

lek. Marta Śledzińska

**Chemeryna jako potencjalny wykładnik stanu zapalnego
u dzieci z nadwagą i otyłością pierwotną**

praca na stopień doktora nauk medycznych

PROMOTOR: dr hab. n. med. Barbara Kamińska Prof. nadzw. GUMed

Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci,
Gdański Uniwersytet Medyczny, Kierownik: dr hab. B. Kamińska

Gdańsk 2014

*Dziękuję za pomoc w realizacji tej pracy
Pani Profesor Barbarze Kamińskiej
oraz Pani dr hab. Agnieszce Szlagatys-Sidorkiewicz*

SPIS TREŚCI:

I. Wykaz stosowanych skrótów	3
II. Wstęp	
II.1. Definicje i epidemiologia nadwagi i otyłości w Polsce i na świecie oraz konsekwencje zdrowotne występowania nadmiaru masy ciała u dzieci	5
II. 2. Etiologia otyłości a funkcja wydzielnicza tkanki tłuszczowej	9
II. 3. Budowa, aktywacja i poznane funkcje chemeryny	12
II. 4. Chemeryna a otyłość	19
II. 5. Chemeryna a choroby współistniejące z otyłością	22
II. 6. Chemeryna w okresie wieku rozwojowego	26
III. Cel	29
IV. Materiał i metody	
IV. 1 Pacjenci	30
IV. 2 Metodologia	32
V. Wyniki	37
VI. Podsumowanie wyników	52
VII. Dyskusja	54
VIII. Wnioski	67
IX. Streszczenie	68
X. Piśmiennictwo	71

I. WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- ACE - *angiotensin-converting enzyme*, konwertaza angiotensyny
- ALAT - aminotransferazy alaninowej (też ALT lub GPT (*glutamic pyruvic transferase*))
- ASPAT - aminotransferaza asparaginianowa (też AST lub GOT (*glutamic oxaloacetic transaminase*))
- BIA- *Bioelectrical Impedance Analysis*, analiza impedancji bioelektrycznej
- BMI – *body mass index*, wskaźnik masy ciała
- CMKLR1 - *chemokine-like receptor 1*
- CRP – *C-reactive protein*, białko C-reaktywne
- CDC - *Center for Diseases Control and Prevention*
- ELISA - *Enzyme-linked immunosorbent assay* test immunoenzymatyczny
- EGF - *endothelial growth factor* śródbłonkowy czynnik wzrostu
- GLUT4 - *glucose transporter type 4*, transporter glukozy 4
- HDL - *High Density Lipoprotein*, lipoproteina wysokiej gęstości
- HIV1- *human immunodeficiency virus 1*, ludzki wirus niedoboru odporności 1
- HOMA – IR – *homeostasis model assessment score – insulin resistance*
- ICAM-1 - *Intercellular Adhesion Molecule 1*
- IL -1 β – interleukina 1 β
- IL-6 – interleukina 6
- IFG – *impaired fasting glucose*, nieprawidłowe wartości glukozy na czczo,
- IGT – *impaired glucose tolerance*, upośledzona tolerancja glukozy
- IMiD- Instytut Matki i Dziecka w Warszawie
- IOTF - *International Obesity Task Force*
- IPCZD – Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”
- LDL – *Low Density Lipoprotein*, lipoproteina niskiej gęstości
- LPS – lipopolisacharyd, element strukturalny komórki bakteryjnej odpowiedzialny za wywoływanie reakcji immunologicznej,
- MCP-1- *monocyte chemoattractant protein-1*
- NAFLD - *non-alcoholic fatty liver disease*, niealkoholowa choroba stłuszczeniowa wątroby,
- NASH - *non-alcoholic steatohepatitis*, niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby,
- NGF - *nerve growth factor*
- NPY – *neuropeptide Y*, neuropeptyd Y

