty acid binding protein, von Willebrand factor

Úvod

Tukovou tkáň charakterizuje mj. aktivní produkce řady látek, včetně adipokinů. Tyto molekuly zprostředkovávají velmi důležité metabolické procesy [1]. Zánět tukové tkáně je charakterizován infiltrací mak-

rofágů a dalších prozánětlivých buněk. Proinflamační adipokiny vykazují nepříznivé působení na vaskulaturu, zejména podporou inzulínové rezistence (IR) a infiltrace monocytů do buněčné stěny [2].

Adiponektin je hormon tukové tkáně, který působí jako protektivní faktor při iniciaci a progresi ateroskle-

rózy vlivem jeho protizánětlivých a protiaaterogenních vlastností. Jeho sérové hladiny jsou sníženy u obézních jedinců, pacientů s diabetem 2. typu, u pacientů s onemocněním koronárních artérií apod. [3]. Hladina adiponektinu pozitivně koreluje s hladinou HDL cholesterolu, naopak negativně s markery zánětu, markery inzulinové rezistence, triacylglyceroly a markery metabolismu na triacylglyceroly bohatých lipoproteinových částic, a dalšími adipokiny [4]. 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 [5]. Nízké koncentrace adiponektinu nezávisle korelují s metabolickým syndromem i koronární aterosklerózou [6]. Výsledky soudobých epidemiologických studií však ukazují, že zvýšené hladiny ADP jsou spojeny jak se zlepšenou, tak i zhoršenou kardiovaskulární prognózou.

Adipocytární protein vázající mastné kyseliny je řazen mezi „nepříznivé“ adipokiny a pravděpodobně představuje nový marker a/nebo prediktor metabolického syndromu. Je dominantním cytoplazmatickým proteinem zralých adipocytů a regulátorem lipidového a glukózového metabolismu, přítomným také v makrofázích tukové tkáně. Jeho expresi indukují oxidované nízkodenzitní lipoproteiny (oxLDL) a vyšší hladiny A-FABP jsou asociovány se zvýšenou glykemií nalačno, triacylglyceroly, inzulinem, body mass indexem a obvodem pasu, a se sníženou hladinou HDL cholesterolu, zejména u pacientů s metabolickým syndromem [7].

V soudobé literatuře lze nalézt limitované informace o vzájemném vztahu adiponektinu s A-FABP u pacientů bez klinické manifestace aterosklerózy. V této studii jsme porovnávali, zda existuje asociace mezi sledovanými adipokiny, lipidovými parametry a dalšími rizikovými faktory IR, včetně hemostatických parametrů. Dále jsme zjišťovali, zda se tyto vztahy případně liší u dvou dyslipidemických skupin pacientů s odlišnými hladinami triacylglycerolů a/nebo apolipoproteinu B.

Materiál a metody

Design studie a sledování jedinci

Studie byla realizována v souboru asymptomatických dyslipidemických pacientů a jejich rodinných příbuzných. Tito jedinci byli poprvé vyšetřeni v Lipidové poradně III. interní kliniky Fakultní nemocnice Olomouc během období od ledna 2009 do března 2012. Všichni sledovaní byli testováni na přítomnost sekundární dyslipidémie, diabetu mellitu, hypothyroidismu, jaterního a renálního onemocnění a nefrotického syndromu. Další vylučující kritéria byla následující: přítomnost klinicky manifestní aterosklerózy prezentované onemocněním koronárních artérií, cerebrovaskulárním onemocněním a onemocněním periferních artérií, jakákoli hypolipidemická terapie v předchozích 8 týdnech před první návštěvou, hormonální terapie a klinická manifestace akutní infekce. Všem jedincům byla odebrána osobní a rodinná anamnéza a vyplnili dotazník mapující před-

chozí onemocnění, farmakoterapii a status kouření. Byl změřen krevní tlak, obvod pasu a určen body mass index (BMI). Studie byla schválena Etickou komisí lékařské fakulty a Fakultní nemocnice Olomouc a od všech participantů byl získán informovaný souhlas.

Jedinci, kteří splnili kritéria pro zařazení do studie (n = 214), byli dále rozděleni na skupinu DLP1 (n = 66, z toho 28 žen a 38 mužů) a skupinu DLP2 (n = 148, z toho 78 žen a 70 mužů). Kritériem pro zařazení do skupiny DLP2 byla hladina triacylglycerolů vyšší než 1,5 mmol/l a/nebo hladina apolipoproteinu B vyšší než 1,2 g/l [8].

