

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Chemerin jako marker kardiovaskulárního onemocnění

Andrea Švecová

Bakalářská práce

2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Andrea Švecová**
Osobní číslo: **C14348**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Chemerin jako marker kardiovaskulárního onemocnění**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

- 1) Na základě informací z literatury uspořádejte základní informace o chemerinu.
- 2) Blíže se zaměřte na význam a klinické využití chemerinu.
- 3) Podrobněji se zaměřte na jeho roli jako možného markeru kardiovaskulárních onemocnění.
- 4) Zpracujte současné poznatky o stanovení chemerinu v biologickém materiálu, včetně podmínek pro odběr, transport a uchování vzorku.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Pavla Královcová, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **28. listopadu 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **7. července 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 2. 7. 2018

Andrea Švecová

Poděkování

Ráda bych poděkovala především vedoucí bakalářské práce Mgr. Pavla Královcová, Ph.D. za ochotné vedení práce, za pomoc při zpracování a cenné rady, které mi při zpracování bakalářské práce pomohly. Velké poděkování patří i mé rodině a přítelovi, kteří mi svoji podporou pomohli ke zdárnému dokončení bakalářské práce.

V Pardubicích dne 2. 7. 2018

ANOTACE

Práce je věnována základním informacím o chemerinu se zaměřením na klinické využití. Dále se práce zaměřuje na význam chemerinu jako markeru kardiovaskulárního onemocnění a na poznatky stanovení, včetně podmínek odběru, transportu a uchování.

KLÍČOVÁ SLOVA

Chemerin, marker, kardiovaskulární systém, ELISA

TITLE

Chemerin as a marker of cardiovascular disease

ANNOTATION

The work is devoted to basic information about chemerin with a focus on clinical usage. Furthermore, the work focuses on the importance of chemerin as a marker of cardiovascular disease and on the knowledge of defining, including conditions of collection, transport and conservation.

KEYWORDS

Chemerin, marker, cardiovascular systems, ELISA

OBSAH

0 ÚVOD.....	12
1 CHEMERIN.....	13
2 ZDROJ.....	14
3 TUKOVÁ TKÁŇ.....	15
3.1 Hnědá tuková tkáň.....	15
3.2 Bílá tuková tkáň.....	15
4 VZNIK A ROZDĚLENÍ.....	17
5 CHEMERIN A JEHO RECEPTORY.....	21
5.1 CMKLR1/ChemR23.....	21
5.2 GPR1.....	21
5.3 CCLR2.....	22
6 FUNKCE.....	23
7 CHEMERIN PROZÁNĚTLIVÝ NEBO PROTIZÁNĚTLIVÝ.....	24
8 ROLE CHEMERINU VE VZTAHU K OBEZITĚ.....	25
9 CHEMERIN A KOMORBIDITY OBEZITY.....	26
9.1 Metabolický syndrom.....	26
9.2 Diabetes typu 2.....	26
10 CHEMERIN A RENÁLNÍ DYSFUNKCE.....	29
10.1 Cirkulující hladiny chemerinu a funkce ledvin.....	29
10.2 Příčiny zvýšených hladin chemerinu u chronického onemocnění ledvin.....	29
11 CHEMERIN A ATEROSKLERÓZA.....	31
12 METODY PRO STUDIUM CHEMERINU.....	37
13 TECHNIKY IDENTIFIKACE IZOMERŮ CHEMERINU.....	38
13.1 Migrační test.....	38
13.2 Kalciový test.....	39

13.3 Test Tango	39
13.4 ELISA	41
14 ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ	42
15 HODNOTY CHEMERINU	42
16 TERAPEUTICKÁ STRATEGIE A KLINICKÁ UŽITEČNOST.....	43
17 ZÁVĚR.....	44
18 ZDROJE.....	45

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 Superpozice prochemerinu a chemerinu F se zvětšeným C-koncem.....	13
Obrázek 2 Hnědá tuková tkáň	15
Obrázek 3 Bílá tuková tkáň	16
Obrázek 4 Proteolytické zpracování chemerinu	18
Obrázek 5 Chemerinové receptory CMKLR1, GPR1 a CCRL2	22
Obrázek 6 Zapojení chemerinu do různých funkcí při zánětu, obezitě, role v kůži, diferenciaci buněk a abiogenezi	23
Obrázek 7 Vliv inzulínu na příjem glukózy přes GLUT-4.....	28
Obrázek 8 Kardiovaskulární systém a chemerin	34
Obrázek 9 Vznik aterosklerotického plátu	34
Obrázek 10 Migrační test	38
Obrázek 11 Kalciový test	39
Obrázek 12 Tango test	40
Obrázek 13 ELISA	41
Tabulka 1 Seznam syntetických peptidů s jejich sekvencemi.....	19
Tabulka 2 Seznam biologicky aktivních izomerů	19
Tabulka 3 Seznam proteáz s jejich substrátem a produktem.....	20
Tabulka 4 Dysregulace hladin chemerinu u chorobných stavů.....	35

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AMK – aminokyselina

TAG – triacylglycerol

IL – interleukin

CRP – C-reaktivní protein

TNF- α – tumor necrosis faktor alfa

BMI – index tělesné hmotnosti

LDL – lipoprotein s nízkou hustotou

HDL – lipoprotein s vysokou hustotou

CKD – chronické onemocnění ledvin

CVD – kardiovaskulární onemocnění

ICAM-1 – adhezivní molekula z imunoglobulinové superrodiny

MetS – metabolický syndrom

MMP – metaloproteinázy

T1D – diabetes mellitus 1. typu

T2D – diabetes mellitus 2. typu

TERMINOLOGIE

Homeostáza – znamená samočinné udržování hodnoty nějaké veličiny na přibližně stejné hodnotě. U živých organismů je to schopnost udržovat stabilní vnitřní prostředí.

Chemotaxe – je pohyb organismu nebo buňky ve směru chemického gradientu

Adipogeneze – diferenciaci pre-adipocytu do zralých adipocytů

Abiogeneze – takzvané samoplození

Osteoklastogeneze – vznik osteoklastů z hematopoetických prekurzorů

Steroidogeneze – biologická syntéza steroidních hormonů

Hypertrofie – je růst tkáně pod vlivem zvětšování objemu jednotlivých buněk

Hyperplazie – je stav, při kterém dochází ke zmnožení buněk a tkání

Dyslipidémie – porucha metabolismu tuků

Lipolýza – je odbourání tuku uloženého v tukových buňkách, během tohoto procesu jsou do krevního oběhu uvolňovány mastné kyseliny, které jsou krví distribuovány po celém těle

Hypertenze – zvýšený krevní tlak

Hyperglykémie – zvýšení glykémie nad normu

Transkripce – („přepis“) je proces, při kterém je podle genetické informace v řetězci DNA vyráběn řetězec RNA

0 ÚVOD

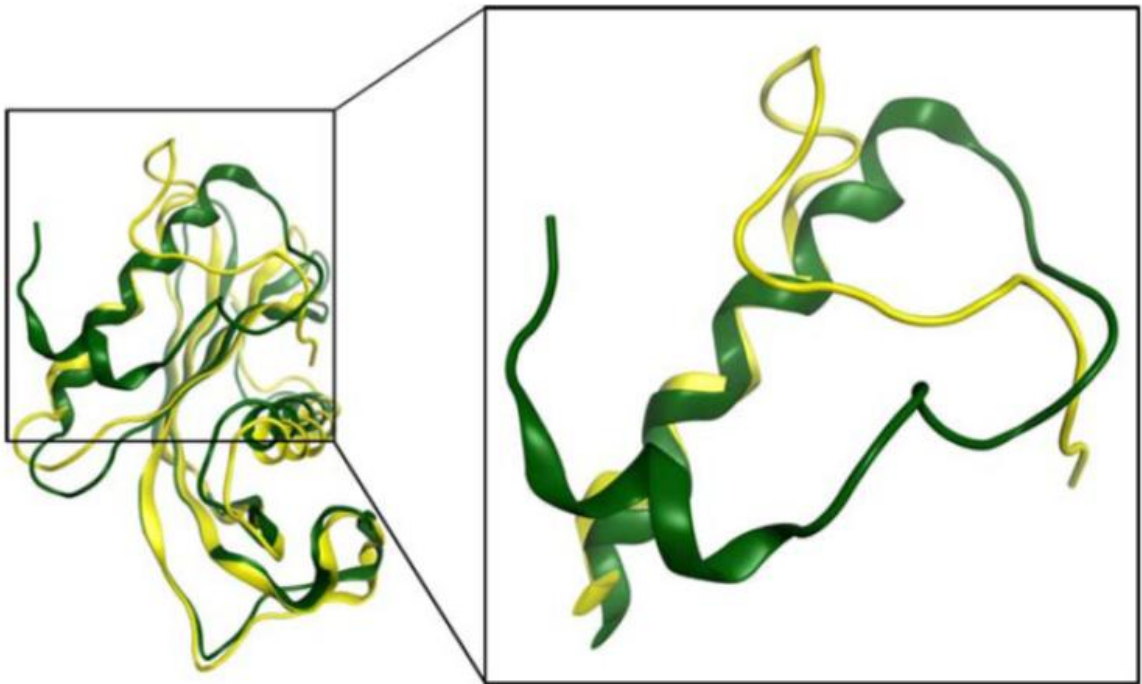
Bakalářská práce je zaměřena na vliv, funkci, význam, využití a stanovení chemerinu. Jak název bakalářské práce napovídá, součástí práce je zaměření chemerinu jako markeru kardiovaskulárního onemocnění. Kardiovaskulární onemocnění jsou nejčastější příčinou úmrtí a zdravotních potíží na celém světě. A proto je kladen velký důraz na objevení nových rizikových faktorů, které mohou být významné pro řízení a prevenci kardiovaskulárních onemocnění.

Bakalářská práce je rozdělena na čtyři hlavní body. V prvním bodě se pojednává o základních informacích o chemerinu, jako je zdroj, vliv, funkce a rozdělení. Druhý bod je zaměřen na význam a klinické využití chemerinu. V tomto bodě jsou zpracované poznatky o roli chemerinu v obezitě, metabolickém syndromu, glukózové homeostáze, diabetu typu 2, renální dysfunkci spojené s onemocněním ledvin a kardiovaskulárním onemocnění. Kardiovaskulární onemocnění je více diskutováno v bodě tři. V posledním bodě se zaměřujeme na poznatky o stanovení chemerinu v biologickém materiálu, včetně jeho odběru, transportu a uchování.

Cílem bakalářské práce je seznámit se s problematikou týkající se chemerinu a zjistit, zda chemerin není vhodným prvním markerem pro stanovení počínajícího onemocnění.

1 CHEMERIN

Chemerin je známý také jako protein tazarotenem indukovaného genu 2 nebo jako respondér receptoru kyseliny retinové. Jedná se o nedávno objevený adipokin. Adipokiny jsou proteiny, které jsou tvořeny tukovými buňkami. Mají vliv na rozvoj zánětu, funkci imunitního systému nebo na funkci kardiovaskulárního systému. Chemerin se podílí na chemotaxi dendritických buněk, makrofágů a NK buněk do místa zánětu. Na obrázku 1 je vyobrazena struktura prochemerinu (tmavě zelená) a chemerinu F (žlutá) se zvětšeným C-koncem. Struktura chemerinu bude podrobněji popsána v kapitole vznik a rozdělení. [2,5,24]



Obrázek1 Superpozice prochemerinu a chemerinu F se zvětšeným C-koncem (upraveno dle zdroje 66)

2 ZDROJ

Chemerin byl nejprve izolován z psoriatických kožních lézí. Dalším zdrojem chemerinu je převážně bílá tuková tkáň, ale také se nachází v játrech, ledvinách, fibroblastech, vaječnicích, ledvinách, plicích, pankreatu, kosterním svalstvu a srdci. V hnědé tukové tkáni se chemerin produkuje v malém množství. Určité publikace prokázaly, že chemerin je produkován i placentou a může tak hrát důležitou roli v usměrňování metabolismu během těhotenství. [16,22,25]

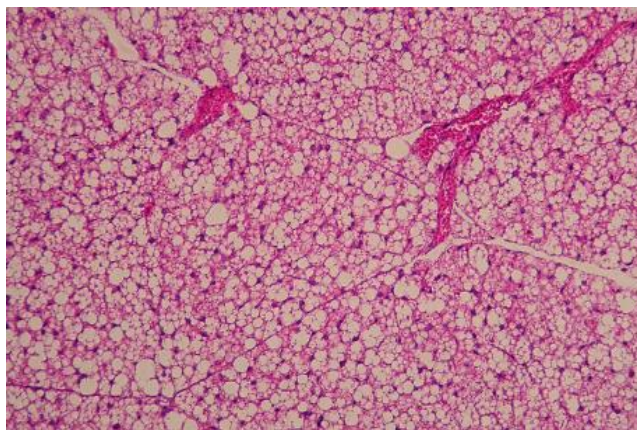
Vysoké hladiny chemerinu byly také nalezeny v synoviální tekutině u pacientů s artritidou, také v plazmě u pacientů s revmatoidní artritidou, ulcerózní kolitidou, Crohnovou nemocí, psoriázou a chronickou pankreatitidou. [16,25,40]

3 TUKOVÁ TKÁŇ

Tuková tkáň je tvořena adipocyty. Adipocyty jsou buňky specializované na uchování tuků. V současné době je známo hodně látek, které jsou produkovány tukovou tkání. Patří mezi ně například leptin, rezistin, omentin či zmiňovaný chemerin. Tuková tkáň slouží jako dlouhodobá zásobárna energie. Rozdělujeme ji na dva typy a to na hnědou tukovou tkáň a na bílou tukovou tkáň. [4, 8,18,26]

