

Zdravé osoby versus pacienti s diagnózou diabetes mellitus 2. typu – vybrané parametry v séru a v subkutánní abdominální tukové tkáni

R. Ben Yahia¹, R. Lichnovská¹, L. Janušová¹, G. Kuzmina¹, M. Karpíšek^{2,3}, P. Kollár³, J. Petřek¹

¹ Ústav fyziologie Lékařské fakulty UP, Olomouc, přednosta prof. MUDr. Josef Petřek, CSc.

² BioVendor Laboratoře Brno

³ Ústav farmakologie a toxikologie Farmaceutické fakulty Veterinární univerzity Brno, přednosta doc. MUDr. Jiří Nečas, CSc.

Souhrn: Endokrinní produkty adipocytů (PPAR γ , A-FABP, E-FABP, leptin, adiponektin a další) modulují citlivost tkání k účinkům inzulínu a podílejí se tak na etiopatogenezi diabetes mellitus 2. typu (DM2T). Osoby s DM2T charakterizují typické změny lipidového spektra (nižší koncentrace HDL-cholesterolu, vyšší koncentrace triacylglycerolů) a změněná endokrinní aktivita adipocytů podkožní tukové tkáně – adipocyty – produkují více A-FABP, E-FABP, PPAR γ a méně adiponektinu. *Cíl práce:* Stanovit u zdravých jedinců a u diabetiků s DM2T v séru a v abdominální podkožní tukové tkáni vybrané markery metabolického syndromu, získat základní statistické charakteristiky každého z testovaných parametrů a v rámci diskuse prezentovaných nálezů se pokusit vymezit jejich pravděpodobnou úlohu při vzniku a rozvoji metabolického syndromu. *Metodika:* U každého z účastníků studie (zdraví: 7 mužů, 8 žen; diabetici: 18 mužů, 11 žen) byly odebrány vzorky krve a abdominální subkutánní tkáň k vyšetření HDL, TAG, inzulínu, C-peptidu, glykemie, A-FABP, E-FABP, leptinu, adiponektinu, rezistinu, PPAR γ a TNF α . *Výsledky:* Ve většině případů dosahovaly průměrné hodnoty testovaných parametrů v séru vyšších hodnot u diabetiků než u zdravých, a to bez ohledu na pohlaví. Nižší hodnotu v séru vykazoval pouze adiponektin. Obdobná situace byla i v podkožní tukové tkáni – u diabetiků byly signifikantně vyšší koncentrace A-FABP, E-FABP a PPAR γ . Zjistili jsme také, že absolutní hodnota rozdílu sledovaného parametru u zdravých a diabetiků závisí na pohlaví. U žen diabetiček byla reálná hodnota zvýšení/snížení určitého parametru signifikantně vyšší než u mužů diabetiků. *Závěr:* Vysoké koncentrace A-FABP, E-FABP v séru a v podkožní tukové tkáni diabetiků, popřípadě vysoké koncentrace PPAR γ v jejich podkožní tukové tkáni, naznačují, že tyto parametry mají těsný vztah k obezitě a metabolickému syndromu. Lze proto předpokládat, že v blízké budoucnosti budou využívány v klinické praxi k diagnostice tohoto onemocnění.

Klíčová slova: A-FABP – E-FABP – PPAR γ – adiponektin – subkutánní tuková tkáň – diabetes mellitus 2. typu

Healthy persons versus patients with diabetes mellitus type 2 – chosen parameters in serum and subcutaneous abdominal adipose tissue

Summary: Endocrinal products of adipocytes (PPAR γ , A-FABP, E-FABP, leptin, adiponectin and others) modulate insulin tissue sensitivity enabling them to participate in the etiopathogenesis of diabetes mellitus type 2 (DM2T). Persons with DM2T are characterised by typical changes in lipid spectrum (lower HDL-cholesterol and higher TAG) and in the endocrinal function of subcutaneous adipose tissue; adipocytes produce more PPAR γ , A-FABP and E-FABP and less adiponectin. *Aims of the study:* To measure chosen markers of metabolic syndrome (MS) in serum and in abdominal subcutaneous adipose tissue in healthy persons and patients with DM2T, to determine basic statistical characteristics of investigated parameters and to discuss their role in the genesis and progress of the MS. *Methods:* Samples of blood and abdominal subcutaneous adipose tissue were collected from each participant (healthy: 7 men and 8 women; diabetics: 18 men, 11 women) to investigate the levels of HDL, TAG, insulin, C-peptide, glycaemia and the concentrations of A-FABP, E-FABP, leptin, adiponectin, resistin, PPAR γ and TNF α . *Results:* In most cases the average concentration of investigated parameters in serum was higher in persons with DM 2 regardless of gender. Lower values were only found for HDL and adiponectin. The same situation prevailed in the subcutaneous adipose tissue. Values of most other parameters (A-FABP, E-FABP, and PPAR γ) were also higher in patients. The values of measured parameters not only differed in healthy and in sick persons but depended on gender. The increase/decrease in concrete parameters was greater in diabetic women than diabetic men. *Conclusion:* Higher concentrations of A-FABP, E-FABP in serum and in subcutaneous adipose tissue in diabetic persons also higher concentrations of PPAR γ in subcutaneous adipose tissue suggest that these investigated parameters are closely associated with obesity and MS. We can assume that in the near future these parameters will be used in clinical work for diagnosis of this syndrome.