Laboratorní analýza

Vzorky venózní krve byly odebírány ráno po 12hodinovém lačnění. Pro další analýzy bylo použito krevní sérum získané ze srážlivé krve, mimo stanovení hemostatických parametrů. Pro jejich analýzu byla odebrána nesrážlivá krev do zkumavky s 3,8% citranem sodným a po centrifugaci byla získána krevní plazma.

Rutinní biochemické parametry byly stanoveny na analyzátoru Modular SWA (Roche, Basilej, Švýcarsko) v den odběru krve. Koncentrace adipokinů a dalších speciálních analytů byly měřeny v alikvotech zamražených na -80 °C (-20 °C), ne déle než 6 měsíců.

Celkový cholesterol (TC), triacylglyceroly, glukóza a HDL cholesterol (HDLc) byly stanoveny enzymovými metodami (Roche, Basilej, Švýcarsko). Stanovení HDLc bylo provedeno za pomoci přímého stanovení, bez předchozí precipitace lipoproteinů obsahujících apolipoprotein B. LDL cholesterol (LDLc) byl kalkulován Friedewaldovým vztahem pro TG menší než 4,5 mmol/l. Dalšími počítanými parametry byly: non HDL cholesterol (nonHDLc = TC – HDLc) a aterogenní index plazmy (AI = log TG/ HDLc). Koncentrace apolipoproteinů A1 a B, stejně jako hladiny lipoproteinu (a) [Lp(a)] a C-reaktivního proteinu (CRP), byly stanoveny imunoturbidimetrickými metodami Tina-Quant (Roche, Basilej, Švýcarsko). Stanovení N-terminálního propeptidu mozkevého natriuretického peptidu B (NT-proBNP) bylo provedeno metodou ECLIA (Elecsys pro BNP kit, Roche, Basilej, Švýcarsko).

Hladiny inzulinu byly určeny komerčně dostupným kitem za použití IRMA metody (Immunotech, Marseille, Francie). C-peptid a proinzulin (PINS) byly stanoveny následujícími komerčními soupravami: C-peptide Kit (Immunotech, Marseille, Francie) a Proinsulin Kit (DRG Instruments GmbH, Marburg, Německo) radioimunochemickými metodami. Hemostatické markery byly stanoveny ze zvláštního alikvotu plazmy zamraženého na -20 °C, ne déle než 6 měsíců, za pomoci uvedených souprav: fibrinogen (koagulační metoda podle Clause, Technoclone, Vídeň, Rakousko), von Willebrandův faktor (vWF, imunoturbidimetrická metoda, Instrumentation Laboratory Spa, Milán, Itálie), inhibitor aktivátoru plazminogenu 1 (PAI-1) a tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA, oba ELISA, Technoclone, Vídeň, Rakousko).

Celkový adiponektin a A-FABP byly stanoveny kity Human Adiponectin ELISA Kit a Human A-FABP ELISA Kit (BioVendor, Brno, ČR), podle instrukcí výrobce

a po verifikaci obou metod. Byly použity alikvoty vzorků zamražené na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ne déle než 6 měsíců).

Statistická analýza

Všechny hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry \pm směrodatná odchylka (SD), parametry s nenormálním rozložením také jako mediány. Pro určení normality distribuce dat byl použit Kolmogorovův-Smirnovův test. Proměnné s nenormálním rozložením [CRP, TG, Lp(a), NT-proBNP, fibrinogen, vWF, tPA, PAI-1, inzulin, C-peptid, PINS] byly před statistickou analýzou logaritmičsky transformovány. Rozdíly v proměnných mezi skupinami byly stanoveny za pomoci ANOVA, po adjustaci na věk, pohlaví a BMI. Pro statistické vyhodnocení korelační analýzy mezi jednotlivými proměnnými byl použit Pearsonův korelační koeficient (normální distribuce) a univariální Spearmanova korelační analýza (nenormální distribuce). Lineární regresní analýza byla provedena pro testování případné nezávislé asociace mezi závislé a nezávislé proměnnými. Statistické zpracování dat bylo provedeno za pomoci programu SPSS for Windows, verze 12.0 (Chicago, IL, USA). Hodnota pravděpodobnosti $p < 0,05$ byla považována za statisticky významnou.