3.1 Hnědá tuková tkáň

Hnědá tuková tkáň se nejvíce vyskytuje u novorozenců, u kterých tvoří 5% celkové hmotnosti. U novorozenců se hnědá tuková tkáň lokalizuje v horní oblasti páteře směrem k ramenům. U dospělých lidí se hnědá tuková tkáň nachází v horní oblasti hrudi a krku. U obézních lidí je však zredukovaná nebo chybí zcela. Hnědá tuková tkáň je hojně prokrvena a buňky mají vysoký počet mitochondrií. Viz obrázek 2. [18,27, 29]

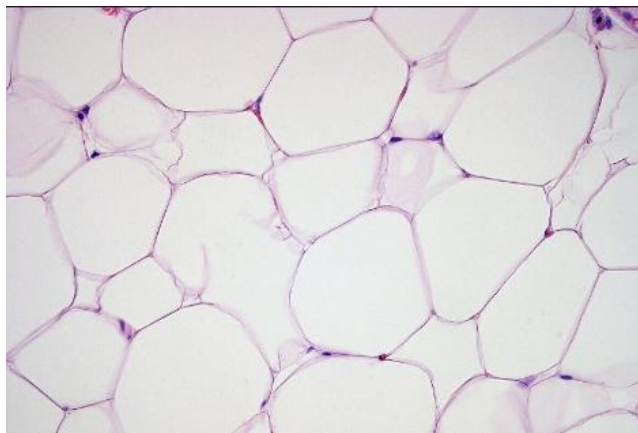


Obrázek2Hnědá tuková tkáň (upraveno dle zdroje 27)

3.2 Bílá tuková tkáň

Bílá tuková tkáň je tvořena tukovými buňkami s velkými tukovými kapénkami, které jsou obklopeny prstencem cytoplazmy. Jádro se nachází na periferii buňky. Buňky bílé tukové tkáně patří k největším buňkám lidského těla. U štíhlých jedinců zaujímá bílá tuková tkáň kolem 20% tělesné hmotnosti, u obézních může tvořit až 50% váhy. Bílá tuková tkáň kromě zásobárny energie slouží i jako zdroj tepelné izolace a k ochraně vnitřních orgánů. Viz obrázek 3.[8, 27,37]

Bílá tuková tkáň je endokrinní orgán, který vylučuje řadu bioaktivních molekul, jako jsou adipokiny. Adipokiny jsou důležitými regulátory vývoje a funkce tukové tkáně. Mají významný vliv na metabolismus glukózy v různých tkáních a i vliv na celkovou energetickou bilanci systému. Chemerin reguluje rozrůznění adipocytů a podobně jako další adipokiny, jako adiponektin a leptin, se tím podílí na homeostáze lipidů. Dále reguluje glukózový transportér-4 a tím se podílí na homeostáze glukózy. Při snížení koncentrace chemerinu nebo jeho receptoru dochází k poruchám diferenciaci adipocytů a tím i k poruchám metabolismu glukózy a metabolismu lipidů. Dále bílá tuková tkáň produkuje enzymy, růstové faktory, cytosiny nebo faktory komplementu. [4,6,10]



Obrázek3 Bílá tuková tkáň (upraveno dle zdroje 27)

4 VZNIK A ROZDĚLENÍ

Preprochemerin je sekretován jako řetězec obsahující 163 AMK. Z preprochemerinu se odštěpí signální peptid o velikosti 20 AMK z N-koncového místa. Následně se vyloučí prochemerin. Lidský prochemerin je sekretován jako řetězec v rozsahu 20-163 AMK. Prochemerin má molekulovou hmotnosti 18 kDa. Chemerin má relativní molekulovou hmotnost 16 kDa. Vznikl odtrhnutím 5-10 AMK na terciálním C-konci díky serinovým proteázám, jako jsou elastáza, katepsinG, plasmin.[9,42]

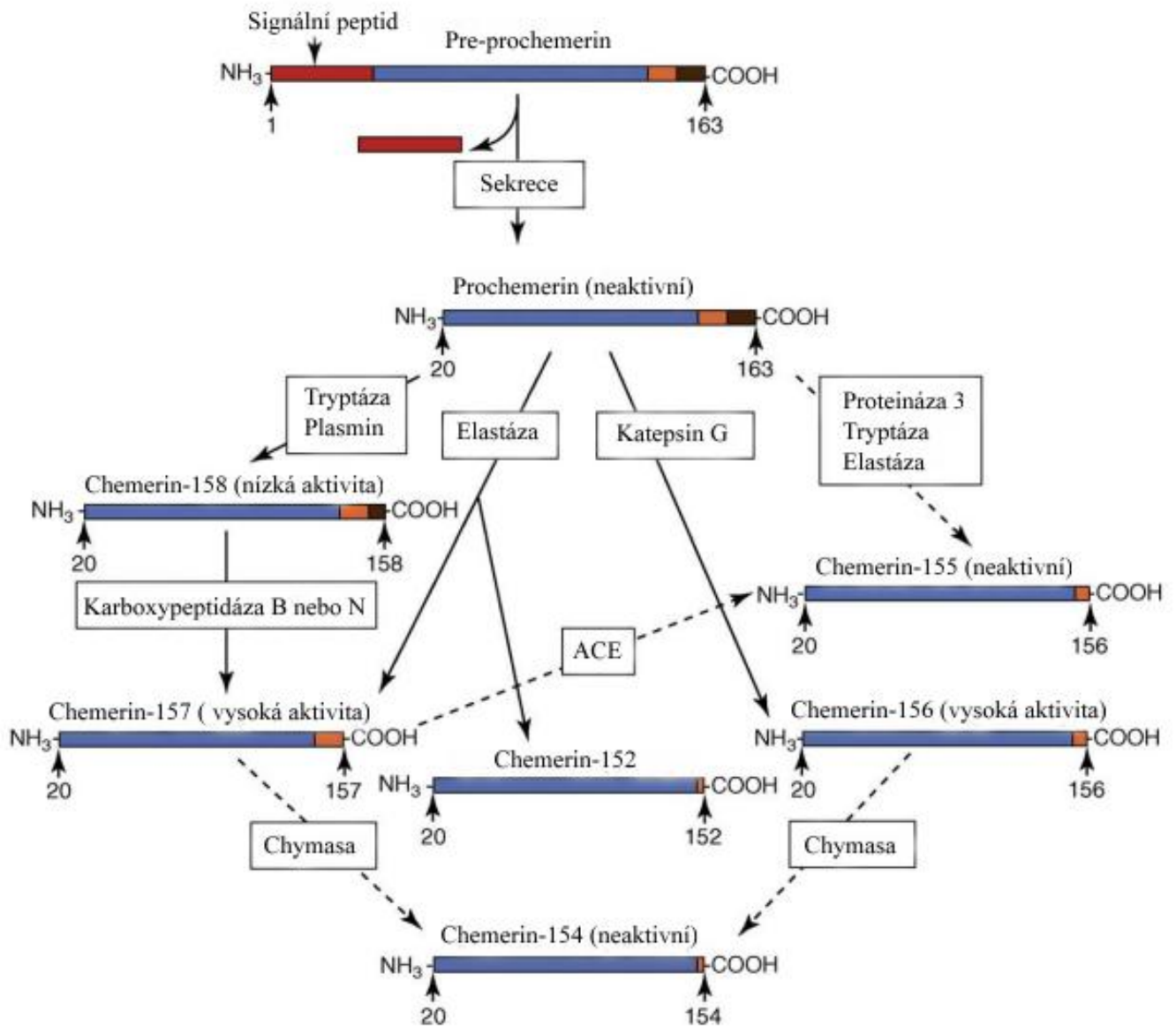
Výzkum struktury chemerinu odhalil obrácenou orientaci beta skládaného řetězce s typickou N-koncovou a C-koncovou částí, která tvoří konce polypeptidového řetězce. C-konec řetězce působí jako klíčové místo pro enzymatickou aktivitu. Je zajímavé, že proteázy neredukují peptid vždy na stejném místě a tato odchylka ve štěpení vede ke vzniku izoform chemerinu. Na obrázku 4 jsou vyobrazeny některé z izoform a proteáz, ale nejsou tam uvedené všechny, které se vyskytují v tabulce 1, 2 a 3. Například karboxypeptidázy B a N zpracovávají jen relativně nízké aktivní izomery chemerinu do jejich aktivnějších forem. Zatímco jiné proteázy, jako například proteináza 3 nebo chymáza žírných buněk jsou schopné zpracovat bioaktivní chemerin do relativně neaktivní formy.[16,42]

Například izoforma chemerinu štěpená plazminem se značí chemerin-158, izoforma štěpená elastázou se značí chemerin-157 a izoforma štěpená katepsinem G a kallikreinem 7 se značí chemerin-156. Tyto látky se liší pouze délkou řetězce a jeho biologickou aktivitou. O jaký druh izoformy se bude jednat, závisí na počtu oddělených aminokyselin. Seznam známých izoform chemerinu je popsán v tabulce 1,2 a seznam proteáz pro chemerin je popsán v tabulce 3. [4, 16,42]

Například když dojde k odstranění šesti aminokyselin je výsledkem chemerin-157, který vykazuje nejvyšší aktivitu. Jeho aktivita je přibližně 100krát vyšší než u prochemerinu. Chemerin-156 má o něco menší aktivitu, chemerin-155 a -158 mají nízkou aktivitu a chemerin-152a -154 jsou relativně neaktivní.[25,28]

Chemerin-155 s nízkou aktivitou, může vystupovat jako slabý antagonist, jen když se vyskytuje v přítomnosti vysoce aktivních izomerů chemerinu. To naznačuje, že poměr mezi aktivními a neaktivními izoformami je rozhodujícím prvkem bioaktivity chemerinu. Velká část informací o chemerinu pochází ze studií *ex vivo*, ale některé vzorky endogenního chemerinu byly izolované z lidských vzorků. V lidské krvi se chemerin nachází v podobě

chemerin-155,-157,-158, v ascites chemerin-157, v cerebrospinalní tekutině chemerin-158, v hemofiltrátu chemerin-154 a v synoviální tekutině chemerin-158. To naznačuje, že dochází ke zpracování prochemerinu *in vivo*. Je nezbytná další charakteristika izomerů chemerinu, aby bylo možné porozumění chemerinové biologické aktivity a biologické funkce chemerinu.[2,9,12, 35]



Obrázek 4 Proteolytické zpracování chemerinu (upraveno dle zdroje 65)

Tabulka 1 Seznam syntetických peptidů s jejich sekvencemi (upraveno dle zdroje 67)

Syntetické peptidy chemerinu				
Izoformy	Sekvence	Funkce izoformy	Poznámka	Vzor
Chemerin-15	AGEDPHGYFLPGQF A	Napodobuje chemerin-154	Inhibice makrofágů	Myš
FA peptid	HSFYFPGQFA	Napodobuje chemerin-155	Bez chemotaxe buňky	Člověk
Chemerin-11	HSFYFPGQFAF	Napodobuje chemerin-156	Mírné chemotaxe buňky	Člověk
Chemerin-9	YFPGQFAFS	Napodobuje chemerin-157	Vysoká biologic. aktivita	Člověk
Chemerin-9	FLPGQFAFS	Napodobuje chemerin-158	Stejnou účinnost jako člověk	Myš
Chemerin-10	YFPGQFAFSK	Napodobuje chemerin-158	Inertní	Člověk
Chemerin-15	YFPGQFAFSKALPRS	Napodobuje chemerin-163	Inertní	Člověk

Tabulka 2 Seznam biologicky aktivních izomerů (upraveno dle zdroje 67)

Biologicky odvozené peptidy chemerinu			
Izoformy	Aktivita Chemerinu	Ostatní	Vzor
Chemerin-125	Inertní		Člověk
Chemerin-154	Inertní		Člověk
Chemerin-155	Inertní	Nejsilnější v séru	Člověk
Chemerin-156		Psoriáza	Člověk
Chemerin-157	Významná mobilizace Ca ²⁺ , chemotaxe	Aktivnější v séru	Člověk
Chemerin-158		Glioblastom, RA, silný v CSF	Člověk
Chemerin-163	Inertní, prochemerin		

Tabulka 3 Seznam proteáz s jejich substrátem a produktem (upraveno dle zdroje 67)

Proteáza	Chemerinový substrát	Chemerinový produkt	Zdroj	Poznámky	Vzor
Kalpain	Prochemerin	Není určen	Makrofágy	Protizánětlivý	Myš
Karboxy-peptidáza B a N	-158	-157		Sekvenční pomocí plasminu	Člověk
Katepsin G	Prochemerin	-148, -156	Neutrofilly		Člověk
Katepsin K	Prochemerin	-157,-125		Antibakteriální	Člověk
Katepsin L	Prochemerin	-157, -125		Antibakteriální	Člověk
Katepsin S	Prochemerin	Není určen	Makrofágy	Protizánětlivý	Myš
Elastáza	Prochemerin	-157, -155, -152	Neutrofilly		Člověk
Faktor XIIa	Prochemerin	Není určen	Koagulační kaskáda		Člověk
Kallikrein 7	Prochemerin	-156		Kožní psoriáza	Člověk
Žírné buňky	-157 a -156	-154	Žírné buňky	Chemerin-154 inertní	Člověk
Plasmin	Prochemerin	-158	Fibrinolyt. kaskáda		Člověk
Proteinasa-3	Prochemerin	-155	Neutrofilly	Chemerin-155 inertní	Člověk
Staphopain B	Prochemerin	-157	<i>S. Aureus</i>		Člověk
Tryptáza	Prochemerin	-158, -155	Žírné buňky		Člověk