NTG – *normal glucose tolerance*, prawidłowa tolerancja glukozy
PAI-1 - *plasminogen activator inhibitor 1*, inhibitor aktywatora plazminogenu 1,
PCOS – *polycystic ovary syndrome*, zespół policystycznych jajników
PKA - *protein kinase A*, kinaza białkowej A
POMC - *Pro-opiomelanocortin*, pro-opiomelanokortyna
PPAR γ - *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*
p42 (ERK2) (MAPKs) – *protein 42, (extracellular signal-regulated kinases) (mitogen-activated protein kinase 1)*,
p44 (ERK1) *protein 41 (extracellular signal-regulated kinases 1)*
PYY – *protein YY*, proteina YY
RANTES - *Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted*
RARRES2 - *retinoic acid receptor responder 2*,
RBP4 - *retinoid binding protein 4*
RIA –*Radio Immuno Assay*, metoda radioimmunologiczna
SIV - *simian immunodeficiency virus*
TIG2 - *tazarotene-induced gene 2*,
TIMP-1 *tissue inhibitor of metalloproteinase 1*, tkankowy inhibitor metaloproteinazy 1,
TNF- α – *tumor necrosis factor α* , czynnik martwicy nowotworów α
TNF-R2 -*TNF-receptor 2*, receptor 2 czynnika martwicy nowotworów,
T2D – *type 2 diabetes mellitus*, cukrzyca typu 2
USA - *United States of America*, Stany Zjednoczone Ameryki
VCAM-1 - *vascular cell adhesion protein 1* lub *vascular cell adhesion molecule 1*,
VEGF- *vascular endothelial growth factor*, naczyniowy, śródbłonkowy czynnik wzrostu,
WBC –*White Blood Cells*, liczba białych krwinek, liczba leukocytów
WHO - *World Health Organisation*, Światowa Organizacja Zdrowia

II. WSTĘP

1. Definicje i epidemiologia nadwagi i otyłości w Polsce i na świecie, konsekwencje zdrowotne występowania nadmiaru masy ciała u dzieci

Otyłość to stan nadmiaru ustrojowej tkanki tłuszczowej. W literaturze pojęcie nadmiaru masy ciała i zawartych w nim nadwagi i otyłości są bardzo różnie definiowane [1,2]. Najbardziej powszechna i obecnie najczęściej stosowana definicja nadwagi i otyłości oparta jest na wskaźniku Queteleta znanym jako Body Mass Index (BMI). U osób powyżej 18 roku życia otyłość definiowana jest jako wartość BMI powyżej 30 kg/m^2 , natomiast wartości BMI zawierające się między 25 a 30 kg/m^2 są określane terminem nadwagi. Niestety w populacji wieku rozwojowego zdefiniowanie pojęcia nadwagi i otyłości jest skomplikowane [3]. Na świecie najczęściej korzysta się z kryteriów International Obesity Task Force (IOTF), WHO lub amerykańskich kryteriów *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC), jednak część badaczy stosuje lokalnie opracowane kryteria i wartości referencyjne BMI [1,2]. Znaczna różnorodność definiowania pojęć nadwagi i otyłości oraz różne wartości referencyjne BMI są powodem ograniczeń w możliwości porównywania danych z różnych stron świata i utrudniają rzetelne oszacowanie skali problemu nadmiernej masy ciała wśród dzieci i młodzieży na świecie [2]. Zgodnie z aktualnymi rekomendacjami IOTF nadwaga i otyłość u dzieci określana jest na podstawie krzywych centylowych wskaźnika BMI zależnych od płci i wieku. Punkty odcięcia BMI definiujące nadwagę i otyłość wyrażane są jako centyle BMI. Z definicji IOTF punktem odcięcia dla nadwagi u dzieci jest 85 percentyl BMI w zależności od płci i wieku, natomiast dla otyłości jest to 95 percentyl w zależności od płci i wieku [4]. Układy odniesienia i wartości referencyjne są opracowywane na podstawie danych odnoszonych dla konkretnych populacji bądź grup etnicznych i wymagają okresowej aktualizacji w związku z obserwowanymi okresowo zmianami trendów. Aktualne dane referencyjne IOTF są opracowane na podstawie danych epidemiologicznych z sześciu krajów świata [4]. Natomiast w Polsce aktualne wartości referencyjne opierają się o wyniki projektu badawczego OLAF, w ramach którego w 2009 roku zespół Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie pod przewodnictwem dra Zbigniewa Kułagi opracował siatki centylowe referencyjne dla populacji polskiej. Dane dotyczące parametrów antropometrycznych, w oparciu o które opracowane zostały siatki centylowe projektu OLAF, zostały pozyskane w wyniku badań reprezentatywnej populacji dzieci polskich ($n=17\ 573$) w