Výsledky

Základní klinické a laboratorní charakteristiky všech sledovaných subjektů a jedinců ve skupinách DLP1 a DLP2 jsou shrnuty v Tabulce 1. Pacienti ve skupině DLP2 měli vyšší BMI ve srovnání se skupinou DLP1. Kromě očekávaného nepříznivého lipidového profilu představovaného zvýšenými hladinami TC, TG, AI, nonHDL, LDLc, Apo B (vše s $p < 0,001$), a sníženými hladinami HDLc ($p < 0,001$) a Apo A1 ($p < 0,05$), jsme u nich zaznamenali signifikantně zvýšené hladiny CRP ($p < 0,05$). Z hemostatických parametrů byl významně zvýšen fibrinogen ($p < 0,01$). Sérové koncentrace adiponektinu byly signifikantně nižší ($p < 0,05$) ve skupině DLP2.

V Tabulce 2 jsou uvedeny signifikantní korelace adiponektinu s ostatními měřenými markery. Je zřejmé, že ve skupině DLP2 byla nalezena pozitivní korelace adiponektinu s věkem, HDLc, Apo A1, NT-proBNP, vWF a A-FABP, a negativní korelace s BMI, obvodem pasu, TG, AI, inzulinem, C-peptidem a PINS. U DLP1 pacientů nebyla z uvedených parametrů zjištěna jakákoli významná souvislost s TG, inzulinem, PINS a A-FABP.

Table 1. Basic characteristics of all individuals and subjects divided to DLP1 and DLP2 groups

	All individuals	DLP1	DLP2
	n = 214	n = 66	n = 148
Male/Female	108/106	38/28	70/78
Age years	46.7 \pm 14.5	46.1 \pm 15.9	47.0 \pm 13.7
BMI kg/m ²	26.99 \pm 4.75	25.00 \pm 4.06	27.85 \pm 4.78***
Waist cm	91.1 \pm 14.2	83.1 \pm 11.4	94.2 \pm 13.9
SBP mm Hg	128.7 \pm 15.2	127.6 \pm 12.6	129.3 \pm 16.2
DBP mm Hg	77.8 \pm 8.7	77.5 \pm 8.0	77.9 \pm 9.0
CRP mg/l	3.8 \pm 10.1 (1.6)	2.2 \pm 2.8 (1.0)	3.6 \pm 4.8 (2.0)*
TC mmol/l	6.69 \pm 1.84	5.62 \pm 0.93	7.17 \pm 1.94***
TG mmol/l	3.01 \pm 4.21 (1.77)	1.01 \pm 0.28 (1.01)	3.90 \pm 4.80 (2.51)***
AI	0.1931 \pm 0.4373	- 0.2192 \pm 0.2210	0.3770 \pm 0.3810***
nonHDL mmol/l	5.33 \pm 1.92	3.94 \pm 0.87	5.95 \pm 1.94***
HDLc mmol/l	1.37 \pm 0.46	1.68 \pm 0.49	1.23 \pm 0.37***
LDLc mmol/l	4.06 \pm 1.57	3.48 \pm 0.85	4.33 \pm 1.74***
Apo A1 g/l	1.54 \pm 0.37	1.67 \pm 0.41	1.48 \pm 0.34*
Apo B g/l	1.21 \pm 0.38	0.93 \pm 1.19	1.32 \pm 0.48***
Lp(a) g/l	0.399 \pm 0.465 (0.201)	0.389 \pm 0.384 (0.234)	0.403 \pm 0.497 (0.188)
NT-proBNP ng/l	65.7 \pm 82.1 (40.7)	72.3 \pm 69.9 (56.2)	62.8 \pm 86.9 (36.1)
Fibrinogen g/l	2.98 \pm 0.76 (2.80)	2.74 \pm 0.55 (2.60)	3.08 \pm 0.82 (2.98)**
vWF %	130 \pm 55 (118)	123 \pm 54 (112)	133 \pm 55 (120)
tPA μ g/l	3.35 \pm 2.43 (3.0)	2.88 \pm 0.91 (3.0)	3.40 \pm 2.17 (3.0)
PAI-1 μ g/l	65 \pm 42 (58)	56 \pm 38 (42)	69 \pm 44 (63)
Glucose mmol/l	5.38 \pm 1.04	5.12 \pm 0.59	5.50 \pm 1.17
Insulin mIU/l	10.3 \pm 6.6 (8.5)	8.1 \pm 4.8 (6.9)	11.3 \pm 7.1 (9.1)
C-peptide mg/l	2.7 \pm 1.4 (2.5)	2.3 \pm 1.2 (2.2)	2.9 \pm 1.5 (2.7)
PINS mIU/l	14.8 \pm 10.5 (11.4)	12.8 \pm 8.9 (9.9)	15.7 \pm 11.1 (12.0)
ADP mg/l	8.6 \pm 5.2	10.0 \pm 5.4	7.9 \pm 5.0*
A-FABP μ g/l	26.2 \pm 17.9	22.2 \pm 12.7	27.9 \pm 20.1