5 CHEMERIN A JEHO RECEPTORY

Receptory pro chemerin se dělí na tři CMKLR1, GPR a CCRL2. Tyto tři receptory mají odlišné distribuce v tkáních. Přesná role chemerinu nebyla zcela formulována, ale nedávné studie poukazují na to, že chemerin a jeho receptory jsou zapojeny do zánětlivých procesů jako je adipogeneze, abiogeneze a osteoklastogeneze (obrázek 6). Chemerin a tyto jeho receptory mají v lidském těle více funkcí. [4,12,22, 42]

5.1 CMKLR1/ChemR23

Poprvé byl CMKLR1 popsán v roce 1996. ChemR23 byl objeven později. Následně se zjistilo, že se jedná o stejný receptor a došlo ke změně názvu z CMKLR1 na ChemR23. V terminologii se používají oba typy názvů, ale pro svoji práci jsem si ustanovila používání názvu CMKLR1. Chemerin se dokáže specificky navázat a aktivovat receptor CMKLR1 prostřednictvím Gly152 a aromatických aminokyselin Tyr149, Phe150, Phe154 a Phe156. To vede k chemotaxi v dendritických buňkách. Buňky prezentující receptor CMKLR1 dále zahrnují makrofágy, myeloidní buňky, NK buňky, krevní destičky, leukocyty, placentu, buňky kostí, tukové tkáně, mozku a srdce. [12, 25,42]

Aktivovaný CMKLR1 mobilizuje intracelulární vápník a tím způsobuje aktivaci několika dalších signalizačních kaskád. V signalizační kaskádě působí extracelulárně regulovaná kináza, která reguluje různé buněčné procesy, jako je proliferace, diferenciace a progresse buněčného cyklu. Počáteční studie CMKLR1 naznačily, že by mohl mít vliv na úlohu v zánětlivých cestách. Tuto myšlenku podpořil fakt, že exprese CMKLR1 je exprimována na makrofázích a dendritických buňkách. Jako adipokinový receptor má úlohu při adipogenezi a zrání adipocytů. Zdá se také, že má roli v periferní inzulínové rezistenci (obrázek 5). [10,16,42]

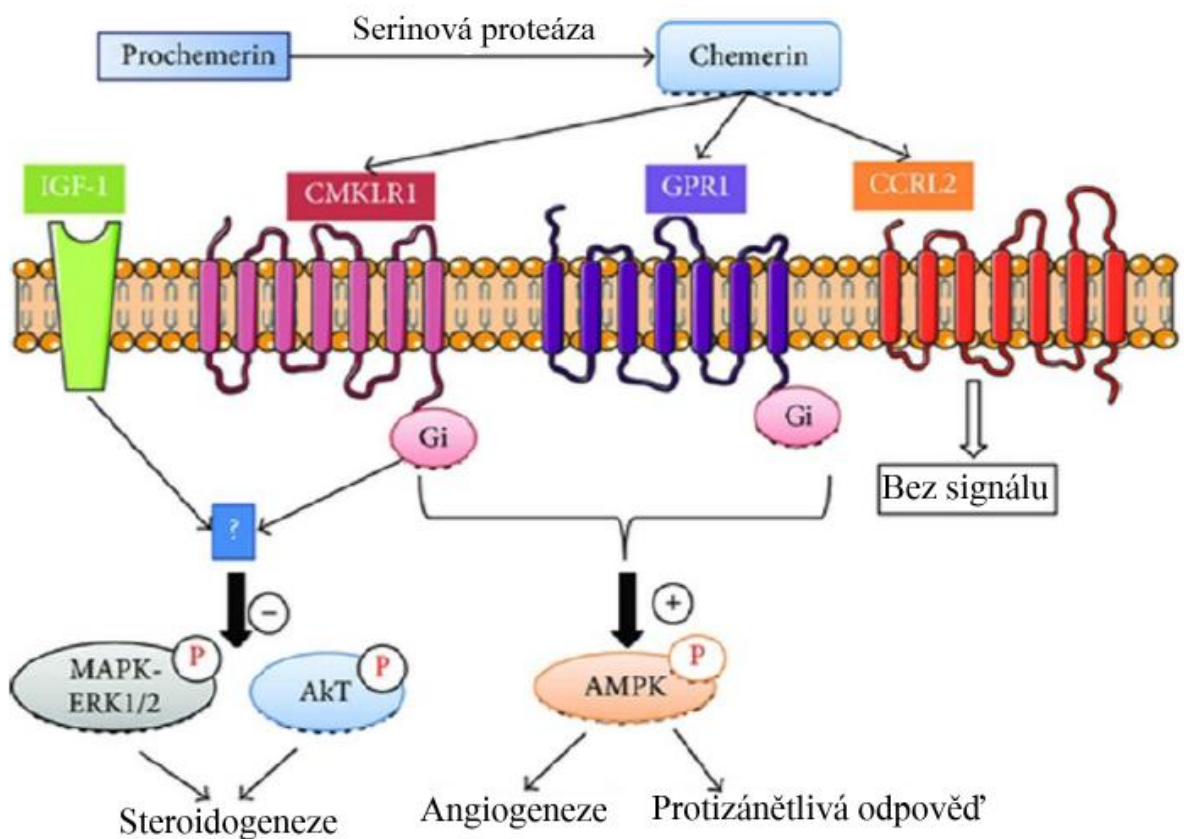
5.2 GPR1

Druhým receptorem, u kterého je prokázána vaznost chemerinu, je G-protein sdružený receptor 1(GPR1). Tento receptor úzce souvisí s CMKLR1. Na rozdíl od CMKLR1, GPR1 se nenachází v monocytech, makrofázích nebo lymfocytech periferní krve. Místo toho souvisí s buňkami centrálního nervového systému. O vlivu chemerinu na centrální nervový

system se zatím moc neví, protože stále probíhají potřebné studie. Dále se GPR1 vyskytuje také v tukové tkáni, kostních svalech a v malé míře i v leukocytech (obrázek 5). [35,42]

5.3 CCLR2

Třetím receptorem, který váže chemerin, je CCLR2 (také GPCR), patří do velké rodiny receptorů chemokinů. Byl objeven v roce 1998. CCRL2 se vyskytuje v malých množstvích v tukové tkáni a ve vyšším množství ho najdeme v plicích, slezině, srdci a leukocytech. Podle současných poznatku tento receptor poskytuje nedostatečný signál oproti CMKLR1 a GPR1. Tento nedostatek signalizace je nejpravděpodobněji způsoben některými odchylkami v rámci jeho sekvence (obrázek 5). [22,25]

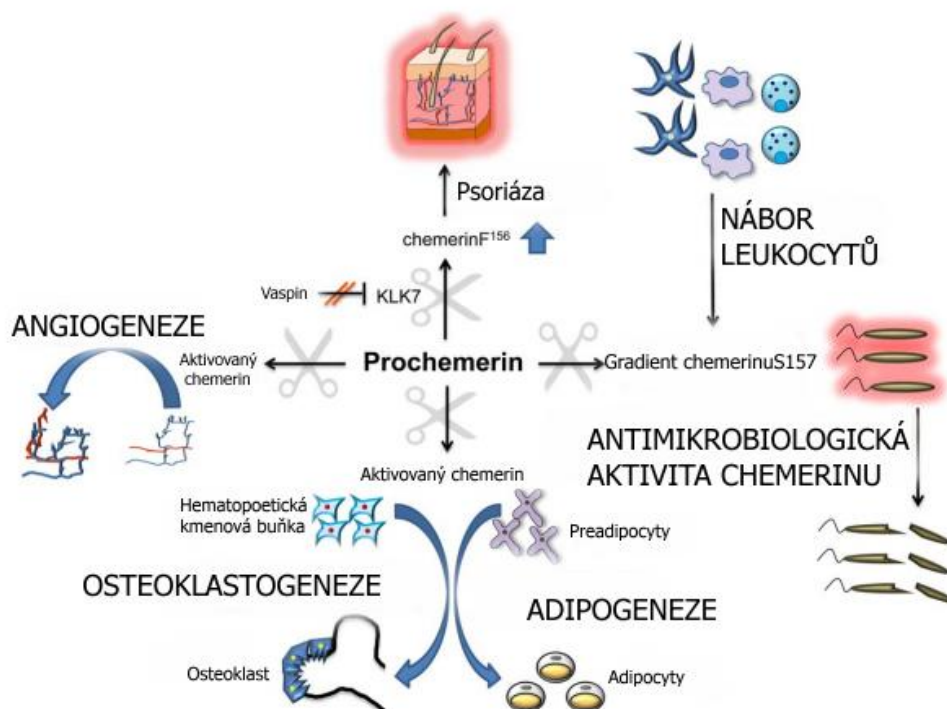


Obrázek 5 Chemerinové receptory CMKLR1, GPR1 a CCRL2 (upraveno dle zdroje 1)

6 FUNKCE

Jak shrnuje obrázek 6 cirkulující hladiny chemerinu jsou zvýšené u mnoha onemocnění, které jsou spojené s chronickým zánětem. Hladiny sérového chemerinu jsou zvýšeny u Crohnovy choroby, ulcerózní kolitidy, chronické pankreatitidy, preeklampsie, lupenky, rakoviny, roztroušené sklerózy, revmatoidní artritidy, osteoartritidy, psoriatické artritidy, chronického onemocnění ledvin, syndromu polycystických vaječníků a onemocnění jater. [7,42]

Funkce chemerinu hraje úlohu při zánětu a metabolickém syndromu, který je spojen s inzulínovou rezistencí a akumulací tuku. Chemerin způsobuje inzulínovou rezistenci v buňkách kosterního svalstva. Chemerin může v budoucnu působit jako biomarker pro diagnózu subklinického diabetu. Zvýšené hladiny byly nalezeny také u pacientů trpící tuberkulózou. Porozumění mechanismu účinku chemerinu je velmi složité, kvůli mnoha izoformám. [7, 37,41]



Obrázek 6 Zapojení chemerinu do různých funkcí při zánětu, obezitě, role v kůži, diferenciaci buněk a abiogenezi (upraveno dle zdroje 66)

7 CHEMERIN PROZÁNĚTLIVÝ NEBO PROTIZÁNĚTLIVÝ

Současná experimentální data podporují fakt, že chemerin má prozánětlivou i protizánětlivou roli. Není však jasné, jestli je prozánětlivá nebo protizánětlivá činnost dominantní. To může být přičítáno různé roli chemerinu přes různé izoformy v různých fázích zánětu. [19,42]

První prozánětlivá role chemerinu byla prokázána díky jeho chemopřitažlivosti, která je charakteristická pro leukocyty vyjádřené v oblasti zánětu. Další zjištění, které potvrzuje prozánětlivou aktivitu chemerinu je přítomnost pozitivního vztahu mezi prozánětlivými cytokiny, jako je například IL-6, CRP a TNF α . Zvýšené hladiny cirkulujícího chemerinu byly nalezeny v mnoha zánětlivých onemocněních. Mezi hlavní nemoci patří například Crohnova nemoc, ulcerózní kolitida, onemocnění jater, chronické onemocnění ledvin a preeklampsie. Dále je chemerin zvýšený u pacientů s chronickou hemodialýzou. Dále byly zjištěny pozitivní korelace mezi hladinami chemerinu v séru a tělesnou hmotností, inzulínem nalačno, leptinem a CRP. Studie stanovily chemerin jako závislý ukazatel metabolického syndromu. Díky těmto údajům je prozánětlivá role chemerinu přičítána jeho vlivu na adhezi a chemotaxi leukocytů v zánětlivých tkáních prostřednictvím receptoru CMKLR1. [21,42]

Experimentální údaje ukázaly, že receptor CMKLR1 má taky protizánětlivou aktivitu. Tento protizánětlivý účinek vyvolávají resolviny. Resolviny působí jako silné inhibitory infiltrace leukocytů. Resolviny snižují hladiny IL-12 a TNF α prostřednictvím signálu z receptoru CMKLR1. Experimentální zkoumání na zvířatech ukázalo, že inhibice endogenní aktivity chemerinu nebo exprese receptoru CMKLR1 zvyšuje závažnost zánětu. V experimentální fázi studie bylo prokázáno, že chemerin inhibuje T-lymfocyt. [12,28]

8 ROLE CHEMERINU VE VZTAHU K OBEZITĚ

Základní kámen chápání chemerinu v patologii člověka, byl udán v roce 2007. V tomto roce bylo uvedeno, že chemerin a CMKLR1 jsou vyjádřeny v bílé tukové tkáni a že cirkulující chemerin je zvýšený u obézních lidí a hlodavců. Následně studie *in vitro* na zvířatech a lidech stanovily význam chemerinu ve vztahu k obezitě, metabolickému syndromu a kardiovaskulárním chorobám. [13,20,25]

Hladiny chemerinu úzce souvisí se stupněm celkové adipozity. U mladých a dospělých pacientů se zvýšené hladiny chemerinu nachází v plazmě i v séru a pozitivně koreluje s indexem tělesné hmotnosti (BMI) a mírou centrální adipozity. Expresí chemerinové mRNA v tukové tkáni se u obézních pacientů zvyšuje expresí v omentální tukové tkáni. [13,16]