Key words: A-FABP – E-FABP – adiponectin – PPAR γ – subcutaneous adipose tissue – Diabetes mellitus type 2

Úvod

Diabetes mellitus 2. typu (DM2T) spojený s obezitou je považován za jeden z hlavních symptomů metabolického syndromu, který představuje významný rizikový faktor pro etiopatogenezi aterosklerózy, jejímž důsledkem je rozvoj kardiovaskulárních komplikací. Prevalence tohoto metabolického onemocnění v souvislosti s vyšším výskytem zvýšené tělesné hmotnosti a inzulínové rezistence neustále roste. V české dospělé populaci je nemocných s obezitou a nadváhou asi 70 % a diabetiků asi 6 % [1]. Epidemiologické studie ukazují alarmující fakta o výskytu tohoto syndromu u stále nižších věkových skupin – není výjimkou i jeho přítomnost v dětských věkových kategoriích.

K dalším příznakům metabolického syndromu patří odchylky v tvorbě adipocytokinů (zvýšené koncentrace fatty acid binding proteins – FABPs, PPAR γ , snížená koncentrace adiponektinu) a určitý typ dyslipidemie (zvýšené TAG, snížený HDL-cholesterol).

Problematika významu cytokinů produkovaných tukovou tkání v souvislosti s rozvojem metabolického syndromu je značně složitá a je předmětem mnoha studií. Publikované práce potvrzují jejich podíl na vzniku tohoto onemocnění, nicméně s rozporuplnými výsledky, které vyžadují další upřesnění [2–5].

V tukové tkáni jsou exprimovány 2 typy FABPs: adipose lipid binding protein (ALBP) a keratinocyte lipid binding protein (KLBP). Expres ALBP mRNA a příslušných proteinů je signifikantně vyšší v subkutánní než v omentální tukové tkáni. Uvedené může pravděpodobně souviset s vyšší úrovní bazální lipolýzy v subkutánních adipocytech než v adipocytech omentální tukové tkáně. Expres mRNA KLBP nevykazuje regionální rozdíly. U obézních jedinců byly prokázány signifikantní negativní korelace mezi sérovou koncentrací inzulínu a obsahem ALBP/KLBP, a to jak v subkutánní, tak v omentální tukové tkáni.

Izoformy FABPs ovlivňují senzitivitu k inzulínu, lipidový metabolismus a lipolýzu, a přispívají tak k rozvoji aterosklerózy. K rozvoji inzulínové rezistence, k množství intracelulárních mastných kyselin a ke vzniku pěnových buněk má vztah také A-FABP exprimovaný mimo jiné i makrofágy [6,7].

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), tj. receptory aktivované látkami zmnožující peroxizomy, jsou podskupinou superrodiny jaderných hormonálních receptorů transkripčních faktorů [8,9]. V současné době jsou běžně popisovány tři typy: PPAR α , PPAR δ/β a PPAR γ . Každý z uvedených typů je kódován samostatným genem a vykazuje různou tkáňovou distribuci [10]. PPAR γ patří k nejlépe prozkoumaným receptorům. Nejvíce jsou zastoupeny v tukové tkáni, kde se vyskytují obě jejich izoformy – PPAR γ_1 a PPAR γ_2 . V menším množství jsou exprimovány ve slezině, v buňkách hematopoetického systému a také v kosterních svalech, kde je zastoupena zejména izoforma PPAR γ_1 [11,12]. Informační RNA pro PPAR γ byla zjištěna také v játrech, ledvinách a tenkém střevě [13–16].

Receptory PPAR γ hrají významnou úlohu při adipogenezi, stimulují diferenciaci adipocytů, kterou doprovází zvýšená exprese specifických genů. Jedná se např. o geny adipocyte lipid-binding proteinu (ALBP) [17–19], acyl-CoA-syntázy (ACS) a fatty acid transport proteinu-1 (FATP-1) [20], které umožňují transport endogenních mastných kyselin přes plazmatickou membránu a jejich další esterifikaci. Ve hře jsou také geny fosfoenolpyruvátkarboxykinázy (PEPCK) a lipoproteinové lipázy (LPL). Metabolické receptory PPAR γ ovlivňují pravděpodobně také tvorbu a buněčný záchyt vlastních ligandů a aktivátorů. Jejich syntetické ligandy se staly účinnými léky inzulínové rezistence a DM2T. Ukazuje se, že se nukleární receptory účastní transkripční kontroly řady dalších buněčných procesů

(buněčný cyklus, zánět, ateroskleróza a imunomodulace) [21].

Adiponektin je nedávno objevený protein produkovaný tukovou tkání. Má protizánětlivé, antiaterogenní účinky a celkově ovlivňuje metabolismus. U lidí bylo zjištěno, že obezita a DM2T jsou asociovány s nízkou koncentrací adiponektinu. U myších modelů obezity a lipodystrofie redukováná exprese adiponektinu koreluje s inzulínovou rezistencí. Předpokládá se, že řada faktorů může ovlivňovat metabolismus a účinky inzulínu právě tím, že modulují sekreci adiponektinu [22–25], např. TNF α , který snížením exprese a sekrece adiponektinu snižuje inzulínovou senzitivitu.