Table 1. – Continuation

Data are expressed as means \pm standard deviations, in parameters with skewed distribution also as medians (in parentheses). Differences in variables between groups were analyzed with ANOVA after adjustment for age, sex and BMI. Variables with skewed distribution [CRP, TG, Lp(a), NT-proBNP, vWF, tPA, PAI-1, insulin, C-peptide, PINS] were log transformed to normalize their distribution before statistical analyses. DLP1 subjects: Apo B < 1.2 g/l and/or TG < 1.5 mmol/l, DLP2 subjects: Apo B \geq 1.2 g/l and/or TG \geq 1.5 mmol/l. Significant differences between DLP1 and DLP2: *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001

Abbreviations: BMI, body mass index ; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; CRP, C-reactive protein; TC, total cholesterol; TG, triglycerides; AI, atherogenic index of plasma (log TG / HDLc); nonHDL= TC – HDLc; HDLc, high density lipoprotein cholesterol; LDLc, low density lipoprotein cholesterol; Apo, apolipoprotein; Lp(a), lipoprotein (a); NT-proBNP, N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide; vWF, von Willebrand factor; tPA, tissue plasminogen activator; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1; PINS, proinsulin; ADP, adiponectin; A-FABP, adipocyte fatty acid binding protein.

Table 2. Significant correlations of adiponectin with other parameters in DLP1 and DLP2 groups (r and p values)

	DLP1 n = 66	DLP2 n = 148
Age	0.325, p<0.01	0.225, p<0.01
BMI	-0.366, p<0.01	-0.198, p<0.05
Waist	-0.491, p<0.01	-0.257, p<0.01
TG	n.s.	-0.245, p<0.01
AI	-0.416, p<0.01	-0.287, p<0.01
HDLc	0.552, p<0.01	0.368, p<0.01
Apo A1	0.587, p<0.01	0.311, p<0.01
NT-proBNP	0.405, p<0.01	0.376, p<0.01
vWF	0.263, p<0.05	0.258, p<0.01
insulin	n.s.	-0.237, p<0.01
C-peptide	-0.265, p<0.05	-0.230, p<0.01
PINS	n.s.	-0.289, p<0.01
A-FABP	n.s.	0.227, p<0.01

DLP1 subjects: Apo B < 1.2 g/l and/or TG < 1.5 mmol/l, DLP2 subjects: Apo B \geq 1.2 g/l and/or TG \geq 1.5 mmol/l.

n.s., non-significant difference

Abbreviations: BMI, body mass index; TG, triglycerides; AI, atherogenic index of plasma (log TG / HDLc); HDLc, high density lipoprotein cholesterol; Apo, apolipoprotein; NT-proBNP, N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide; vWF, von Willebrand factor; PINS, proinsulin; A-FABP, adipocyte fatty acid binding protein.

Table 3. Significant correlations of A-FABP with other parameters in DLP1 and DLP2 groups (r and p values)

	DLP1 n = 66	DLP2 n = 148
Age	n.s.	0.205, p<0.05
BMI	0.359, p<0.01	0.339, p<0.01
Waist	n.s.	0.251, p<0.01
CRP	n.s.	0.188, p<0.05
NT-proBNP	n.s.	0.260, p<0.01
vWF	n.s.	0.301, p<0.01
PAI-1	0.274, p<0.05	0.210, p<0.05
insulin	0.521, p<0.01	n.s.
C-peptide	0.501, p<0.01	0.248, p<0.01
PINS	n.s.	0.188, p<0.05
ADP	n.s.	0.227, p<0.01

DLP1 subjects: Apo B < 1.2 g/l and/or TG < 1.5 mmol/l, DLP2 subjects: Apo B \geq 1.2 g/l and/or TG \geq 1.5 mmol/l.

n.s., non-significant difference

Abbreviations: BMI, body mass index; CRP, C-reactive protein; NT-proBNP, N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide; vWF, von Willebrand factor; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1; PINS, proinsulin; ADP, adiponectin; A-FABP, adipocyte fatty acid binding protein.