Při obezitě dochází k řadě procesů, které zahrnují hypertrofii (rozšíření) adipocytů a hyperplazii (zmnožení) adipocytů. K hyperplazii adipocytů přispívá zvýšená proliferace a diferenciace preadipocytů na adipocyty. Během časně fáze rozvoje klonální diferenciace adipocytů je nezbytná chemerinová signalizace. Zde je peroxizom hlavní regulátor adipogeneze a tím přímo zvyšuje expresi chemerinu. Snížení hladiny chemerinu nebo CMKLR1 vede k poruchám diferenciace 3T3-L1 linie. Aby došlo ke snížení hladiny CMKLR1 *in vivo* je potřebný úbytek tukové hmoty a adipozity. 3T3-L1 je buněčná linie odvozená z (myších) 3T3 buněk. Buněčná linie 3T3 se stala standardní buněčnou linií fibroblastů. 3T3 buňky sekretují růstové faktory. [18,29]

Zvýšená adipozita také naznačuje chronický zánět tukové tkáně, který má souvislost se samotnou obezitou, stejně jako s mnoha komorbiditami spojené s obezitou. Pro zánět bílé tukové tkáně je charakteristická zvýšená sekrece adipokinů, jako je TNF α a IL-6, nábor a infiltrace makrofágů, NK buněk, T buněk a nezralých DC buněk. Ta může vzrůst v důsledku zvýšené exprese prozánětlivých cytosinů (TNF α , IL-1b a LPS), které mají ustálenou úlohu ve zvýšené expresi chemerinu. Expanze a zánět tukové tkáně může pravděpodobně být prvním signálem pro zvýšenou produkci chemerinu. Studie naznačují, že chemerinová exprese je dynamická a je podstatně zvýšená u lidí s obezitou. [2,7,18]

9 CHEMERIN A KOMORBIDITY OBEZITY

Komorbidity jsou přidružené nemoci obezity, mezi které patří například metabolický syndrom a diabetes mellitus. [56]

9.1 Metabolický syndrom

Metabolický syndrom je charakterizován jako skupina poruch, včetně poruchy glukózové homeostázy, vysokého krevního tlaku, hyperglykémie, hypertenze, dyslipidémie a adipozity. Určité studie se domnívají, že zvýšená cirkulace chemerinu je rizikovým faktorem pro metabolický syndrom. [13, 56]

V letech 2007-2008 byla provedena studie zaměřující se na vliv chemerinu k metabolickému syndromu. Tato studie zahrnovala 55 zdravých jedinců (bez obezity) a 181 monitorovaných osob s velkým rizikem metabolického syndromu. Z toho bylo 122 bez metabolického syndromu a 59 s metabolickým syndromem. Pacienti s rizikem metabolického syndromu byli sledováni nebo léčeni pro nějaký indikátor metabolického syndromu (prediabetes, obezita, dyslipidémie). Sérové hladiny chemerinu byly stanoveny ve vzorcích dostupnou metodou ELISA. Významný rozdíl v hladinách chemerinu byl nalezen u pacientů s rizikem metabolického syndromu. U pacientů s metabolickým syndromem jsou zvýšené hladiny cirkulujícího TAG, LDL a vysoký krevní tlak. Cílem studie bylo určit, zda chemerin může vystupovat jako marker metabolického syndromu. Studie tyto výsledky potvrdila a označila chemerin za nezávislý adipokinový marker metabolického syndromu. Další výzkum je nadále nezbytný k potvrzení této studie. [55, 56]

Studie dále potvrdila, že chemerinové sérum je spojené s metabolickým syndromem a hypertenzí. To značí, že chemerin může být považován za nový regulátor krevního tlaku. Chemerin má vzájemný vztah se systolickým a diastolickým tlakem. Tato hypotéza je podpořena skutečností, že chemerin se výrazně projevuje v ledvinách. Ledviny jsou klíčovým místem pro regulaci krevního tlaku.[13, 22]

9.2 Diabetes typu 2

Příčinou diabetes mellitus typu 2 (T2D) je rezistence tkání vůči inzulínu, jde tedy o relativní nedostatek inzulínu ve tkáních. Tato nemoc je získaná a má spojitost se špatnou

stravou, minimem pohybu a s nárůstem obezity. Způsobuje tak snížení počtu inzulínových receptorů, a tím i schopnost tkání inzulín vstřebávat. Chemerin je v séru zvýšený u pacientů s T2D. Zdá se, že chemerin je cenným markerem pro stupeň inzulínové rezistence. Cílem této studie je prozkoumat vztah chemerinu jako markeru pro T2D.[27, 56]

T2D nevzniká náhle, předchází ho stav zvaný prediabetes, který je ještě vratný. Prediabetes je období, kdy se naše tělo hůře vypořádává s cukrem přijatým v potravě. Hladina glukózy je zvýšena, ale ne natolik, aby se dalo hovořit o T2D. Pokud dojde ke změně životního stylu, tak se prediabetes ztratí, ale pokud se neřeší, tak je velká pravděpodobnost, že se přehoupne v T2D. Při diabetu dochází k poškození cév, srdce, ledvin a očí. Příčinou je zvýšená hladina cukru v krvi. S tou se v mírnější podobě setkáváme i u prediabetu. Není vyloučené, že tyto poškození se mohou vyvíjet již v době, kdy se ještě nejedná o diabetes. Prediabetes probíhá v podstatě stejně jako diabetes. Dojde k narušení vnímavosti tkáně na inzulín a glukóza tak zůstane v krvi.[56, 68]

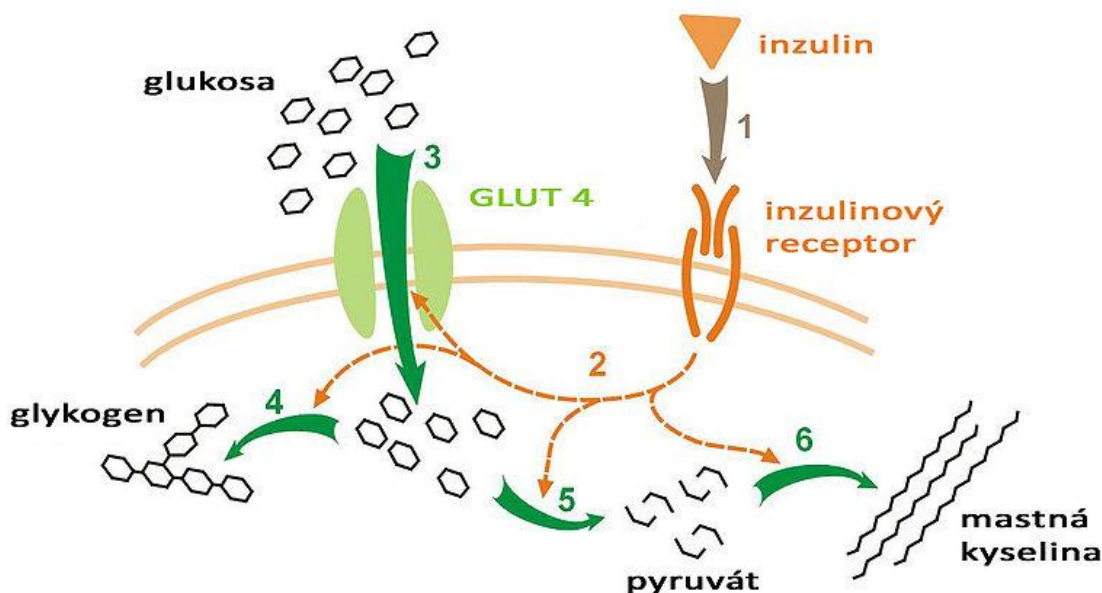
Chemerin má také vliv na glukózový transportér 4.GLUT-4 je hlavní transportní protein glukózy, který obsahuje 12 transmembránových domén. Je hlavním zprostředkovatelem odstranění glukózy z oběhu a regulátorem glukózové homeostázy. Je vysoce exprimován v tukové tkáni a kosterním svalstvu. GLUT-4 je klíčový determinant glukózové homeostázy. Snížený GLUT-4 ve svalových a tukových tkáních vykazuje inzulínovou rezistenci a sklon k diabetu. Naopak zvýšená hladina vykazuje dostatečnou citlivost na inzulín a glukózovou toleranci. Obrázek 7 znázorňuje vliv inzulínu na příjem glukózy za pomoci GLUT-4. Inzulín se naváže na inzulínový receptor a dochází k translokaci GLUT-4 na plasmatickou membránu.[27, 56]

Inzulínová rezistence je snížená citlivost tkání na inzulín. Z počátku je glukózová tolerance nedotčena, protože se zvyšuje sekrece inzulínu, aby se překonala celulární rezistence. Tento hyperinzulinemický stav však může vést ke zhoršení inzulínové rezistence. To vede k intoleranci glukózy, hyperlipidémii a nakonec k diabetu 2 typu. [56, 68]

Výsledky studií naznačují, že při poškození sekrece inzulínu může chemerin značit příčinu intolerance glukózy. Nejdříve se zkoumal výraz chemerinu a jeho receptorů v různých tkáních. Překvapivě byl chemerin nejvíce vyjádřen ve slinivce. Dále se analyzovala schopnost chemerinu vylučovat inzulín. Sérové hladiny inzulínu byly u chemerinu nižší. Výsledky naznačují, že schopnost buněk vylučovat inzulín byl u chemerinu narušen. [27, 68]

Studie zahrnovala tři kontrolní skupiny. První skupina zahrnovala 20 zdravých pacientů. V druhé skupině bylo 40 pacientů s T2D. A do třetí skupiny patřilo 20 pacientů s metabolickým syndromem. Odebraný vzorek séra byl ihned testován na glukózu a lipidový profil. Zbytek séra se nechal na stanovení chemerinu za pomoci metody ELISA. U pacientů s diabetem 2 typu byly vyšší hladiny cholesterolu, TAG a sérového chemerinu, než u první kontrolní skupiny. Všechny tyto parametry byly vyšší i u pacientů s metabolickým syndromem. [27, 57]

Doposud ale neexistují žádné studie, které se zabývají hlubším vztahem chemerinu a rizikem vzniku T2D. Proto není zcela jasné, zda chemerin působí jako příčina vzniku diabetu nebo jako následek onemocnění.[27, 57]



Obrázek 7 Vliv inzulínu na příjem glukózy přes GLUT-4 (upraveno dle zdroje 68)

10 CHEMERIN A RENÁLNÍ DYSFUNKCE

Chronické onemocnění ledvin je celosvětovým zdravotnickým problémem, který se týká přibližně 10% populace. Tato nemoc je charakterizována progresivní ztrátou funkce ledvin paralelně s nárůstem kardiovaskulárních onemocnění. U chronického onemocnění ledvin jsou sérové hladiny adipokinů, tedy resistinu, leptinu a visfatinu výrazně zvýšeny, díky snížené renální clearance. Peptidové hormony jsou považovány za uremické toxiny a mohou tak hrát významnou roli v metabolických poruchách při selhání ledvin. Několik výzkumů se zabývalo vztahem mezi chemerinem a chronickou nemocí ledvin u pacientů, jak na dialýze, tak bez ní. [15, 30]

10.1 Cirkulující hladiny chemerinu a funkce ledvin

První studie, které se zabývaly vztahem chemerinu a funkcí ledvin byly publikovány v roce 2010. Stanovila se hladina sérového chemerinu u 60 pacientů s chronickou hemodialýzou a u 60 pacientů se sníženou schopností glomerulární filtrace. Hodnoty sérového chemerinu u pacientů s chronickou hemodialýzou byly více než dvojnásobně vyšší bez ohledu na pohlaví a přítomnost diabetu 2. typu. Následně se provedla další vyšetření u 116 pacientů s diabetem 2. typu. Pacienti byli rozděleni do tří skupin podle vylučování albuminu močí (mikroalbuminurie, normální albuminurie a makroalbuminurie). Ve srovnání se zdravými pacienty, vzrostla hodnota chemerinu pouze u pacientů s makroalbuminurií.[31,35]

Tyto výsledky přispívají k názoru, že existuje vztah mezi chemerinem a renální funkcí. Dále se studie zaměřily na vztah chemerinu a pacientů po transplantaci ledvin. Pacienti byli vyšetřeni před transplantací a po 3 měsících od transplantace ledvin. Zvýšené hladiny sérového chemerinu u renálního onemocnění se snížily na hodnotu, která je pozorovatelná u zdravých pacientů po transplantaci ledvin. Bylo to doprovázeno zvýšenou glomerulární filtrací a sníženou hladinou kreatininu v séru. Hladina chemerinu se pravděpodobně zvyšuje s poklesem funkce ledvin a dochází ke zhoršení progresu renální nedostatečnosti. U pacientů s ESRD s pravidelnou dialýzou zůstává hladina chemerinu zvýšená. [20, 31]

10.2 Příčiny zvýšených hladin chemerinu u chronického onemocnění ledvin

Díky glomerulární filtraci a degradaci ledvin, dochází k ovlivňování sérových adipokinů, kterými jsou leptin a retinol binding protein (RBP). Lze předpokládat,

že nejpravděpodobnější příčinou zvýšené hladiny cirkulujícího chemerinu u chronického onemocnění ledvin je nedostatečná eliminace sérového chemerinu ledvinami a to v důsledku nedostatečné renální filtrace. Normalizace hladin chemerinu v séru po úspěšné transplantaci ledvin může být v důsledku zvýšené eliminace chemerinu transplantovanou ledvinou. U studie nebyla provedena měření koncentrace chemerinu v moči. Koncentrace chemerinu v moči by měla být měřena, aby došlo k jednoznačnému určení, zda renální vylučování chemerinu ovlivňuje hladinu chemerinu v séru u pacientů trpících chronickým onemocněním ledvin. [20, 42]