latach 2008-2009. Punkty odcięcia definiujące nadwagę i otyłość na podstawie wartości referencyjnych opracowanych w ramach tego projektu są zgodne z kryteriami IOTF: dla otyłości jest to 95 percentyl, dla nadwagi: 85 percentyl w odniesieniu do wieku i płci [5].

Obserwowany w ostatnich dekadach alarmujący wzrost występowania otyłości wśród dorosłych, obserwowany również w badaniach populacji wieku rozwojowego, jest już postrzegany przez WHO w kategoriach epidemii [6,7]. Opublikowane przez Wanga i Lobsteina w 2004 i 2006 roku badania podsumowujące ogólnoświatowe trendy, porównujące okresy od wczesnych lat 70-tych do późnych 90-tych, podkreślały alarmujący dwu a nawet trzykrotny wzrost częstości występowania nadwagi i otyłości u dzieci w krajach o wyższym statusie socjoekonomicznym, jak Australia, USA, Wielka Brytania, Japonia, Niemcy [2]. W Europie, Ameryce Północnej oraz krajach zachodniego regionu Pacyfiku występowanie nadwagi i otyłości u dzieci jest zdecydowanie najwyższe i wynosi 20-30% [8]. Według danych opracowanych przez Lobsteina porównującego występowanie nadmiaru masy ciała w krajach europejskich w połowie lat 90-tych najwyższe wskaźniki występowania nadwagi i otyłości występują paradoksalnie w krajach basenu Morza Śródziemnego, gdzie tradycyjna dieta uchodzi za najzdrowszą. Winę za taki stan upatrywano w tzw. amerykańskiej stylizacji życia i odejściu od tradycyjnej diety. Polska wraz z innymi krajami tzw. Bloku Wschodniego prezentowała w tym czasie wprawdzie znacznie niższe wartości procentowe dzieci z nadmiarem masy ciała w porównaniu do tych krajów Europy (w Hiszpanii, Grecji czy Włoszech wartości te były dwukrotnie wyższe niż w Polsce), jednakże, co należy podkreślić, wartości te zrównały się lub nawet były wyższe w porównaniu do danych z krajów takich jak Niemcy, Holandia, Francja czy Szwecja [9]. Świadczyło to o nagłym i szybkim wzroście częstości występowania nadwagi i otyłości wśród polskich dzieci po okresie przemian gospodarczych związanych ze zmianą ustroju i w efekcie znacznej poprawy sytuacji ekonomicznej w Polsce [10]. Na podstawie badań populacji wieku rozwojowego w latach 90-tych w Polsce można zaobserwować około dwukrotny wzrost częstości występowania nadmiaru masy ciała w porównaniu do lat 70-tych [11-15]. Doniesienia ostatniego 10-lecia wskazują niestety na utrzymywanie się trendu wzrostowego występowania problemu nadmiaru masy ciała w Polsce, choć o nieco mniejszej dynamice [16]. W ogólnopolskim badaniu obejmującym ponad 7-tysięczną reprezentatywną grupę gimnazjalistów przeprowadzonym w latach 2006-2010 obserwowano wzrost wskaźnika występowania nadwagi/otyłości u młodzieży z 17,7% w 2006 roku do 22,0% w 2010 roku wśród chłopców i odpowiednio z 7,9% do 13,4% wśród dziewcząt. [17]. Jedne z najnowszych i największych badań pochodzących z projektu OLAF przeprowadzonego na reprezentatywnej grupie ponad

17 tysięcy polskich dzieci i młodzieży w latach 2007-2009 wskazują na występowanie nadmiaru masy ciała u 18,7% chłopców oraz 14,1% dziewcząt [5].