Výše uvedená fakta jednoznačně ukazují, že endokrinní produkty adipocytů hrají důležitou úlohu při vzniku a rozvoji metabolického syndromu. Metabolické receptory PPAR γ , A-FABP, E-FABP, leptin, adiponektin a další modulují citlivost tkání k účinkům inzulínu, a podílejí se tak na etiopatogenezi DM2T. Osoby s DM2T charakterizují typické změny lipidového spektra (nižší koncentrace HDL-cholesterolu, vyšší koncentrace triacylglycerolů) a změněná endokrinní aktivita adipocytů podkožní tukové tkáně: adipocyty produkují více A-FABP, E-FABP, PPAR γ a méně adiponektinu. Tak jednoznačný závěr však nenalezneme ve všech pracích zabývajících se úlohou endokrinních produktů adipocytů při vzniku a rozvoji metabolického syndromu. Ve snaze přispět k řešení této problematiky jsme provedli studii, jejímž hlavním cílem bylo:

1. Získat základní statistické charakteristiky vybraných markerů metabolického syndromu u každého účastníka studie. Jednotlivé faktory byly stanovovány ve vzorcích séra a podkožní abdominální tukové tkáně zdravých mužů a žen a také ve vzorcích získaných od osob s DM2T.
2. Získaná data zpracovat s ohledem na zdravotní stav (zdraví vs. nemocní) a pohlaví účastníků studie

Tab. 1. Základní statistické charakteristiky testovaných parametrů v séru (S) a v podkožní abdominální tukové tkáni (T) u zdravých mužů a u mužů s DM2T.

parametr	jednotky	muži – zdraví			muži – diabetici			p < 0,05
		n	x	s	n	x	s	
věk		7	40,14	10,22	18	60,556	9,370	+
BMI		7	26,11	1,72	18	32,272	4,393	+
S_A-FABP	µg/ml	7	15,42	5,92	18	24,706	12,323	+
S_E-FABP	ng/ml	7	1,73	0,70	18	9,366	5,361	+
S_adiponektin	µg/ml	7	6,46	3,81	18	2,572	2,302	+
S_HDL	mmol/l	7	1,54	0,33	18	1,110	0,276	+
S_TAG	mmol/l	7	1,67	0,87	18	2,850	1,449	+
HOMA		7	1,42	0,29	18	5,851	4,556	+
T_A-FABP	µg/mg pr	7	12,23	2,44	18	26,409	4,131	+
T_E-FABP	ng/mg pr	7	6,41	2,53	18	10,117	2,743	+
T_adiponektin	µg/mg pr	7	1,63	0,36	18	1,348	0,360	NS
T_PPARγ	µg/mg pr	7	17,34	7,82	18	31,194	14,806	+

n – počet osob, x – průměr, s – standardní odchylka, + – rozdíl v průměrech je signifikantní, NS – statistická významnost nebyla prokázána

a posoudit, do jaké míry jsou pozorované rozdíly mezi skupinami statisticky významné.

Získané výsledky prezentuje předkládané sdělení.

Materiál a metodika

Výsledky, o nichž referujeme, byly získány vyšetřením vzorků krve a podkožní tukové tkáně, které byly získány od 25 mužů a 19 žen. Testování jedinci byli rozděleni do dvou skupin. První skupinu tvořili jedinci zdraví (7 mužů a 8 žen), druhou osoby s diagnózou DM2T (18 mužů a 11 žen). Průměrný věk (tab. 1 a 2) skupiny zdravých mužů byl 40 let, zdravých žen 29 až 30 let. U skupiny mužů/žen diabetiků byl průměrný věk vyšší, nicméně rozdíl ve věku mužů a žen s DM2T nebyl výrazný (muži 60 let, ženy 61 let).

U každého účastníka studie byly nalačno odebrány vzorky krve a podkožní tukové tkáně k vyšetření plánovaných parametrů. Oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice v Olomouci stanovovalo v dodaných vzorcích tyto parametry: cholesterol, HDL, LDL, TAG, inzulin, C-peptid a hladinu glykemie. Stanovovali jsme koncentrace A-FABP, E-FABP, koncentrace leptinu a adiponektinu, a to jak

v séru, tak ve vzorcích podkožní tukové tkáně. Kromě toho jsme v homogenátech vzorků tukové tkáně stanovovali koncentrace PPARγ, TNFα a rezistinu.

K získání vzorků podkožní abdominální tukové tkáně byl použit tzv. Bard Magnum System (Bard Magnum Biopsy Instrument Lubrication Pack) společnosti Bard Limited a bioptická jehla (Magnum Biopsy zx needle 14 × 10) společnosti AURA Medical, která byla před odběrem pevně spojena se systémem Bard Magnum. Do 2 minut po skončení odběru tukové tkáně byl vzorek zmrazen v tekutém dusíku a pak uložen do mrazícího boxu udržujícího teplotu -80 °C.

K homogenizaci vzorků tukové tkáně byl použit proteinový extrakt (Bug Buster) společnosti Novagen. Při zpracování homogenátu byla nejdříve stanovena celková koncentrace proteinů ve vzorku (BRADFORD metoda), a poté byla detekována přítomnost markerů.

Koncentrace adiponektinu, A-FABP a E-FABP v séru a v homogenátech tukové tkáně byly stanoveny pomocí ELISA sendvičových kitů společnosti Bio Vendor (Human A-FABP, E-FABP a Adiponectin ELISA BioVendor La-

boratory Medicine, Inc, ČR). K posouzení přítomnosti PPARγ ve vzorku byl použit Trans AM senzitivní kit od firmy Aktive Motif; speciální úprava softwaru pro vyhodnocování dat nám umožnila využít tento kit i ke kvantitativnímu stanovení koncentrace PPARγ.

Vyhodnocování výsledků bylo realizováno pomocí komplexu přístrojů (TECAN Multifunkční modulární Reader fy Sunrise vybavený filtry pro měření – 405/595 nm a 450/595 nm, PC se speciálním softwarem, tiskárna), který poskytl údaje charakterizující kvantitativně testovaný parametr. U homogenátů z tukové tkáně byla zjištěná hodnota dodatečně přepočtena na 1 mg proteinů.