Ovlivnit koncentraci cirkulujícího chemerinu v ledvinách lze nejen jeho eliminací, ale i syntézou. Studie zaměřená na zvýšené hladiny sérového chemerinu u pacientů s renální dysfunkcí byla provedena změřením hladin mRNA u pacientů s chronickým onemocněním ledvin v subkutánní tkáni. Závěrem bylo, že zvýšená hladina chemerinu v séru u pacientů trpících chronickým onemocněním ledvin není způsobena zvýšenou produkcí chemerinu v subkutánní tukové tkáni, ale spíše renální funkcí. Nicméně zvýšená produkce chemerinu viscerální tkání není zcela vyloučena, protože uvolňování chemerinu z podkoží a viscerální tukové tkáně je odlišné u pacientů, kteří podstoupili břišní chirurgii. [13,20]

11 CHEMERIN A ATEROSKLERÓZA

Kardiovaskulární onemocnění (CVD) je nejčastější příčinou úmrtí a zdravotních potíží na celém světě. Proto je kladen velký důraz na objevení nových rizikových faktorů, které mohou být významné pro řízení a prevenci CVD. Prokázání role chemerinu a CVD je obtížné, protože systém CVD je složitý. I když mechanismy patologických onemocnění nebyly důkladně vyšetřeny ve vztahu k chemerinu, některé studie uvádí pozitivní asociaci s hladinami chemerinu. Zvýšená hladina chemerinu v plazmě má úzkou souvislost s renální nedostatečností, která může vést ke vzniku kardiovaskulárních onemocnění u koronárních pacientů. [1,11,23]

U vztahu mezi chemerinem a kardiovaskulárním systémem byly popisovány účinky, jako jsou změny endotelové adheze, úprava lipidů a glukózy za pomoci glukózové intolerance nebo změnou jejich infiltrace endotheliem. Jedna z nejdůležitějších rolí chemerinu je chemo-přitažlivost. Tímto způsobem makrofágy interagují s dendritickými buňkami a s buňkami přirozených zabíječů a jsou zaměřeny na oblast poškození (obrázek 8). [14,17]

Endotelová dysfunkce vede k poruše relaxace cév, zvyšuje proliferaci cévní stěny a adhezi leukocytů na povrch endotelových buněk. Adheze leukocytů s proliferací hladké svaloviny vzájemně přispívá k vývoji aterosklerotických plátů. Ruptura plátu s následným vytvořením trombu je nejčastější příčinou náhlé koronární příhody. Stabilní plát má pevný fibrózní obal, méně infiltrovaných leukocytů a menší lipoidní jádro. Cytokiny, infekční agens a LDL mohou zeslabit integritu fibrózního obalu. Endotelová dysfunkce je tedy markerem aterosklerózy. Cévy, které jsou postižené aterosklerózou, trpí i endotelovou dysfunkcí. Endotelová dysfunkce uvolňuje vazokonstrikční látku endothelin-1. Jeho zvýšenou hladinu nacházíme u pacientů s aterosklerózou nebo akutním koronárním syndromem.[1,23,31]

Chemerin, jako růstový faktor, může indukovat metaloproteázy, mezi které patří matrixová metaloproteináza-7 (MMP-7), MMP-2 a MMP-9. To značí endoteliální angiogenezi indukovanou chemerinem a MMP, což ovlivňuje růst a přestavbu krevní cévy. Matrixové metaloproteinázy jsou endopeptidázy, které ke své aktivitě potřebují zinek. Jsou sekretovány z buněk v neaktivní formě. Aktivují se například plazminem a podílejí se, na štěpení bílkovin extracelulární matrix. Mají význam při regeneraci tkání, hojení a tvorbě jizvy a zánětu. [11,38]

Jako chemokin může chemerin umožňovat chemoatrakci prostřednictvím interakce s NK buňkami, makrofágy, dendritickými buňkami a difúzí z místa poranění. Chemerin výrazně indukuje expresi E-selektinu a ICAM-1 v lidské endoteliální buňce koronární artérie. Chemerin uvolněný z tuku nebo jiné tkáně (játra) může stimulovat CMKLR1 na hladkém svalstvu cév a vyvolat tak kontrakci a prozánětlivou reakci. To vede k vytvoření nových krevních cév, které mohou být nezbytnou složkou expanze tukové tkáně. [3,11,38]

Ateroskleróza je neinfekční zánětlivé postižení cévní stěny, při kterém dochází k ukládání tuku do cévní stěny. Dochází k zužení tepny a k zhoršení proudění krve (obrázek 9). Při počínajícím onemocnění je tepna na vnitřní straně poškozena a dochází zde k zachytávání tuku. Nahromaděné látky se vyskytují v podobě aterosklerotického plátu, který způsobí zúžení a následně i ucpání tepny. Rizikové faktory zvyšující pravděpodobnost onemocnění jsou například stres, vysoký krevní tlak, obezita, cukrovka, vysoká hladina cholesterolu, tučná strava a kouření. [3,38]

Ateroskleróza má vztah s chemerinem na různých epidemiologických úrovních. Je to způsobené receptory na makrofázích. Chemerin v zánětlivém systému pravděpodobně zvyšuje sílu makrofágové aktivity v poškozených tkáních a napomáhá migraci imunitních buněk směrem k poškozené oblasti. Přítomnost CMKLR1 na buňkách hladkého svalstva může z počátku pomoci hojení lézí za přispění abnormálních kontrakcí a následně působit v buňkách s výskytem tukových pruhů, které způsobují progresi nemoci. Tuto hypotézu částečně podporuje fakt, že chemerin indukuje deregulaci oxidu dusnatého. Oxid dusnatý působí na hladké svalstvo cévy. Díky působení chemerinu na oxid dusnatý nedochází k dostatečnému roztažení cév a to má za následek rychlejší tvorbu tukových pruhů. Jeho vztah k vaskulárním patologiím by měl být prokázán v podmínkách *in vivo*. Za účelem zjištění složitosti těchto signálů je zapotřebí replikace v lidském těle. Úloha chemerinu v metabolismu lipidů vede k významnému účinku v postupu těchto poruch. Chemerin je tím považován za nový biomarker pro koronární aterosklerózu. [1,14]

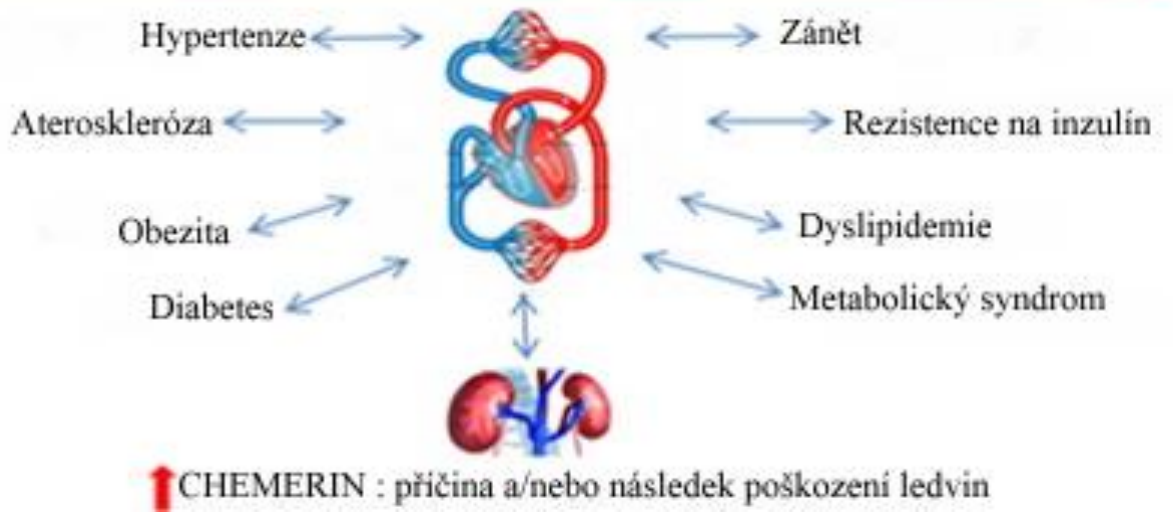
Ve dvou studiích na pacientech čínské populace se ukázalo, že hladiny chemerinu v séru byly významně vyšší ve skupině s CVD, než s pacienty, kteří neměli CVD. Přestože byly významně vyšší hladiny chemerinu v séru u pacientů s CVD, není jasné, zda tato zvýšená úroveň představuje náznak CVD nebo je výsledkem morfologie aterosklerotického plaku. Byla prokázána korelace mezi hladinami chemerinu a závažností koronární arteriální stenózy u 131 pacientů s CVD, ale nebylo možné poukázat na fakt, že by mohlo jít

o nezávislý rizikový faktor pro mnohočetná onemocnění. Ve studii byly hlášeny pozitivní korelace mezi hladinami sérového chemerinu a glukózou nalačno, triglyceridy, celkovým cholesterolem a vysokou citlivostí CRP. Existuje pouze jedna studie, která vyhodnocuje hladinu cirkulujícího sérového chemerinu jako predátor akutního koronárního syndromu (ACS). [1,19]

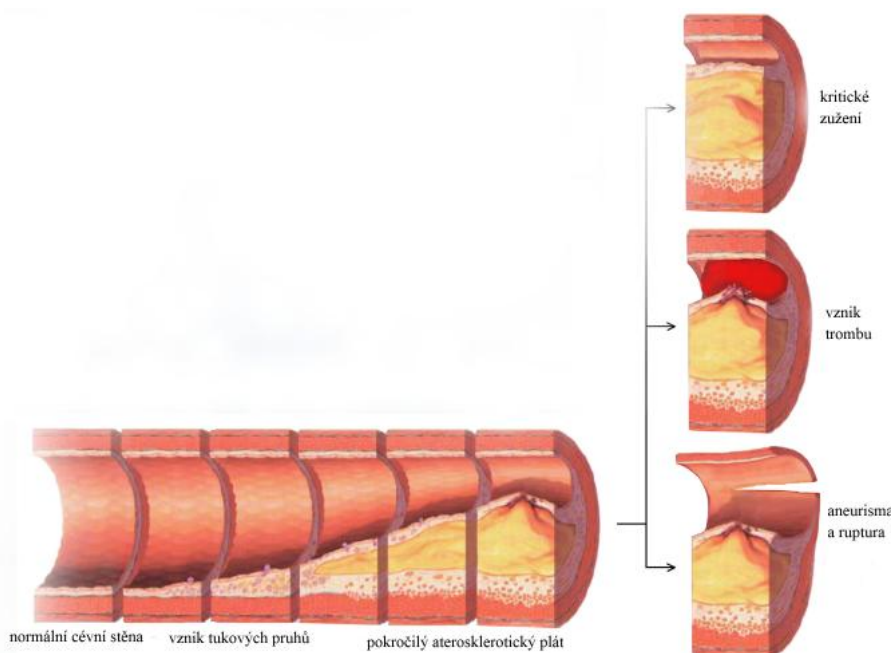
Ve vývoji kardiovaskulárních onemocnění je chemerin považován za rizikový faktor při vzniku hyperlipidemie. Chemerin má pozitivní vztah mezi triglyceridy, hladinou krevního tlaku, lipoproteinem cholesterolu s nízkou hustotou a negativní vztah s HDL cholesterolem. Ve studiích *in vivo* na myších bylo prokázáno, že chemerin vykazuje lipolytický účinek za pomoci CMKLR1, aby nedošlo ke změně hladiny TG a aby po intenzivním zvýšení hladiny cholesterolu došlo k expresi. Budoucí studie se budou muset zaměřit na hlubší vliv chemerinu v lipidové homeostáze. I když byl v minulých studiích prokázán vztah chemerinu a obezity, zánětem a metabolickým syndromem, je zapotřebí se zaměřit na další studie, které by prokázaly jeho vztah s kardiovaskulárními rizikovými faktory. [11,23]

I když byl prokázán negativní účinek chemerinu na vaskulární homeostázu a na vznik koronární aterosklerózy, jsou nadále nezbytné další chemerinové studie k detekci kardiovaskulárních onemocnění a měl by být zvláště prozkoumán ve skupině vysoce rizikových jedinců. Mělo by dojít k vyšetřování mechanické role chemerinu v procesu vývoje aterosklerotického plaku. Výsledky mezi koronární aterosklerózou a hladinou chemerinu v séru jsou prováděny za použití souprav ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) s různými charakteristikami a použitím různých metod vyhodnocení aterosklerotického indexu. Tyto studie podporují úlohu chemerinu, kterou hraje v patogenezi aterosklerózy a aterosklerotického procesu, ale také podporuje apokrinní a parakrinní funkci chemerinu v srdci. [3,31]

Kardiovaskulární systém ve spojení s chemerinem a jeho souvisejícími patologiemi



Obrázek 8 Kardiovaskulární systém a chemerin (upraveno dle zdroje 21)



Obrázek 9 Vznik aterosklerotického plátu (upraveno dle zdroje 68)

Tabulka 4 popisuje deregulaci hladin chemerinu v závislosti na chorobném stavu pacienta. Chemerin jako adipokin s rolí v tukové tkáni a při imunitě je zajímavým markerem při zánětlivých a metabolických onemocněních. I když se koncentrace cirkulujícího chemerinu mění u populace a studie, tak zvýšené hladiny chemerinu v plazmě a séru se vyskytují u zánětlivých kožních onemocnění, diabetu a dalších chronických a akutních stavech. Vysvětlivky k tabulce.