Stejnou analýzu, avšak s A-FABP namísto ADP, uvádí Tabulka 3. U jedinců zařazených do skupiny DLP2 jsme zjistili významnou pozitivní korelaci A-FABP s věkem, BMI, obvodem pasu, CRP, NT-proBNP, vWF, PAI-1, C-peptidem, PINS a ADP. U skupiny DLP1 pozitivně korelovaly pouze BMI, PAI-1, inzulin a C-peptid.

Pro vyhodnocení nezávislé asociace korelovaných parametrů s ADP a A-FABP byla následně provedena víceřadová regresní analýza s adipokiny jako závislémi proměnnými a korelovanými parametry jako nezávislými prediktory (Tabulka 4). U skupiny DLP2 byl zjištěn nezávislý vztah ADP s věkem (beta = 0,3764, p<0,0080)

Table 4. Association of adiponectin and A-FABP with correlated parameters in DLP1 and DLP2 groups. Multiple regression analysis with ADP and A-FABP as dependent variables (beta and p values).

	DLP1 n = 66	DLP2 n = 148
ADP		
Age	n.s.	beta = 0.3764 p = 0.0080
A-FABP	n.s.	beta = 0.2062 p = 0.0111
A-FABP		
BMI	n.s.	beta = 1.0375 p = 0.0107
insulin	beta = 0.4033 p = 0.0171	n.s.
ADP	n.s.	beta = 0.2322 p = 0.0088

DLP1 subjects: Apo B < 1.2 g/l and/or TG < 1.5 mmol/l, DLP2 subjects: Apo B ≥ 1.2 g/l and/or TG ≥ 1.5 mmol/l.

n.s., non-significant difference

Abbreviations: ADP, adiponectin; A-FABP, adipocyte fatty acid binding protein; BMI, body mass index.

a A-FABP (beta = 0,2062, p = 0,0111). V téže skupině jsme pozorovali nezávislou asociaci A-FABP s BMI (beta = 1,0375, p = 0,0107) a ADP (beta = 0,2322, p = 0,0088). Tyto výsledky nebyly dosaženy ve skupině DLP1, kde jsme zaznamenali pouze asociaci A-FABP s inzulinem (beta = 0,4033, p = 0,0171).

Diskuse

V naší práci jsme sledovali především pacienty, kteří jsou dispenzarizováni v lipidové poradně Fakultní nemocnice Olomouc bez zjevných známek kardiovaskulárního onemocnění, avšak s dyslipidemií. Současná terapeutická doporučení pro léčbu dyslipidemických pacientů jsou obecně založena především na LDL cholesterolu, který je využíván pro stratifikaci rizika i jako léčebný cíl, na jehož základě jsou vedeny intervenční terapeutické strategie [9]. Jeho stanovení je „vyšetřením první linie“. Naproti tomu je Apo B vesměs zmiňován jako parametr, který může být užitečný pro další charakterizaci pacientů s vysokým kardiometabolickým rizikem, se zvýšenou hladinou malých denzních LDL a dalších aterogenních lipoproteinů, které ne zcela odráží stanovení LDL cholesterolu [10,11]. V předkládané studii byly kritériální parametry pro zařazení do skupin zvoleny na základě hladin TG a Apo B podle Snidermana (2004) [8], který definuje tzv. dyslipidemické fenotypy. Již dříve bylo zjištěno, že množství malých denzních LDL částic v plazmě se významně zvyšuje od hladiny TG 1,5 mmol/l [12]. Některé studie dále ukazují na skutečnost, že Apo B může být lepším prediktorem koronárního rizika a aterosklerózy než hladiny TC, LDLc nebo nonHDLc [13,14]. Hladina 1,2 g/l u Apo B je zvolena proto, že od této hodnoty rapidně roste kardiovaskulární riziko. Tato hodnota koresponduje se 75. percentilem severoamerické populace [8]. Dělení dle uvedených kritérií

však nerozděluje zkoumané subjekty na normolipidemické a hyperlipidemické tak, jak dyslipidemií charakterizují soudobá odborná doporučení.