Základní data získaná od zdravých osob i od diabetiků byla podrobena statistické analýze. Všechny analýzy, včetně grafického zpracování výsledků, byly provedeny pomocí softwaru americké provenience StatSoft Software Package verze 6 (StaSoft, Tulsa, OK). Kromě základních statistických charakteristik byly u zdravých i u diabetiků vypočítány hodnoty indexů HOMA IR a QUICKI (charakterizují lépe momentální stav sacharidového

Tab. 2. Základní statistické charakteristiky testovaných parametrů v séru (S) a v podkožní abdominální tukové tkáni (T) u zdravých žen a u žen s DM2T.

parametr	jednotky	muži – zdraví			muži – diabetici			p < 0,05
		n	x	s	n	x	s	
věk		8	29,50	3,70	11	61,455	11,852	+
BMI		8	21,53	1,72	11	29,527	3,403	+
S_A-FABP	μg/ml	8	16,93	8,93	11	30,982	18,914	+
S_E-FABP	ng/ml	8	5,87	4,59	11	6,126	3,104	NS
S_adiponektin	μg/ml	8	14,47	5,79	11	2,918	1,758	+
S_HDL	mmol/l	8	1,70	0,18	11	1,346	0,419	+
S_TAG	mmol/l	8	1,31	0,72	11	2,008	0,988	NS
HOMA		8	1,89	0,95	11	7,376	5,774	+
T_A-FABP	μg/mg pr	8	12,94	1,50	11	28,897	4,255	+
T_E-FABP	ng/mg pr	8	7,43	1,98	11	11,827	2,576	+
T_adiponektin	μg/mg pr	8	1,99	0,60	11	1,102	0,404	+
T_PPARG	μg/mg pr	8	20,97	10,51	11	24,657	11,908	NS

n – počet osob, x – průměr, s – standardní odchylka, + – rozdíl v průměrech je signifikantní, NS – statistická významnost nebyla prokázána

Tab. 3. Vícerozměrné testy významnosti: vyšetřované parametry v séru a v subkutánní abdominální tukové tkáni.

Efekt	Tabulka všech efektů: základní data – sérum a tuková tkáň sigma omezená parametrizace dekompozice efektivní hypotézy					
	Test	Hodnota	F	Efekt df	Chyba df	p
absolutní člen	Wilksův	0,000822	1158,266	21	20	0,000000
subjekt Z/D	Wilksův	0,054997	16,365	21	20	0,000000
pohlaví	Wilksův	0,214354	3,491	21	20	0,003509
subjekt Z/D × pohlaví	Wilksův	0,308834	2,131	21	20	0,048044

Subjekt Z/D – zdraví/diabetici, Efekt df – variabilita mezi skupinami, Chyba df – variabilita uvnitř skupin.

metabolizmu než samotná hladina glykemie) a hodnota BMI.

Výsledky

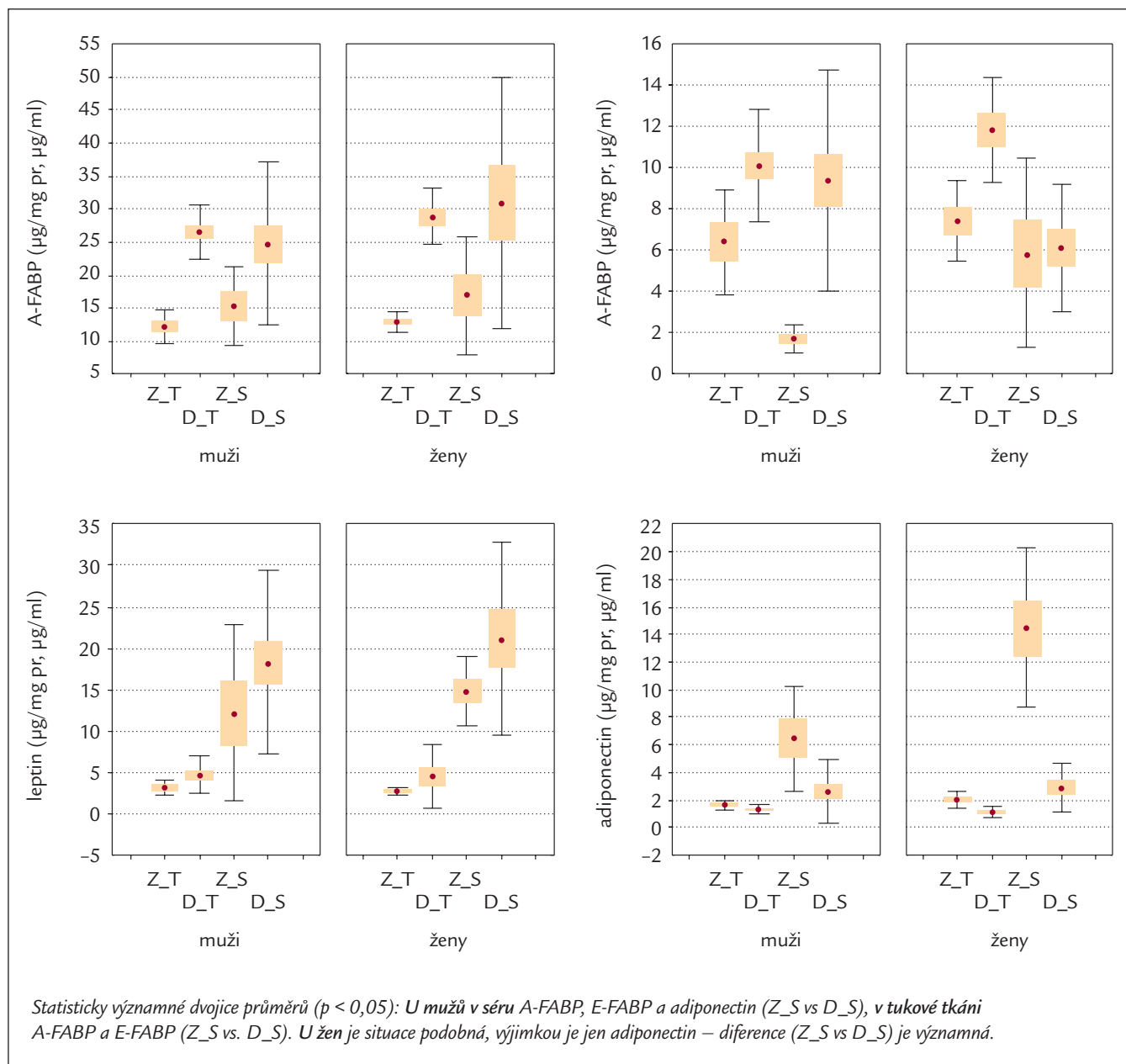
Tab. 1 a 2 shrnují základní statistické charakteristiky vyšetřovaných parametrů v séru a v podkožní abdominální tukové tkáni u zdravých jedinců (7 mužů a 8 žen) a u osob s DM2T (18 mužů a 11 žen). Mnohorozměrná analýza vyšetřovaných parametrů v séru a v tukové tkáni (tab. 3) prokázala, že rozdíly mezi nezávislými proměnnými (zdraví vs nemocní, muži vs ženy) jsou statisticky významné. Kromě toho výsledky odhalily existenci vzájemných interakcí ($p < 0,05$) mezi nezávislými proměnnými (zdravotní