^a<0,05 vs. kontrolní populace

^b<0,05 vs. srovnávací stav

CVD – onemocnění kardiovaskulární, MetS – metabolický syndrom, NAFLD – nealkoholické tukové jaterní onemocnění, NGT – normální tolerance glukózy, T1D – diabetes mellitus 1. typu, T2D – diabetes mellitus 2. typu

Tabulka 4 Dysregulace hladin chemerinu u chorobných stavů (upraveno dle zdroje 42)

Hladiny chemerinu (ng mL ⁻¹)				Vzorek
Zdravý		Nemoci		
Zánět				
~125	Zdravý	~200 ^a	Psoriáza	Sérum
		~50 ^a	Chronická dermatitida	
Metabolismus				
Metabolický syndrom				
186	Zdravý	230 ^a	Obezita	Sérum
		266 ^{ab}	Obezita + MetS	
95	Opírá se	111 ^a	MetS bez CVD	Sérum
		133 ^{ab}	MetS s CVD	
Diabetes				
180	Zdravý	191 ^a	T2D	Plazma
94	Zdravý	144 ^a	T2D	Sérum
197,4	NGT	193,3	Zhoršená glukóza na lačno	Sérum
		227,3 ^a	Snížená tolerance glukózy	
		237,9 ^a	T2D	

190	NGT	~230 ^a	T2D	Sérum
266	Opírá se	265	T2D	Plazma
		546,3 ^a	T2D + perivaskulární choroby	
62,1	Zdravý	68,6	T2D	Plazma
		74,6 ^{ab}	T2D + hypertenze	
102,4	Zdravý	101,77	T2D	Sérum
		104,6	T2D + mikroalbuminurie	
		132,06 ^{ab}	T2D + makroalbuminurie	
217,6	Těhotenství	230,3	Těhotenství + gestační diabetes	Sérum
98	Děti	220 ^a	Nástup T1D	Plazma
		255 ^a	Dlouhodobý T1D	
Ostatní				
107,5	Dospělý	120,9 ^a	Spánková apnoe	Sérum
25,9	Muž	30,3	Chronická hepatitida C	Sérum
37,3	Žena			
210,8	Těhotenství	258,9 ^a	Preeklampsie	Sérum
151	Zdravý	235 ^a	NAFLD	Sérum
204,8	Těhotenství	249,5 ^a	Preeklampsie	Sérum
79,5	Jedna okluzní zástava	86,6 ^a	Vícenásobné uzavření cév	Sérum
50	Zdravý	97	Chronická pankreatitida	Sérum
		34,4 ^a	Akutní pankreatitida	
45	Zdravý	65 ^a	Selhání ledvin	Sérum
		47 ^b	Selhání ledvin + transplantace ledvin	
2,62	Žena	6,02 ^a	Syndrom polycystických vaječnicků	Sérum
89	Zdravý	140 ^{ab}	Crohnova nemoc	Sérum
		124 ^{ab}	Ulcerózní kolitida	
254,3	Zdravý	542,2 ^a	Chronická hemodialýza	Sérum

12 METODY PRO STUDIUM CHEMERINU

Studie se liší v několika aspektech, jako je trvání léčby, umístění chemerinu, čas a metoda detekce, genetická, kulturní a environmentální variace populace a zdravotní poruchy. Tyto faktory jsou často vynechány a to může mít významný dopad na hladinu cirkulujícího chemerinu. Několik studií například zkoumalo potenciaální dopad léků na expresi chemerinu, jako je metformin, inzulin, rosiglitazon, inhibitory enzymu konvertujícího angiotensinu, léky na snížení hladiny cirkulujících lipidů, glukózy a mediátory zánětu. [32,42]

Ke stanovení koncentrace chemerinu se využívá standardní sendvičová ELISA. Ta využívá metodu izomerně specifické chemerinové protilátky pro kvantifikaci hladin specifických izomerů chemerinu. I když se používá pro detekci izotopů na bázi tekutin, je myslitelné, že podobné přístupy by mohly být přijaty pro tkáňové biopsie. To umožní měření izomerů chemerinu v kombinaci s celkovým chemerinem a expresí chemerinového receptoru. Kombinace těchto měření umožní detekci dynamického kolísání aktivních a celkových hladin chemerinu a generování aktivních nebo neaktivních poměrů chemerinu. [33,42]

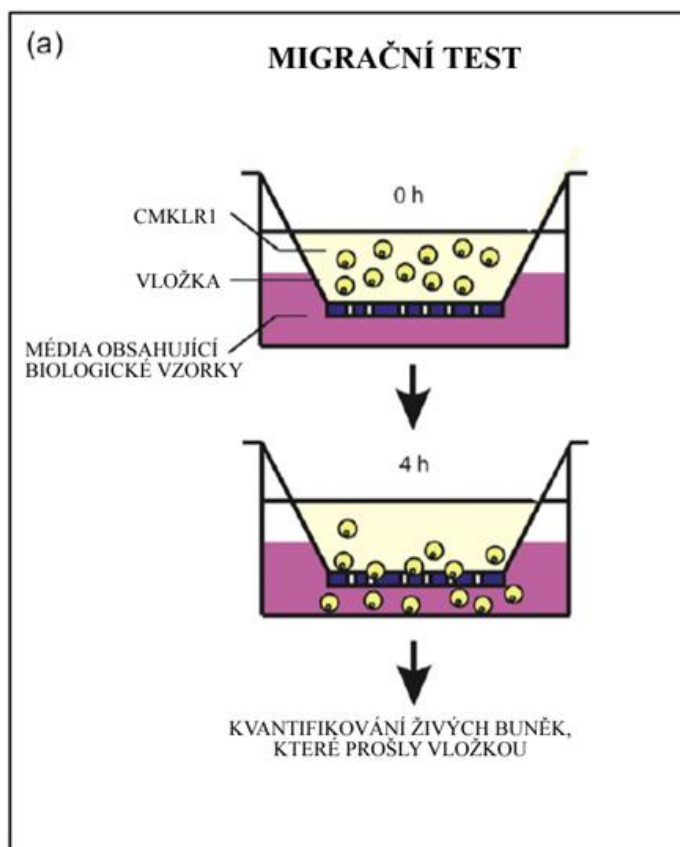
Přínos různých izoform chemerinu k různým biologickým funkcím chemerinu zůstává velkým nedostatkem v našem porozumění o biologii chemerinu. Například izoforma chemerinu, která má nízkou aktivitu pro jednu funkci, může mít významnou aktivitu pro funkci jinou. V nedávné studii bylo uvedeno, že štěpení prochemerinu katepsinem K nebo L vede k tvorbě chemerin-157 a chemerin-125. Tyto dvě izoformy vykazují antibakteriální funkci, ačkoli pouze chemerin-157 působí jako chemoatraktant. Současné studie zkoumají jediný funkční konec pro bod stanovení aktivity izoform. Představa, že funkční selektivita nastává díky malým změnám ve struktuře chemerinu, zdůrazňuje důležitost dalšího upřesnění izoform. Například neobjevené funkce chemerinu se mohou nacházet v oblastech N-konce. Přítomnost izoformy může ovlivnit konečnou funkci chemerinu díky soupeření o vazbu receptoru. [32,33]

13 TECHNIKY IDENTIFIKACE IZOMERŮ CHEMERINU

Existuje několik nástrojů pro identifikaci izomerů chemerinu a pro hodnocení jejich bioaktivity v biologických tekutinách. [42]

13.1 Migrační test

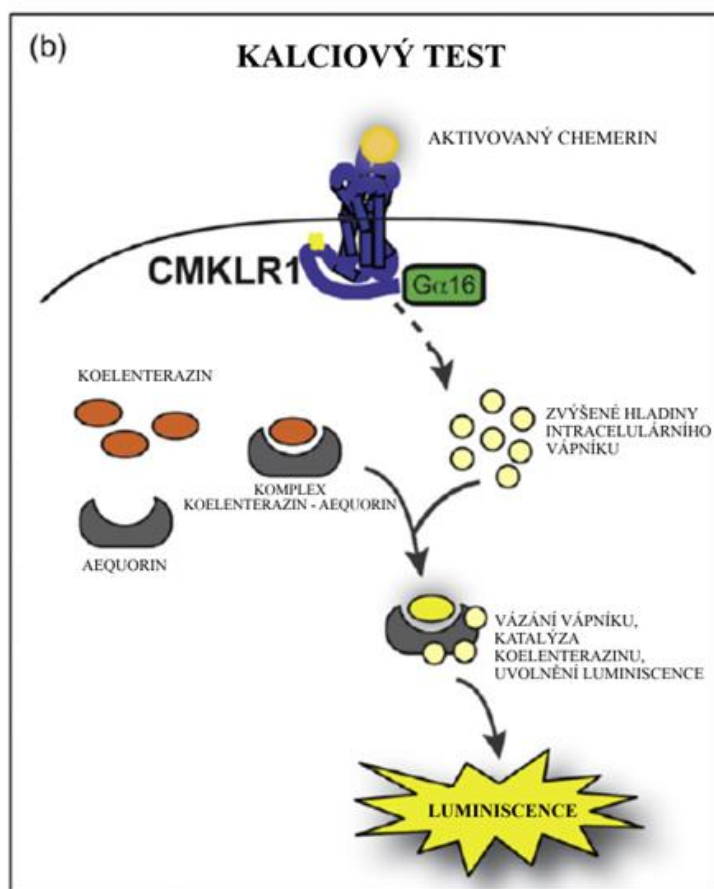
Obrázek 10. Tento test je také známý pod názvem Boydenova komorová zkouška nebo modifikovaná Boydenova komorová zkouška. Slouží k určení schopnosti migrace buněk. Test se skládá z horní části komůrky, která obsahuje transwellovou vložku a spodní části komůrky. Transwellová vložka obsahuje polykarbonátovou membránu s definovanou velikostí pórů. Póry o velikosti 8 μm se používají pro stanovení CMKLR1. Na horní část komůrky se naočkují buňky obsahující receptor CMKLR1, které předtím byly trypsinizovány a resuspendovány v médiu. Do spodní části komůrky se přidá médium sloužící jako chemoatraktant a vše se nechá inkubovat při teplotě 37°C. Chemoatraktanty jsou molekuly, které podporují buněčné přitahování. Díky tomu dochází k migraci buněk z horní komůrky přes póry do spodní komůrky. Migrované buňky jsou po inkubaci fixovány v 70% ethanolu, obarveny krystalovou violetí a počítány za pomoci čtečky destičky.[36,42]



Obrázek 10 Migrační test (upraveno dle zdroje 42)

13.2 Kalciový test

Obrázek 11. Kalciový test je založen na reakci komplexu koelenterazinu-aequorinu s intracelulárním vápníkem, který pochází z chemerinu. Zkoumaný vzorek je přidán do buněčné suspenze, kde dochází k aktivaci CMKLR1. Aktivovaný CMKLR1 má za následek zvýšené koncentrace intracelulárního vápníku. V důsledku zvýšených hladin intracelulárního vápníku dochází k aktivaci komplexu koelenterazin-aequorin. U takto navázaného komplexu dochází ke katalýze koelenterazinu a k následné luminiscenci, která se měří. Koelenterazin je luminiscenční substrát pro aequorin. Aequorin je protein získávaný z medúz, který emituje v přítomnosti kladně nabitých vápníkových iontů modré světlo. [36,42]



Obrázek 11 Kalciový test (upraveno dle zdroje 42)

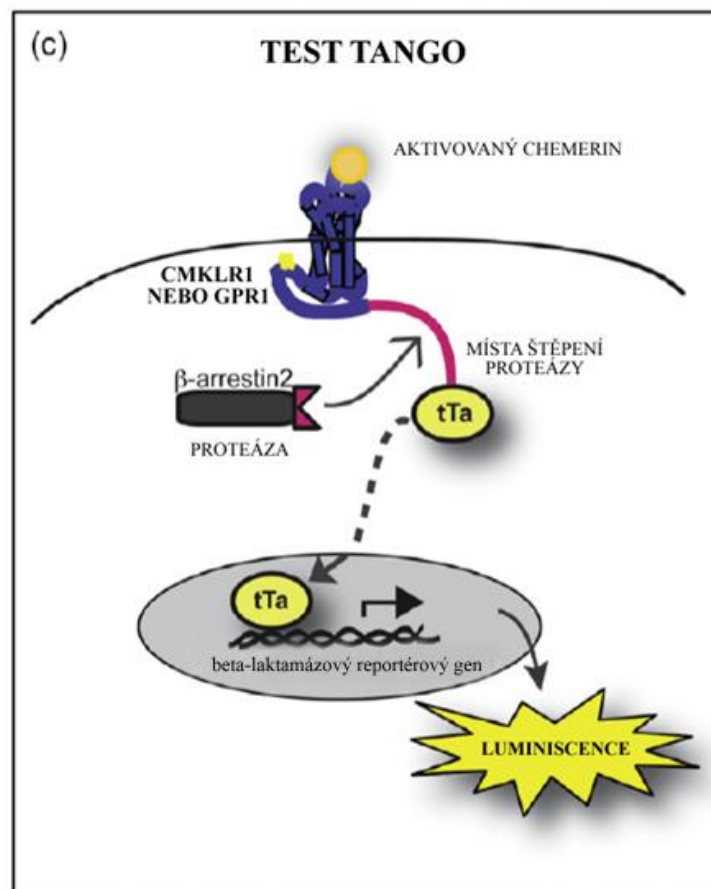
13.3 Test Tango

Obrázek 12. Test Tango využívá reakci s vysoce přesným, citlivým a snadno použitelným beta-laktamázním reportérem. Testovací platforma Tango je založena na vazbě ligandu na specifický receptor vázaný s G-proteinem (CMKLR1 nebo GPR1). Tato vazba vyvolává desenzibilizaci receptoru. Desenzibilizace je proces, při kterém dochází ke snížení

citlivosti. Díky tomu dochází k aktivaci intracelulárního arrestinového proteinu. Výsledkem je reakce arrestinu s testovaným ligandem, který je vázaným G-proteinem. Arrestin odštěpí na C-konci transkripční faktor a tento faktor je poté exprimován v buněčné linii, která obsahuje reportérový beta-laktamázový gen. Tento gen je kombinovaný s FRET B/G substrátem. Jedná se o substrát dvou fluorescenčních látek (kumarinu a fluoresceinu). Buňky jsou fluoreskujícími látkami naplněny a může dojít ke dvěma variantám výsledku. [36,42, 64]