Zaznaczyć należy, iż dużym utrudnieniem w ocenie skali problemu w Polsce, podobnie jak na świecie, są różnice metodologiczne przeprowadzanych badań. Jedną z najważniejszych jest, jak wcześniej wspomniano, stosowanie różnych kryteriów definicji otyłości, co jest istotnym ograniczeniem możliwości porównywania danych dotyczących różnych prezentowanych populacji [2]. Kryteria IOTF mogą się znacznie różnić od lokalnie stosowanych wartości referencyjnych, co może być powodem znacznego niedoszacowania skali problemu. Przykładem jest praca Abramowicza, w której porównał on dwie niezależne metody interpretacji BMI: według norm IMiD w Warszawie oraz według kryteriów IOTF i wykazał istotne różnice w zależności od przyjętych definicji, mianowicie częstość występowania nadwagi i otyłości w badanej populacji była większa w przypadku stosowania kryterium IOTF w porównaniu do metody IMiD (odpowiednio 21,9% vs 16,8%) [18]. Do innych ograniczeń w badaniach porównawczych należą stosowane kategoryzacje wiekowe, wielkość badanych grup, kryteria ich doboru, co ma wpływ na reprezentatywność populacji. Polskie badania z ostatnich dekad zazwyczaj są jednośrodkowe i dotyczą populacji dużych miast bądź aglomeracji, najczęściej są przeprowadzane w obrębie określonych grup wiekowych (dzieci w wieku przedszkolnym, wczesnoszkolnym, populacje danego rocznika szkolnego). Jednak o ile różnice metodologiczne uniemożliwiają wiarygodne porównanie wyników tych badań, to, co znamienne, we wszystkich przedstawionych powyżej badaniach sygnalizowany jest problem dużego odsetka dzieci z problemem nadmiaru masy ciała a w pracach porównawczych wykazywane jest jego narastanie w populacji dziecięcej [11-15]. Powyższe obserwacje potwierdzają, iż Polska również należy do krajów, gdzie problem nadmiaru masy ciała jest poważny.

Występowanie nadmiaru masy ciała w okresie dziecięcym wiąże się z wyższym ryzykiem rozwoju nadwagi i otyłości w późniejszym etapie życia osobniczego. Wykazanie silnego związku między otyłością dziecięcą a otyłością dorosłych odnaleźć można w licznych pracach ostatniego 30-lecia [19-21].

Wyniki wieloletniej pracy ośrodków badawczych całego świata dowiodły ponad wszelką wątpliwość, iż otyłość jest nie tylko problemem estetycznym, ale przede wszystkim wiąże się z występowaniem szeregu chorób dotyczących wielu systemów i wpływających na sferę psychiczną, będących konsekwencją nadmiernej masy ciała. Co więcej, występowanie problemów i schorzeń powiązanych z nadwagą i otyłością nie jest ograniczone tylko do populacji osób dorosłych, ale występuje również u dzieci [22,23]. Wykazano, iż w populacji