stav, pohlaví), tj. ukázaly, že hodnoty vyšetřovaných parametrů v séru a v tukové tkáni zdravých a diabetiků ovlivňuje pohlaví testovaných osob.

Podrobnější inspekce tab. 1 a 2 ukazuje, že skupinu zdravých mužů a mužů diabetiků, a podobně je tomu i u skupiny zdravých žen a žen diabetiček, charakterizují v séru odlišné hodnoty téhož parametru. Ve většině případů jsou průměrné hodnoty testovaných parametrů statisticky signifikantně vyšší u diabetiků než u zdravých osob stejného pohlaví. Absolutní hodnota sledovaného parametru u zdravých jedinců a u osob s DM2T závisí na jejich pohlaví (obr. 1). Nejmarkantnější rozdíl mezi průměr-

nou hodnotou určitého parametru u skupiny zdravých mužů/žen a téhož parametru u skupiny mužů/žen s DM2T vykazoval parametr A-FABP; u skupiny mužů diabetiků byl A-FABP vyšší o 9,283 μg/ml než u zdravých mužů, u žen tento rozdíl reprezentovalo ještě vyšší číslo 14,048 μg/ml.

Stejně jako A-FABP se choval i index HOMA IR. U mužů s DM2T vykazoval navýšení oproti zdravým o 4,396 jednotek, u žen o 5,487 jednotek. Naproti tomu nižší byly průměrné hodnoty pro adiponektin a HDL-cholesterol v séru u diabetiků než u zdravých jedinců, tj. uvedené parametry vykazovaly opačný trend změn než A-FABP.



Obr. 1. Výsledky vzájemných interakcí nezávislých proměnných (subjekt Z/D × pohlaví) s vybranými parametry v tukové tkáni (T) a v séru (S) u zdravých (Z) mužů a žen a u diabetiků 2. typu (DM2T).

Střed obdélníku – průměr, obdélník – střední chyba průměru, čáry – směrodatná odchylka.

Post hoc srovnávací analýza, která navázala na výsledky mnohorozměrné analýzy základních dat, ukázala, že testované parametry v podkožní abdominální tukové tkáni, stejně jako parametry v séru, vykazují odlišnou dynamiku změn u zdravých a u diabetiků. Ve většině případů (A-FABP, E-FABP a PPAR γ) jsou jejich průměrné hodnoty vyšší u diabetiků než u zdravých osob (tab.1 a 2 a obr. 1). I v tukové tkáni, stejně jako v séru, se chová opač-

ně adiponektin, jeho průměrná hodnota je signifikantně nižší u diabetiků.

Vliv zdravotního stavu a pohlaví (nezávislé proměnné) na testované parametry v tukové tkáni byl podstatně méně vyznačen než u testovaných parametrů v séru. Jednoznačně vyšší absolutní rozdíl mezi průměrnou hodnotou u zdravých a diabetiků obou pohlaví vykazovaly jen parametry A-FABP a E-FABP. Stejně se chovaly i průměr-

né hodnoty PPAR γ – byly vyšší, ale jen u mužů diabetiků, u žen byl rozdíl nevýznamný. Naproti tomu průměrná hodnota adiponektinu v tukové tkáni byla nižší u žen diabetiček než jeho průměrná hodnota u žen zdravých; u mužů byly rozdíly v průměrech (zdraví vs diabetici) nevýznamné.

Dodejme ještě, že výsledky Wilcoxonova párového testu jednoznačně prokázaly existenci signifikantních rozdílů ($p = 0,028$) mezi průměrnými

hodnotami zvýšení/snížení testovaných parametrů, a to bez ohledu na jejich původ – sérum nebo podkožní tuková tkáň. U žen s DM2T, které participovaly na naší studii, byla reálná hodnota zvýšení/snížení určitého parametru vždy větší než u mužů diabetiků.