U první varianty nedojde k expresi beta-laktamázového reportérového genu a molekula substrátu zůstane neporušena, kumarin následně vyvolá emisy zeleného fluorescenčního světla v molekule fluoresceinu. [36,42, 64]

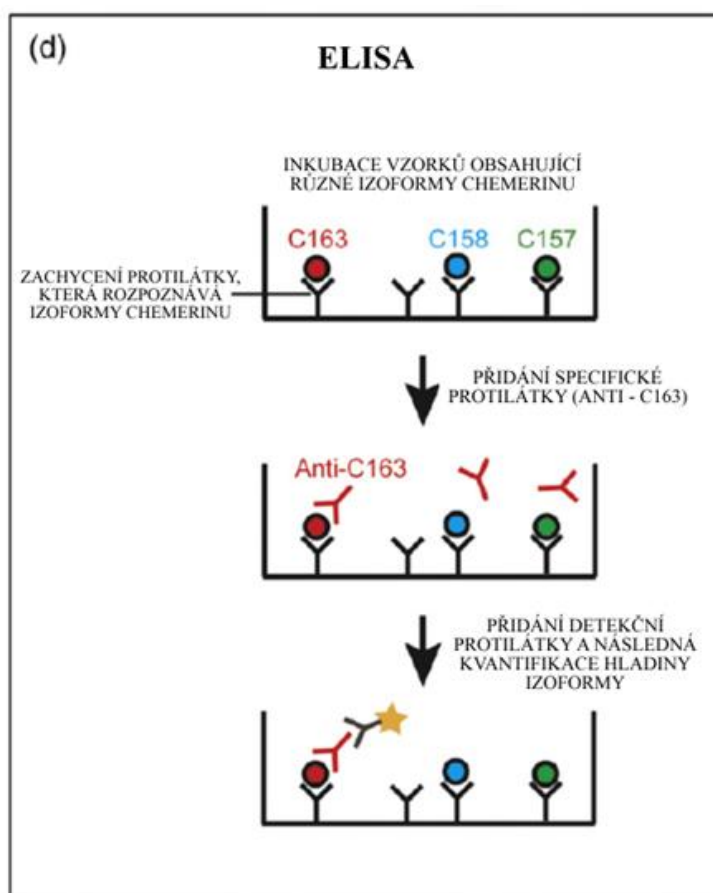
Ve druhé variantě dojde k expresi beta-laktamázového reportérového genu a molekula substrátu se naruší. Kumarin následně vyvolá excitaci modrého fluorescenčního signálu a tento modrý signál detekujeme. Pozitivem tohoto test je, že není ovlivněn jinými signalizačními cestami v buňce a v důsledku toho poskytuje vysoce selektivní odečtení aktivace receptoru. [42, 64]



Obrázek 12 Tango test (upraveno dle zdroje 42)

13.4 ELISA

Obrázek 13. Tento test využívá principu kvantitativní sendvičové ELISA. Sendvičová proto, že se detekovaný antigen nachází mezi dvěma specifickými protilátkami. Vazebná protilátka je imobilizovaná na mikrotitrační destičce a následně je inkubována se stanovovaným vzorkem plazmy. Po promytí jsou k imobilizovanému komplexu protilátky a vzorku přidána další komponenta. Jde o detekční protilátku, která je značená biotinem. Po promytí je přidán konjugát streptavidin s enzymem HRP (křenuv peroxidáza). Následně je přidán substrát, který reaguje s enzymem. Enzym katalyzuje přeměnu substrátu za vzniku barevné změny produktu. Enzymatická reakce se zastaví přidáním „stop“ roztoku. Intenzita výsledného zbarvení produktu se měří. Absorbance je detekována spektrofotometricky. Neotevřená sada na provedení testu se uchovává při teplotě 2 – 8 °C po dobu 6 měsíců. Standart a roztok protilátek by se měl uchovávat v rozmezí - 20 °C až - 70 °C po dobu jednoho měsíce. Streptavidin HRP může být uchován při teplotě 2 – 8 °C po dobu 6 měsíců. [36,42]



Obrázek 13ELISA (upraveno dle zdroje 42)

14 ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Supernatanty buněčné kultury se uchovávají při teplotě až - 70 °C. Musí se vyhnout opakovanému cyklu zmrazování a rozmrazování. [36, 42]

Pro odběr séra se vzorky krve ve zkumavce před použitím nechají centrifugovat. Odebere se sérum, které se skladuje při teplotě - 70 °C. A také se musíme vyvarovat opakovanému cyklu zmrazování a rozmrazování.[36, 42]

Plazma se sbírá do zkumavek s EDTA, který zde slouží jako antikoagulant. Zkumavky se nechají centrifugovat a uchovávají se při teplotě - 70 °C. A také se musíme vyvarovat opakovanému cyklu zmrazování a rozmrazování. Pro test ELISA pro stanovení chemerinu se nesmí použít heparin jako antikoagulant. [36, 42]

15 HODNOTY CHEMERINU

U lidí se chemerin vyskytuje v rozmezí od 90 do 200 ngmL⁻¹ v séru a plazmě. Platí, že ženy a starší lidé mají vyšší hladinu cirkulujícího chemerinu než muži a mladí lidé. V tabulce číslo 4 jsou uvedeny hladiny chemerinu u zdravé populace v porovnání s hladinami chemerinu spojené s nemocí. [36, 42]

16 TERAPEUTICKÁ STRATEGIE A KLINICKÁ UŽITEČNOST

Zaměření se na chemerinovou funkci může být terapeutickou strategií, které jsou zajímavé pro léčbu inzulínové rezistence, zánětu, obezity a souvisejících komorbidit. Inhibice chemerinem zprostředkované chemotaxe a prozánětlivé produkce cytosinů může mít terapeutický účinek. To může být užitečné pro snížení zánětu u pacientů trpící obezitou. Blokování signalizace chemerinu by mohla poškodit vrozenou imunitní odpověď infekce a domnívá se, že i rakoviny. Proto se musí zaměřit na léčbu zaměřenou na obnovení rovnováhy chemerinu než ho úplně odstranit. Ideální léčebný proces by bylo se zaměřit na dys-regulovanou nebo patologickou signalizaci chemerinu. Při které by došlo k zachování nebo podpoře esenciální funkce chemerinu. [34,42]

Specifická modulace signalizace chemerinu může být dosažena jak malými molekulami, tak i biomolekulárním přístupem na bázi proteinů. Selektivní modulace CMKLR1, GPR1 a CCRL2 přes specifické rozpustné molekuly, syntetické chemerinové analogy, mutantní chemerinové peptidy a humanizované protilátky specifické pro neutralizaci izomerů nebo receptorů chemerinu. V ideálním případě by takové metody umožňovaly selektivní inhibici škodlivých změn funkce chemerinu při zachování ochranných chemerinových signálů. Cílená léčiva by pak mohly snížit nábor neutrofilů a monocytů v zánětlivých procesech. Mohly by i snížit zhoršený příjem glukózy a citlivosti na inzulín a potencionálně by mohly přispět ke zlepšení tkáňové funkce. Měření cirkulující hladiny chemerinu má potenciální klinickou užitečnost jako včasný biomarker pro metabolické a zánětlivé onemocnění. Jako důkaz toho, byla nedávná klinická studie, která hlásila, že při vyhodnocení měření časné citlivosti na inzulín byla cirkulující hladina chemerinu více prediktivní než měření inzulínu a leptinu u populace bez klinických příznaků metabolického syndromu. Kromě toho můžou cirkulující hladiny chemerinu předvídat kardiovaskulární komplikaci a zánět u pacientů s nadváhou a obezích dětí. Úzká souvislost s CRP, který je používán jako včasný diagnostický nástroj a také jako míra závažnosti v mnoha zánětlivých stavech, naznačuje, že měření hladin cirkulujícího chemerinu může mít klinickou užitečnost jako biomarker při zánětlivých stavech mimo obezitu. [25,42]

17 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo se zaměřit na vliv chemerinu coby markeru pro kardiovaskulární onemocnění a jeho význam, využití a stanovení.

Experimentální a klinické vyšetřování podporuje význam chemerinu v normální fyziologii a patobiologii zánětlivých a metabolických poruchách. Zejména při ztrátě signalizace chemerinu se narušují tukové tkáně a glukózová homeostáza. Míra obezity a cirkulující hladiny chemerinu jsou spojeny s četnými zánětlivými a metabolickými poruchami a může sloužit jako biomarker pro vývoj onemocnění a progresu. Podobně jako u mnoha adipokinů je funkční regulace chemerinu pouze součástí složité multifaktoriální sítě změn, které se vyskytují při obezitě.

Budoucí studie se musí zaměřit na změny, které se vyskytují ve výrazu, lokalizaci, sekreci a bioaktivitě chemerinu. Některé studie identifikovaly potencionální roli chemerinu v systémových procesech, včetně metabolismu kostí, gestačním metabolismu, příjmu potravy, artritidě, rakovině a renálním selhání. Vyšetření tohoto druhu bude mít význam pro bližší určení přínosu chemerinu v mnoha kontextech nemocí. Výzkum chemerinu představuje slibný terapeutický cíl pro léčbu obezity a souvisejících poruch.

18 ZDROJE

- [1] İNCI S., AKSAN G. a DOĞAN P. Chemerin as an independent predictor of cardiovascular event risk. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*. 2016, 7(2), 57-68 [cit. 2018-02-19].
- [2] ADRYCH K., STOJEK M., SMOCZYNSKI M., et al. Increased serum chemerin concentration in patients with chronic pancreatitis. *Digestive and Liver Disease* [online]. 2012, 44(5), 393-397 [cit. 2018-02-19].
- [3] ARONIS K., SAHIN-EFE A., CHAMBERLAND J. P., et al. Chemerin levels as predictor of acute coronary events: A case-control study nested within the veterans affairs normative aging study. *Metabolism*[online]. 2014, 63(6), 760-766 [cit. 2018-02-19].
- [4] BECKER M., RABE K., LEBHERZ C., et al. Expression of Human Chemerin Induces Insulin Resistance in the Skeletal Muscle but Does Not Affect Weight, Lipid Levels, and Atherosclerosis in LDL Receptor Knockout Mice on High-Fat Diet. *Diabetes* [online]. 2010, 59(11), 2898-2903 [cit. 2018-02-19].
- [5] BONDUE B., DE HENAU O., LUANGSAY S., et al. The Chemerin/ChemR23 System Does Not Affect the Pro-Inflammatory Response of Mouse and Human Macrophages Ex Vivo. *PLoS ONE* [online]. 2012, 7(6), e40043- [cit. 2018-02-19].
- [6] BOZAOGLU K., BOLTON K., MCMILLAN J., et al. Chemerin Is a Novel Adipokine Associated with Obesity and Metabolic Syndrome. *Endocrinology* [online]. 2007, 148(10), 4687-4694 [cit. 2018-02-19].
- [7] CASH J. L., HART R., RUSS A., et al. Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. 2008, 205(4), 767-775 [cit. 2018-02-19].
- [8] CHAKAROUN R., RASCHPICHLER M., KLÖTING N., et al. Effects of weight loss and exercise on chemerin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Metabolism*[online]. 2012, 61(5), 706-714 [cit. 2018-02-19].
- [9] DESSEIN P. H., TSANG L., WOODIWISS A. J., et al. Circulating Concentrations of the Novel Adipokine Chemerin Are Associated with Cardiovascular Disease Risk in Rheumatoid Arthritis. *The Journal of Rheumatology* [online]. 2014, 41(9), 1746-1754 [cit. 2018-02-19].
- [10] GANTZ I., KONDA Y., YANG Y- K., et al. Molecular cloning of a novel receptor (CMKLR1) with homology to the chemotactic factor receptors. *Cytogenetic and Genome Research* [online]. 1996, 74(4), 286-290 [cit. 2018-02-19].