V souladu s vědeckou literaturou i našim očekáváním jsme zaznamenali u subjektů s vyššími hladinami TG a Apo B vyšší BMI a nepříznivější celkový lipidový a lipoproteinový profil. Z hemostatických markerů byl zvýšen po adjustaci hodnot na věk, pohlaví a BMI pouze fibrinogen. Ani mírně snížené hladiny ADP a statisticky nevýznamně zvýšené koncentrace A-FABP nejsou překvapující. Tyto souvislosti byly dříve zaznamenány např. u pacientů s metabolickým syndromem, jak je uvedeno v soudobé literatuře [6,15]. Zvýšené hladiny CRP, mohou ukazovat na zvýšený prozánětlivý stav u pacientů s nepříznivým dyslipidemickým fenotypem.

Korelační analýza ve skupině DLP2 potvrdila dříve publikované souvislosti obou adipokinů se sledovanými parametry. Mimo to jsme však zaznamenali méně očekávaná zjištění, a to v podobě pozitivní korelace ADP s vWF, NT-pro BNP a A-FABP. Podobně i A-FABP koreloval se jmenovanými parametry. Následná více-kroková regresní analýza však ukázala, že nezávislým prediktorem ADP je ve skupině DLP2 kromě věku jen A-FABP, zatímco hladiny A-FABP asociovaly kromě BMI právě s ADP.

V předchozí práci demonstrovala Vaverková et al. (2013) [16] u dyslipidemických subjektů pozitivní asociaci ADP s trombomodulinem, solubilními vaskulárními adhezivními molekulami (sVCAM-1) a vWF. Plazmatické hladiny vWF jsou u zdravých jedinců považovány za slabý nezávislý prediktor budoucího srdečního onemocnění [17], zatímco u pacientů s vaskulárním onemocněním a vyšším vWF je riziko budoucího infarktu myokardu mnohem větší [17, 18]. Soudobé poznatky ukazují, že vWF je spjat s rizikem aterosklerózy [18] a subklinické aterosklerózy u dyslipidemických pacientů [19]. Podobně i pozitivní korelace A-FABP s vWF podporuje roli obou parametrů při rozvoji endoteliální

dysfunkce u dyslipidemických jedinců. V této studii však pozbyl vztah adipokinů k vWF nezávislosti po provedení regresní analýzy.

Adiponektin je jedním z mála adipokinů, který vykazuje příznivé preventivní efekty na kardiovaskulární riziko, a to prostřednictvím jeho pleiotropního působení na cévy a srdce. Kardioprotektivní efekt je považován za jednu z jeho hlavních benefičních funkcí [20]. Antiapoptotická aktivita ADP reprezentuje pravděpodobně klíčový mechanismus, kterým ADP chrání před kardiálním poškozením [21]. V kardiomyocytech podporuje ADP snížení oxidačního stresu, apoptózy, fibrózy a zánětu, a zvyšuje uptake glukózy a mastných kyselin. Navzdory jeho ateroprotektivním vlastnostem však byla zjištěna asociace ADP jak se sníženým [22], tak se zvýšeným [23] rizikem kardiovaskulárního onemocnění a/nebo mortality.

A-FABP je klíčovým mediátorem spojujícím obezitu s kardiovaskulárními onemocněními [20]. Jeho proaterogenní aktivita je zprostředkována přímým působením na makrofágy, nezávisle na lipidovém metabolismu a inzulinové senzitivě [24]. Závěry studií prováděných na zvířatech podporují etiologickou úlohu A-FABP při rozvoji kardiovaskulárních komplikací [25]. A-FABP byl dříve identifikován jako hlavní kardiodepresant, který zesiluje supresní efekt adipocytů na srdeční kontraktilní funkci [26].

Nezávislá reciproční pozitivní asociace ADP s A-FABP ve skupině subjektů s nepříznivým dyslipidemickým fenotypem tedy může být spojena se vztahem těchto adipokinů zejména ke kardiovaskulárnímu systému a mohla by odrážet kompenzační odpověď ADP na vyšší riziko kardiovaskulárního onemocnění, které mj. představuje i mírně zvýšená hladina A-FABP a vyšší prozánětlivý stav. Oba parametry navíc korelovaly s NT-proBNP, který je považován za významný prognostický a diagnostický marker u pacientů se srdečním selháváním. Von Eynatten et al. (2006) [27] zkoumali ve své práci vztah ADP k zánětlivým markerům, aterogenní dyslipidémii a srdečnímu onemocnění u pacientů s onemocněním koronárních artérií. Po adjustaci dat na věk a pohlaví byla nalezena pozitivní asociace ADP s HDLc, a také s NT-proBNP. Několik studií dále popisuje vztah A-FABP s koronární aterosklerózou [28,29] a jeho možné role v rozvoji kardiální dysfunkce, včetně pozitivní korelace s NT-proBNP [30]. V této studii vzájemný vztah ADP a A-FABP k NT-proBNP pozbyl po provedení regresní analýzy statistické významnosti. Uvedené závěry jsou v souladu s naší předchozí studií, která vyhodnocovala vzájemné souvislosti mezi ADP, A-FABP a fibroblastovým růstovým faktorem 21 (FGF 21) u pacientů s metabolickým syndromem [31]. I zde byla mj. nalezena nezávislá asociace ADP a A-FABP pouze u rizikových jedinců.