Diskuse

Výsledky prezentované v práci ukázaly, že skupinu zdravých mužů a mužů diabetiků, a podobně tomu bylo i u skupiny zdravých žen a žen diabetiček, charakterizovaly odlišné hodnoty téhož parametru v séru. Ve většině případů dosahovaly průměrné hodnoty testovaných parametrů vyšších hodnot u osob s DM2T, a to bez ohledu na pohlaví. Nižší průměrnou hodnotu vykazovaly v séru pouze HDL-cholesterol a adiponektin. K podobným závěrům dospěl i Copola et al [26]. Stejně jako my zjistili i oni u skupiny 156 osob s diagnózou DM2T nižší hodnoty HDL-cholesterolu a vyšší hodnoty TAG a S-glukózy než u skupiny 156 osob zdravých. Uvádějí také, že u diabetiků vykazoval vyšší hodnoty v séru také CRP, fibrinogen a LDL-cholesterol. V souvislosti s právě uvedeným je však třeba říci, že u našich účastníků studie byly rozdíly v plazmatických hladinách LDL-cholesterolu statisticky nevýznamné. Odhalení skutečných příčin těchto neshod není v dané chvíli snadné. Nabízí se však předpoklad, že by se na nich mohl podílet podstatně menší počet účastníků naší studie (jen 15 zdravých a 29 diabetiků), a také poměrně velká interindividuální variabilita hodnot obou parametrů, kterou jsme pozorovali zejména u skupiny diabetiků.

K dalším z testovaných parametrů, které vykazují v séru diabetiků vyšší hodnoty, patří koncentrace A-FABP a E-FABP. Z našeho pohledu je cenné, že Xu et al [27] zjistili také v séru diabetiků vyšší koncentrace A-FABP. Příjatelny je také jejich závěr, že A-FABP reprezentuje významný marker úzce

spojený s obezitou a metabolickým syndromem, jenž by mohl být využíván v klinické praxi k diagnostice metabolického syndromu. Není proto překvapující, že oba parametry (tj. A-FABP a E-FABP) v naší studii byly u diabetiků signifikantně vyšší i v podkožní tukové tkáni.

Podrobnější srovnávací analýza, kterou jsme při vyhodnocování našich dat provedli, ukázala, že reálná hodnota rozdílu sledovaného parametru u zdravých osob a diabetiků závisí na jejich pohlaví, a to jak v séru, tak i v podkožní tukové tkáni. Avšak, a to je pro naše další úvahy podstatné, reálná hodnota zvýšení nebo snížení určitého parametru byla u skupiny žen diabetiček signifikantně vyšší než reálná hodnota přírůstku nebo úbytku téhož parametru u skupiny mužů diabetiků. Jinými slovy, ženy s DM2T ve srovnání se zdravými ženami vykazovaly podstatně vyšší nárůst/pokles daného parametru, než vykazovali muži diabetici oproti mužům zdravým.

V souvislosti s uvedeným se nabízí otázka: proč naše ženy diabetičky vykazují podstatně vyšší kvantitativní nárůst/pokles určitého parametru než naši muži. V dostupné literatuře jsme přímou odpověď nenalezli. Zdá se však, že určité vysvětlení by mohly přinést práce zabývající se rozložením a funkcí tukové tkáně u mužů a žen. Připomeneme proto některé z nich. Gultekin et al [28] vyhodnotili složení těla 332 chlapců a 269 dívek ve věku od 8 do 11 let. Konstatovali, že u chlapců je zastoupení tuku (vyjádřeno v procentech) menší než u dívek (chlapci 16,8 %, dívky až 18,2 %). Ukázali také, že s přibývajícím věkem se procento zastoupení tuku v organismu mění, u žen je však vždy tuku více než u mužů stejného věku. Machann et al [29] zjistili, že u žen je objem subkutánní tukové tkáně větší než u mužů (ženy 14,7 %, muži 9,3 %), u mužů naopak převažuje tuk viscerální (muži 4,6 %, ženy 2,8 %). Zajímavé je také konstatování [30], že

tuková tkáň s ohledem na své rozložení i funkci hraje u žen významnější roli než u mužů. Uvedené nálezy s určitými limitacemi dovolují vyslovit předpoklad, že podkožní tuková tkáň u našich žen diabetiček (DM2T spojený s inzulinovou rezistencí, popřípadě inzulinovou deficiencí) byla mohutněji rozvinuta a vykazovala vyšší aktivitu než podkožní tuková tkáň mužů diabetiků. Z tohoto pohledu není vyšší produkce některých cytokinů a transportních proteinů mastných kyselin u žen diabetiček ničím překvapujícím.

Na začátku naší diskuse jsme konstatovali, že ve většině případů dosahovaly průměrné hodnoty testovaných parametrů vyšších hodnot u osob s DM2T, a to bez ohledu na pohlaví. Adiponektin se choval opačně; jeho hodnoty u diabetiků byly vždy nižší než u zdravých, a to jak v séru, tak i v podkožní tukové tkáni. Naše zjištění je v plné shodě s údaji prezentovanými v literatuře. Produkce adiponektinu je do značné míry nepřímo úměrná obsahu tukové tkáně v organismu. V tomto kontextu není překvapující zjištění řady autorů [31–34], že u lidí, a podobně je tomu i v experimentálních modelech na zvířatech, se nižší koncentrace adiponektinu vyskytují u lidí obézních a u lidí s diagnózou DM2T s inzulinovou rezistencí.