- [11] HAH Y-J., KIM N-K., KIM M-K., et al. Relationship between Chemerin Levels and Cardiometabolic Parameters and Degree of Coronary Stenosis in Korean Patients with Coronary Artery Disease. *Diabetes & Metabolism Journal* [online]. 2011, 35(3), 248- [cit. 2018-02-19].
- [12] KAUR J., ADYA R., TAN B. K., et al. Identification of chemerin receptor (ChemR23) in human endothelial cells: Chemerin-induced endothelial angiogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2010, 391(4), 1762-1768 [cit. 2018-02-19].
- [13] KUKLA M., ZWIRSKA-KORCZALA K., GABRIEL A., et al. Chemerin, vaspin and insulin resistance in chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis* [online]. 2009, , - [cit. 2018-02-19]. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2009.01224.x. ISSN 13520504. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2893.2009.01224.x>
- [14] NEVES K. B., LOBATO N. S., LOPES R. A. M., et al. Chemerin reduces vascular nitric oxide/cGMP signalling in rat aorta: a link to vascular dysfunction in obesity?. *Clinical Science* [online]. 2014, 127(2), 111-122 [cit. 2018-02-19].
- [15] RUTKOWSKI P., SLEDZINSKI T., ZIELINSKA H., et al. Decrease of serum chemerin concentration in patients with end stage renal disease after successful kidney transplantation. *Regulatory Peptides* [online]. 2012, 173(1-3), 55-59 [cit. 2018-02-19].
- [16] VERMI W., RIBOLDI E., WITTAMER V., et al. Role of ChemR23 in directing the migration of myeloid and plasmacytoid dendritic cells to lymphoid organs and inflamed skin. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. 2005, 201(4), 509-515 [cit. 2018-02-19].
- [17] WATTS S. W., DORRANCE A. M., PENFOLD M. E., et al. Chemerin Connects Fat to Arterial Contraction. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [online]. 2013, 33(6), 1320-1328 [cit. 2018-02-19].
- [18] WEIGERT J., NEUMEIER M., WANNINGER J., et al. Systemic chemerin is related to inflammation rather than obesity in type 2 diabetes. *Clinical Endocrinology* [online]. 2010, 72(3), 342-348 [cit. 2018-02-19].
- [19] XIAOTAO L., XIAOXIA Z., YUE X. et al. Serum chemerin levels are associated with the presence and extent of coronary artery disease. *Coronary Artery Disease* [online]. 2012, 23(6), 412-416 [cit. 2018-02-19].
- [20] YAMAMOTO T., QURESHI A. R., ANDERSTAM B., et al. Clinical importance of an elevated circulating chemerin level in incident dialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation* [online]. 2010, 25(12), 4017-4023 [cit. 2018-02-19].

- [21] YAN Q., ZHANG Y., HONG J., et al. The association of serum chemerin level with risk of coronary artery disease in Chinese adults. *Endocrine* [online]. 2012, 41(2), 281-288 [cit. 2018-02-19].
- [22] ZABEL B. A., NAKAE S., ZÚÑIGA L., et al. Mast cell-expressed orphan receptor CCRL2 binds chemerin and is required for optimal induction of IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. 2008, 205(10), 2207-2220 [cit. 2018-02-19].
- [23] ZAKAREIA F. A. Correlation of peripheral arterial blood flow with plasma chemerin and VEGF in diabetic peripheral vascular disease. *Biomarkers in Medicine* [online]. 2012, 6(1), 81-87 [cit. 2018-02-19].
- [24] XU CH-H., YANG Y., WANG Y-CH., et al. Prognostic significance of serum chemerin levels in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget* [online]. 2017, 8(14), - [cit. 2018-02-19].
- [25] WITTAMER V., FRANSSEN J-D., VULCANO M., et al. Specific Recruitment of Antigen-presenting Cells by Chemerin, a Novel Processed Ligand from Human Inflammatory Fluids. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. 2003, 198(7), 977-985 [cit. 2018-02-19].
- [26] ALFADDA A. A., SALLAM R. M., CHISHTI M. A., et al. Differential patterns of serum concentration and adipose tissue expression of chemerin in obesity: Adipose depot specificity and gender dimorphism. *Molecules and Cells* [online]. 2012, 33(6), 591-596 [cit. 2018-02-19].
- [27] OUCHI N., PARKER J. L., LUGUS J. J., et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2011, 11(2), 85-97 [cit. 2018-05-28].
- [28] ISSA M. E., MURUGANANDAN S., ERNST M. C., PARLEE S. D., et al. Chemokine-like receptor 1 regulates skeletal muscle cell myogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* [online]. 2012, 302(11), C1621-C1631 [cit. 2018-05-28].
- [29] PARLEE S. D., ERNST M. C., MURUGANANDAN S., et al. Serum Chemerin Levels Vary with Time of Day and Are Modified by Obesity and Tumor Necrosis Factor- α . *Endocrinology* [online]. 2010, 151(6), 2590-2602 [cit. 2018-05-28].
- [30] BOZAOGLU K., SEGAL D., SHIELDS K. A., et al. Chemerin Is Associated with Metabolic Syndrome Phenotypes in a Mexican-American Population. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2009, 94(8), 3085-3088 [cit. 2018-05-28].

- [31] LEHRKE M., BECKER A., GREIF M., et al. Chemerin is associated with markers of inflammation and components of the metabolic syndrome but does not predict coronary atherosclerosis. *European Journal of Endocrinology* [online]. 2009, 161(2), 339-344 [cit. 2018-05-28].
- [32] HUANG K., DU G., LI L., et al. Association of chemerin levels in synovial fluid with the severity of knee osteoarthritis. *Biomarkers* [online]. 2011, 17(1), 16-20 [cit. 2018-05-28].
- [33] DU X-Y., ZABEL B. A., MYLES T., et al. Regulation of Chemerin Bioactivity by Plasma Carboxypeptidase N, Carboxypeptidase B (Activated Thrombin-activable Fibrinolysis Inhibitor), and Platelets. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2009, 284(2), 751-758 [cit. 2018-05-28].
- [34] HART R., GREAVES D. R. Chemerin Contributes to Inflammation by Promoting Macrophage Adhesion to VCAM-1 and Fibronectin through Clustering of VLA-4 and VLA-5. *The Journal of Immunology*[online]. 2010, 185(6), 3728-3739 [cit. 2018-05-28].
- [35] MONNIER J., LEWEN S., O'HARA E., et al. Expression, Regulation, and Function of Atypical Chemerin Receptor CCRL2 on Endothelial Cells. *The Journal of Immunology* [online]. 2012, 189(2), 956-967 [cit. 2018-05-28].
- [36] YILMAZ Y., YONAL O., KURT R., et al. Serum levels of omentin, chemerin and adiponin in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. 2011, 46(1), 91-97 [cit. 2018-05-28].
- [37] BLUHER M., RUDICH A., KLOTING N., et al. Two Patterns of Adipokine and Other Biomarker Dynamics in a Long-Term Weight Loss Intervention. *Diabetes Care* [online]. 2012, 35(2), 342-349 [cit. 2018-05-28].
- [38] WILSON P. W. F. Estimating cardiovascular disease risk and the metabolic syndrome: a Framingham view. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* [online]. 2004, 33(3), 467-481 [cit. 2018-05-28].
- [39] STABLES J., GREEN A., MARSHALL F., et al. A Bioluminescent Assay for Agonist Activity at Potentially Any G-Protein-Coupled Receptor. *Analytical Biochemistry* [online]. 1997, 252(1), 115-126 [cit. 2018-05-28].
- [40] KULIG P., KANTYKA T., ZABEL B. A., et al. Regulation of Chemerin Chemoattractant and Antibacterial Activity by Human Cysteine Cathepsins. *The Journal of Immunology* [online]. 2011, 187(3), 1403-1410 [cit. 2018-05-28].

- [41] PFAU D., STEPAN H., KRATZSCH J., et al. Circulating Levels of the Adipokine Chemerin in Gestational Diabetes Mellitus. *Hormone Research in Paediatrics* [online]. 2010, 74(1), 56-61 [cit. 2018-05-28].
- [42] ROURKE J. L., DRANSE H. J. a SINAL C. J. Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease. *Obesity Reviews* [online]. 2013, 14(3), 245-262 [cit. 2018-05-28].
- [43] ZABEL B. A., ALLEN S. J., KULIG P., et al. Chemerin Activation by Serine Proteases of the Coagulation, Fibrinolytic, and Inflammatory Cascades. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2005, 280(41), 34661-34666 [cit. 2018-06-24].
- [44] ALBANESI C., SCARPONI C., PALLOTTA S., et al. Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. 2009, 206(1), 249-258 [cit. 2018-06-24].
- [45] LUANGSAY S., WITTAMER V., BONDUE B., et al. Mouse ChemR23 Is Expressed in Dendritic Cell Subsets and Macrophages, and Mediates an Anti-Inflammatory Activity of Chemerin in a Lung Disease Model. *The Journal of Immunology* [online]. 2009, 183(10), 6489-6499 [cit. 2018-06-24].
- [46] BANAS M., ZABIEGLO K., KASETTY G., et al. Chemerin Is an Antimicrobial Agent in Human Epidermis. *PLoS ONE*[online]. 2013, 8(3), e58709- [cit. 2018-06-24].
- [47] BANAS M., ZEGAR A., KWITNIEWSKI M., et al. The Expression and Regulation of Chemerin in the Epidermis. *PLOS ONE*[online]. 2015, 10(2), e0117830- [cit. 2018-06-24].
- [48] MAHESHWARI A., KURUNDKAR A. R., SHAIK S. S., et al. Epithelial cells in fetal intestine produce chemerin to recruit macrophages. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* [online]. 2009, 297(1), G1-G10 [cit. 2018-06-24].
- [49] DEMOOR T., BRACKE K. R., DUPONT L. L., et al. The Role of ChemR23 in the Induction and Resolution of Cigarette Smoke-Induced Inflammation. *The Journal of Immunology* [online]. 2011, 186(9), 5457-5467 [cit. 2018-06-24].
- [50] ÖZCAN E., SAYGUN N. I., SERDAR M. A., et al. Evaluation of the salivary levels of visfatin, chemerin, and progranulin in periodontal inflammation. *Clinical Oral Investigations*[online]. 2015, 19(4), 921-928 [cit. 2018-06-24].
- [51] PATNAIK K., PRADEEP A. R., NAGPAL K., et al. Human chemerin correlation in gingival crevicular fluid and tear fluid as markers of inflammation in chronic periodontitis

- and type-2 diabetes mellitus. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* [online]. 2017, 8(1), e12181- [cit. 2018-06-24].
- [52] MURUGANANDAN S., ROMAN A. A. a SINAL CH. J. Role of chemerin/CMKLR1 signaling in adipogenesis and osteoblastogenesis of bone marrow stem cells. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. 2010, 25(2), 222-234 [cit. 2018-06-24].
- [53] LIU Y-CH. G., LERNER U. H. a TENG Y-T. A. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontology 2000* [online]. 2010, 52(1), 163-206 [cit. 2018-06-24].
- [54] IANNONE F., LAPADULA G. Chemerin/ChemR23 pathway: a system beyond chemokines. *Arthritis Research & Therapy*[online]. 2011, **13**(2), 104- [cit. 2018-07-03].
- [55] STEJSKAL D., KARPISEK M., HANULOVA Z. a kol. Chemerin is an independent marker of the metabolitsyndrome in caucasian population – a pilot study. *Biomedical Papers* [online]. 2008, **152**(2), 217-221 [cit. 2018-07-03].
- [56] FATIMA S. S., BUTT Z., BADER N., et al. Role of multifunctional Chemerin in obesity and preclinical diabetes. *Obesity Research & Clinical Practice* [online]. 2015, **9**(5), 507-512 [cit. 2018-07-03].
- [57] BOBBERT T., SCHWARZ F., FISCHER-ROSINSKY A., et al. Chemerin and prediction of Diabetes mellitus type 2. *Clinical Endocrinology* [online]. 2015, **82**(6), 838-843 [cit. 2018-07-03].
- [58] FERLAND D. J., DARIOS E. S., NEUBIG R. R., et al. Chemerin-induced arterial contraction is Gi- and calcium-dependent. *Vascular Pharmacology* [online]. 2017, **88**, 30-41 [cit. 2018-07-03].
- [59] BONOMINI M., PANDOLFI A. Chemerin in renal dysfunction and cardiovascular disease. *Vascular Pharmacology*[online]. 2016, **77**, 28-34 [cit. 2018-07-03].
- [60] DE HENAU O., DEGROOT G-N., IMBAULT V., et al. Signaling Properties of Chemerin Receptors CMKLR1, GPR1 and CCRL2. *PLOS ONE* [online]. 2016, **11**(10), e0164179- [cit. 2018-07-03].
- [61] TANAKA K., CHOI J., STACEY G.. Aequorin Luminescence-Based Functional Calcium Assay for Heterotrimeric G-Proteins in Arabidopsis. RUNNING, Mark P., ed. *G Protein-Coupled Receptor Signaling in Plants* [online]. Totowa, NJ: Humana Press, 2013, 2013-7-17, s. 45-54 [cit. 2018-07-03].
- [62] KUMAR J. D., KANDOLA S., TISZLAVICZ L., et al. The role of chemerin and ChemR23 in stimulating the invasion of squamous oesophageal cancer cells. *British Journal of Cancer* [online]. 2016, **114**(10), 1152-1159 [cit. 2018-07-03].

- [63] BLASZAK J., SZOLKIEWICZ M., SUCAJTYS-SZULC E., et al. High serum chemerin level in CKD patients is related to kidney function, but not to its adipose tissue overproduction. *Renal Failure* [online]. 2015, **37**(6), 1033-1038 [cit. 2018-07-03].
- [64] BARNEA G., STRAPPS W., HERRADA G., et al. The genetic design of signaling cascades to record receptor activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*[online]. 2008, **105**(1), 64-69 [cit. 2018-07-03].
- [65] ERNST M. C., SINAL C. J.. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends in Endocrinology & Metabolism* [online]. 2010, **21**(11), 660-667 [cit. 2018-07-03].
- [66] MATTERN A., ZELLMANN T., BECK-SICKINGER A. G.. Processing, signaling, and physiological function of chemerin. *IUBMB Life* [online]. 2014, **66**(1), 19-26 [cit. 2018-07-03].
- [67] FERLAND D. J, WATTS S. W.. Chemerin: A comprehensive review elucidating the need for cardiovascular research. *Pharmacological Research* [online]. 2015, **99**, 351-361 [cit. 2018-07-03].
- [68] HUANG S., CZECH M. P. The GLUT4 Glucose Transporter. *Cell Metabolism* [online]. 2007, **5**(4), 237-252 [cit. 2018-07-04].