Limitace studie

Jak je zmíněno výše, námi uvedená stratifikace subjektů do skupin dle uvedených kritérií nerozděluje zkoumané pacienty na normolipidemické a hyperlipidemické

tak, jak dyslipidémii charakterizují soudobá odborná doporučení. Pro větší zobecnění by bylo vhodné potvrdit závěry studie na dalších takto definovaných pacientských souborech.

Závěr

V naší studii jsme vyhodnotili vztah adiponektinu a A-FABP k lipidovým parametrům, markerům inzulinové rezistence a hemostatickým markerům v souboru asymptomatických jedinců rozdělených do skupin podle koncentrací triacylglycerolů a apolipoproteinu B. Zjistili jsme především vzájemnou pozitivní asociaci ADP s A-FABP, a to pouze ve skupině s nepříznivým dyslipidemickým fenotypem s vyšší hladinou TG a Apo B. Tato skutečnost by mohla být odrazem zvýšeného kardiovaskulárního rizika u těchto pacientů, i přes nepřítomnost symptomů kardiovaskulárního onemocnění.

Seznam zkratk

ADP	adiponektin
A-FABP	adipocytární protein vázající mastné kyseliny
AI	atherogenní index plazmy (log TG / HDLc)
ANOVA	analysis of variance, analýza rozptylu
Apo	apolipoprotein
BMI	body mass index
CRP	C-reaktivní protein
DBP	diastolický krevní tlak
HDLc	high density lipoprotein cholesterol
LDLc	low density lipoprotein cholesterol
Lp(a)	lipoprotein (a)
nonHDL	non HDL cholesterol (nonHDL = TC-HDLc)
NT-proBNP	N-terminální prohormon mozkového natriuretického peptidu
PAI-1	inhibitor aktivátoru plazminogenu-1
PINS	proinzulin
SBP	systolický krevní tlak
TC	celkový cholesterol
TG	triacylglyceroly
tPA	tkáňový aktivátor plazminogenu
vWF	von Willebrandův faktor

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. **Libby, P., Okamoto, Y., Rocha, V. Z., Folco, E.** Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice. *Circ. J.*, 2011, 74, p. 213-220.
3. **Shimada, K., Miyazaki, T., Hiroyuki, D.** Adiponektin and atherosclerotic disease. *Clin. Chim. Acta*, 2004, 344, p. 1-12.