Kim et al [35] dokonce popsali závislost produkce adiponektinu na pohlaví; koncentrace adiponektinu v séru mužů s DM2T byla menší než u žen. I my jsme zjistili, že koncentrace adiponektinu v séru, a také v tukové tkáni závisí na pohlaví. Signifikantně vyšší koncentrace adiponektinu jsme našli v séru zdravých mužů i v séru zdravých žen, v tukové tkáni jen u zdravých žen. Pro úplnost je třeba ještě dodat, že reálná koncentrace adiponektinu v séru zdravých žen byla vždy vyšší než v séru zdravých mužů, naproti tomu v tukové tkáni byly difference zanedbatelné. Uvedené nálezy nejsou v rozporu s všeobecně akceptovanou představou o závislosti

ti produkce adiponektinu na obsahu tukové tkáně v organizmu.

Vše nasvědčuje tomu, že sérové koncentrace adiponektinu jsou dobrými markery inzulinové rezistence [36,37] a prostřednictvím receptorů ADIPOR1 a ADIPOR2 [38] hrají důležitou roli v rozvoji metabolického syndromu a v etiopatogenezi DM2T. Svědčí o tom i výsledky posledně uvedených autorů, kteří pomocí PPAR γ -agonisty (rosiglitazonu) zvýšili u osob s DM2T produkci adiponektinu a receptoru ADIPOR2.

Řada údajů v předcházejících částech textu jednoznačně ukazuje, že i v podkožní tukové tkáni průměrné hodnoty vybraných parametrů (A-FABP, E-FABP) s výjimkou adiponektinu byly vždy vyšší u skupiny diabetiků než u skupiny zdravých osob. Uvedené je třeba doplnit ještě v tom smyslu, že signifikantně vyšší hodnoty v podkožní tukové tkáni diabetiků vykazoval také PPAR γ . V souvislosti s právě uváděným je třeba připomenout, že statistická analýza odhalila vzájemnou interakci nezávislé proměnné (pohlaví) se závislou proměnnou (PPAR γ); signifikantně vyšší hodnoty PPAR γ byly prokázány jen u mužů diabetiků.

V literatuře jsme nenalezli údaje, které by závislost koncentrací PPAR γ na pohlaví potvrzovaly nebo vyvracely. Příčinou by mohly být metodické problémy související s kvantitativním stanovením koncentrace tohoto produktu v tukové tkáni. Náš náález, tj. rozdílné chování koncentrací PPAR γ v tukové tkáni zdravých osob a osob s DM2T, se nám nebude jevit tak problematický, pokud vezmeme v úvahu účinky těchto nukleárních receptorů na tukovou tkáň. Zde připomeneme pouze jejich vliv na diferenciaci adipocytů, jejich vztah k tvorbě cytokinů a ke vzniku a rozvoji inzulinové rezistence. Dáme-li do vztahu právě uvedené skutečnosti s naším zjištěním, že muži diabetici ve srovnání s ženami diabetičkami produkují menší koncentrace adipocytárních hormonů, pak

se zdá logické, že u mužů bude vyšší koncentrace PPAR γ v tukové tkáni.

Závěrem je třeba říci, že naše snaha porovnat data prezentovaná v práci s dostupnými literárními údaji se nesetkala vždy s úspěchem. Odborná literatura totiž neoplývá dostatečným počtem prací, které by analyzovaly a interpretovaly dynamiku změn velkého počtu proměnných, které byly stanoveny současně v každém vzorku séra nebo v podkožní tukové tkáni u každého účastníka dané studie.

Autoři děkují pracovníkům OKB FN v Olomouci za provedené analýzy.

Literatura

1. Svačina Š, Owen K. Obezita, diabetes 2. typu a jejich kvantitativní vztahy. *Vnitř Lék* 2002; 48: 500–506.
2. Krempler F, Breban D, Oberkofler H et al. Leptin, peroxisome proliferator-activated receptor- γ , and CCAAT/enhancer binding protein- γ mRNA expression in adipose tissue of humans and their relation to cardiovascular risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 443–449.
3. Sivitz WI, Wayson SM, Bayless ML et al. Leptin and body fat in type 2 diabetes and monodrug therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1543–1553.
4. Zamboni M, Zoico E, Fantin F et al. Relation between leptin and the metabolic syndrome in elderly women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004; 59: 396–400.
5. Miyazaki Y, Mahankali A, Wajsborg E et al. Effect of pioglitazone on circulating adipocytokine levels and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4312–4319.
6. Fischer RM, Thorne A, Hamsten A et al. Fatty acid binding expression in different human adipose tissue depots in relation to rates of lipolysis and insulin concentration in obese individuals. *Mol Cell Biochem* 2002; 239: 95–100.
7. 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: 1492–1498.
8. Memon RA, Tecott LH, Nonogaki K et al. Up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR- γ) and PPAR- γ messenger ribonucleic acid expression in the liver in murine obesity: trogli-

tazone induces expression of PPAR- γ -responsive adipose tissue-specific genes in the liver of obese diabetic mice. *Endocrinology* 2000; 141: 4021–4031.

9. Hřebíček J. PPAR: Úloha v homeostáze glukózy a lipidů, v inzulinové rezistenci a v ateroskleróze. *Čs Fyziol* 2004; 53: 4–14.

10. Peters JM, Lee SS, Li W et al. Growth adipose brain and skin alterations resulting from targeted disruption of the mouse peroxisome proliferator-activated receptor β/δ . *Mol Cell Biol* 2000; 20: 5119–5128.

11. Spiegelman BM. PPAR γ in monocytes: less pain, any gain? *Cell* 1998; 93: 153–155.

12. Kawaguchi K, Sugiyama T, Hibasami H et al. PPAR- γ , TNF- α messenger RNA levels and lipase activity in the pregnant and lactating rat. *Life Sci* 2003; 72: 1655–1663.

13. Auboeuf D, Rieusset J, Fajas L. Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor- γ in adipose tissue of obese and NIDDM patients. *Diabetes* 1997; 46: 1319–1327.

14. Mukherjee R, Jow L, Croston GE et al. Identification, characterization, and tissue distribution of human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) isoform PPAR γ 2 versus PPAR γ 1 and activation with retinoid X receptor agonists and antagonists. *J Biol Chem* 1997; 272: 8071–8076.

15. Vidal-Puig AJ, Considine RV, Jimenez-Linan M et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity weight loss and regulation by insulin and glucocorticoids. *J Clin Invest* 1997; 99: 2416–2422.

16. Zierath JR, Frevert EU, Ryder JW et al. Evidence against a direct effect of leptin on glucose transport in skeletal muscle and adipocytes. *Diabetes* 1998; 47: 1–4.

17. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 1994; 30: 1147–1156.

18. Heitzel AV, Bemlohr DA. Regulation of adipocyte gene expression by polyunsaturated fatty acids. *Mol Cell Biochem* 1998; 188: 33–39.

19. Schoonjans K, Staels B, Grimaldi P et al. Acyl-CoA synthetase mRNA expression is controlled by fatty-acid derivatives feeding and liver proliferation. *Eur J Biochem* 1993; 216: 615–622.

20. Martin G, Schoonjans K, Lefebvre AM et al. Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPAR α and PPAR γ activators. *Biol Chem* 1997; 272: 28210–28217.
21. Auwerx J, Schoonjans K, Fruchart JC et al. Transcriptional control of triglyceride metabolism; fibrates change the expression of LPL and apo C-111 genes by activating the nuclear receptor PPAR. *Atherosclerosis* 1996; 124: S29–S37.
22. Boyle PJ. What are the effects of peroxisome proliferators-activated receptor agonists on adiponectin, tumor necrosis factor- α , and other cytokines in insulin resistance? *Clin Cardiol* 2004; 27(Suppl 4): IV11–IV16.
23. Haluzík M, Gavriloová O, LeRoith D. Peroxisome proliferator-activated receptor- α deficiency does not alter insulin sensitivity in mice maintained on regular or high-fat diet: hyperinsulinemic-euglycemic clamp studies. *Endocrinology* 2004; 145: 1662–1667.
24. Matsuzawa Y, Shimomura I, Kihara S et al. Importance of adipocytokines in obesity-related diseases. *Hormon Res* 2003; 60(Suppl 3): 56–59.
25. Shimada T, Kojima K, Yoshiura K et al. Characteristics of the peroxisome proliferators activated receptors gamma (PPAR γ) ligand induced apoptosis in colon cancer cells. *Gut* 2002; 50: 658–664.
26. Coppola G, Corrado E, Muratori I et al. Increased levels of C-reactive protein and fibrinogen influence the risk of vascular events in patients with NIDDM. *Int J Cardiol* 2006; 106: 16–20.
27. Xu A, Wang Y, Xu JY et al. A dipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Chem* 2006; 52: 405–413.
28. Gultekin T, Akin G, Ozer BK. Gender differences in fat patterning in children living in Ankara. *Anthropol Anz* 2005; 63: 427–437.
29. Machann J, Thamer C, Schnoedt B et al. Standardized assessment of whole body adipose tissue topography by MRI. *J Magn Reson Imaging* 2005; 21: 455–462.
30. Bonora E, Del Prato S, Bonadonna RC et al. Total body fat content and fat topography are associated differently with in vivo glucose metabolism in nonobese and obese nondiabetic women. *Diabetes* 1992; 41: 1151–1159.
31. Pietiläinen KH, Kannisto K, Korsheinnikova E et al. Acquired obesity increases CD68 and TNF- α and decreases adiponectin gene expression in adipose tissue. A study in monozygotic twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; přijato do tisku.
32. Koshihara K, Nomura M, Nakaya Y et al. Efficacy of glimepiride on insulin resistance, adipocytokines, and atherosclerosis. *Med Invest* 2006; 53: 87–94.
33. Smith JD, Al-Amri M, Sniderman AD et al. Leptin and adiponectin in relation to body fat percentage, waist to hip ratio and the apoB/apoA1 ratio in Asian Indian and Caucasian men and women. *Nutr Metab (London)* 2006 (přijato do tisku).
34. Lacquemant C, Vasseur F, Lepretre F et al. Adipocytokines, obesity and development of type 2 diabetes. *Med Sci (Paris)* 2005; Spec No 10-18.
35. Kim SH, Abbasi F, Chu JW et al. Rosiglitazone reduces glucose-stimulated insulin secretion rate and increases insulin clearance in nondiabetic, insulin-resistant individuals. *Diabetes* 2005; 54: 2447–2452.
36. Carmina E, Orio F, Palomba S et al. Endothelial dysfunction in PCOS: role of obesity and adipose hormones. *Am J Med* 2006; 119: 356.
37. Hojlund K, Frystyk J, Levin K et al. Reduced plasma adiponectin concentration may contribute to impaired insulin activation of glycogen synthase in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2006; přijato do tisku.
38. Sun X, Han R, Wang Z et al. Regulation of adiponectin receptors in hepatocytes by the peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist rosiglitazone. *Diabetologia* 2006; přijato do tisku.

MUDr. Rabha Ben Yahia

www.upol.cz

e-mail: yahiarab@yahoo.com

Doručeno do redakce: 30. 5. 2006

Přijato po recenzi: 14. 9. 2006

www.kardiologickarevue.cz