4. **Ouchi, N., Walsh, K.** Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin. Chim. Acta*, 2007, 380, p. 24-30.
5. **Peake, P. W., Shen, Y., Walther, A. et al.** Adiponectin binds C1q and activates the classical pathway of complement. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008, 367, p. 560-565.
6. **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.
7. **Xu, A., Wang, Y., Xu, J. Y. et al.** Adipocyte fatty acid binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 405-413.
8. **Sniderman, A. D.** Applying apo B to the diagnosis and therapy of the atherogenic dyslipoproteinemias: a clinical diagnostic algorithm. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2004, 15, p. 433-438.
9. **Catapano A. L., Reiner Ž., De Backer G. et al.** ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis*, 2011, 217S, s. S1-S44.
10. **Kathiresan, S., Otvos, J. D., Sullivan, L. M. et al.** Increased small low-density lipoprotein particle number: a prominent feature of the metabolic syndrome in the Framingham Heart Study. *Circulation*, 2006, 113, p. 20-29.
11. **Rizzo, M., Berneis, K.** Small, dense low-density-lipoproteins and the metabolic syndrome. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2007, 23, p. 14-20.
12. **Griffin, B. A., Freeman, D. J., Tait, G. W. et al.** Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis*, 1994, 106, p. 241-253.
13. **Talmud, P. J., Hawe, E., Miller, G. J., Humphries, S. E.** Nonfasting apolipoprotein B and triglyceride levels as a useful predictor of coronary heart disease risk in middle-aged UK men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2002, 22, p. 1918-1923.
14. **Vaverkova, H., Karasek, D., Novotny, D. et al.** Apolipoprotein B versus LDL-cholesterol: association with other risk factors for atherosclerosis. *Clin. Biochem.*, 2009, 42, p. 1246-1251.
15. **Park, S. E., Rhee, E. J., Lee, W. Y. et al.** The role of serum adipocyte fatty acid-binding protein on the development of metabolic syndrome is independent of pro-inflammatory cytokines. *Nutr. Metab. Cardiovascular Dis.*, 2012, 22, p. 525-532.
16. **Vaverkova, H., Karasek, D., Novotny, D. et al.** Positive association of adiponectin with soluble thrombomodulin, von Willebrand factor and soluble VCAM-1 in dyslipidemic subjects. *Clin. Biochem.*, 2013, 46, p. 766-771.
17. **Whincup, P. H., Danesh, J., Walker, M. et al.** von Willebrand factor and coronary heart disease. Prospective study and meta-analysis. *Eur. Heart J.*, 2002, 23, p. 1764-1770.
18. **Spiel, A. O., Gilbert, J. C., Jilma, B.** von Willebrand factor in cardiovascular disease. Focus on Acute Coronary Syndromes. *Circulation*, 2008, 117, p. 1449-59.
19. **Karásek, D., Vaverková, H., Halenka, M. et al.** Endothelial haemostatic markers in members of families with familial combined hyperlipidemia. *Thromb. Res.*, 2009, 123, p. 466-475.
20. **Xu, A., Vanhoutte, P. M.** Adiponectin and adipocyte fatty acid binding protein in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2012, 302, p. H1231-H1243.
21. **Tao, L., Gao, E., Jiao, X., et al.** Adiponectin cardioprotection after myocardial ischemia/reperfusion involves the reduction of oxidative/nitrosative stress. *Circulation*, 2007, 115, p. 1408-1416.
22. **Frystyk, L., Berne, C., Berglund, L., Jensevik, K., Flyvbjerg, A., Zethelius, B.** Serum adiponectin is a predictor of coronary heart disease: a population-based 10-year follow-up study in elderly men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2007, 92, p. 571-576.
23. **Lindsay, R. S., Resnick, H. E., Zhu, J. et al.** Adiponectin and coronary heart disease: the Strong Heart Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, 25, p. e15-e16. doi: 10.1161/01.ATV.0000153090.21990.
24. **Hoo, R. C., Yeung, C. Y., Lam, K. S., Xu, A.** Inflammatory biomarkers associated with obesity and insulin resistance: a focus on lipocalin-2 and adipocyte fatty acid-binding protein. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.*, 2008, 3, p. 29-41.
25. **Furunahashi, M., Hotamisligil, G. S.** Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as a drug targets. *Nat. Rev. Drug Discover.*, 2008, 7, p. 489-503.
26. **Lamounier-Zepter, V., Look, C., Alvarez, J. et al.** Adipocyte fatty acid-binding protein suppresses cardiomyocyte contraction: a new link between obesity and heart disease. *Circ. Res.*, 2009, 105, p. 326-334.
27. **Von Eynatten, M., Hamann, A., Twardella, D., Nawroth, P. P., Brenner, H., Rothenbacher, D.** 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.
28. **Miyoshi, T., Onoue, G., Hirohata, A. et al.** Serum adipocyte fatty acid-binding protein is independently associated with coronary atherosclerotic burden measured by intravascular ultrasound. *Atherosclerosis*, 2010, 211, p. 164-169.
29. **Rhee, J., Lee, W. Y., Park, C. Y., et al.** The association of serum adipocyte fatty acid-binding protein with coronary artery disease in Korean adults. *Eur. J. Endocrinol.*, 2009, 160, p. 165-172.
30. **Zhou, M. I., Bao, Y., Lu, J., Zhou, J., Jia, W.** Serum A-FABP is increased and closely associated with elevated NT-proBNP levels in type 2 diabetic patients treated with rosiglitazone. *PLoS ONE*, 2011, 6, e27032. doi:10.1371/journal.pone.0027032.
31. **Novotny, D., Vaverkova, H., Karasek, D. et al.** Evaluation of total adiponectin, adipocyte fatty acid binding protein and fibroblast growth factor 21 levels in individuals with metabolic syndrome. *Physiol. Res.*, 2014, 63, p. 219-228.

Do redakce došlo 5. 5. 2014

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