dziecięcej nadmiernej masie ciała towarzyszy wzrost ryzyka wystąpienia zaburzeń układu sercowo-naczyniowego w tym nadciśnienia tętniczego a nawet miażdżycy. Wśród dzieci z nadmierną masą ciała obserwowane są, podobnie jak u dorosłych, zaburzenia metaboliczne i endokrynologiczne, do których należą: hipercholesterolemia, hipertrigliderydemia, hiperurykemia, hiperinsulinemia z insulinoopornością oraz cukrzyca [20,22,24-31]. U dzieci i młodzieży z nadwagą i otyłością znacznie częściej występują problemy związane z nadmiernym obciążeniem układu ruchu, do najczęstszych schorzeń ortopedycznych należą zmiany zwyrodnieniowe, koślawość kolan, choroba Blounta (szpotawość piszczeli), płaskostopie, skolioza, bóle kręgosłupa, do rzadszych, lecz również wykazujących dodatnią korelację z nadmierną masą ciała: choroby zapalne kości i stawów oraz złuszczenie głowy kości udowej [24,32-34]. U dzieci z nadmierną masą ciała wykazano znacznie częstsze występowanie zaburzeń układu oddechowego (zespołów obturacyjnych oskrzeli, astmy, zespołów hipowentylacji i bezdechów w czasie snu). Wzrasta u nich także ryzyko wystąpienia schorzeń nefrologicznych (glomerulopatii i kamicy nerek) oraz chorób układu trawiennego (choroby refluksowej przełyku, kamicy i zapalenia pęcherzyka żółciowego oraz przede wszystkim NAFLD - niealkoholowej choroby tłuszczowej wątroby) [24,28,32,35].

Zaburzenia endokrynologiczne nie ograniczają się jedynie do wpływu na gospodarkę energetyczną ustroju, lecz mogą przebiegać wielopłaszczyznowo i mieć wpływ na wiele układów i funkcji. Obserwowane w otyłości prostej obniżone wydzielanie hormonu wzrostu z podwyższonym stężeniem IGF-1 są wraz z hiperinsulinemią przyczyną przyspieszonego wzrastania. Będąca następstwem otyłości hiperinsulinemia wywiera również szereg niekorzystnych zjawisk w obrębie morfologii i funkcji układu płciowego, np. przez zwiększanie androgenemii zarówno jajnikowej jak i nadnerczowej, wpływa na wcześniejsze ujawnienie i cięższy przebieg PCOS (*polycystic ovary syndrome*) u dziewcząt otyłych, natomiast u otyłych chłopców prowadzi do ginekomastii, będącej konsekwencją aromatyzacji androgenów [32]. Nadmiar tkanki tłuszczowej może wiązać się z niekorzystnymi konsekwencjami w obrębie układu płciowego, i to zarówno przez zmiany gospodarki hormonalnej jak i przez bezpośredni wpływ na morfologię narządów płciowych (np. błędne rozpoznanie mikroprącia w wyniku gromadzenia tkanki tłuszczowej w okolicy wzgórka łonowego).

Dysregulacje hormonalne, co wydaje się niezwykle istotne, wpływają na procesy inicjujące procesy dojrzewania płciowego. Nadwaga i otyłość występująca u młodych dziewcząt predysponuje do przyspieszenia *thelarche* i *menarche* [28,32,36,37]. Zachodzące w tym okresie zmiany fizyczne wobec nakładania się dysmorfii związanej z otyłością mogą być

postrzegane bardzo negatywnie przez dorastającego człowieka a zarazem przez grupę rówieśniczą. Ma to ścisły związek z obniżoną samoocena, która jest częstym problemem dotyczącym sfery psychicznej [28]. Objawy depresji stwierdza się aż u 10% otyłych dzieci [24]. W efekcie tych opisanych powyżej zmian, przez wpływ na sferę psychiczną i wobec wcześniej występujących procesów pokwitania, otyłość i jej następstwa rzutują również na sferę seksualną, co ma szczególne znaczenie w wieku dorastania i dojrzewania. Konsekwencją tego może być wzrost częstości występowania zaburzeń psychicznych, nadużywania środków psychoaktywnych, czy wreszcie ryzykownych zachowań seksualnych i ciąż wśród nastolatków [28]. Są również doniesienia wskazujące, iż występowanie nadwagi i otyłości w wieku 14-19 lat wiąże się ze wzrostem ryzyka zgonu (już od 30 roku życia) z powodu rozwoju różnorodnych powikłań chorób powiązanych z otyłością [38].

Powyższe obserwacje świadczą o tym, iż występowanie nadwagi i otyłości u dzieci wpływa negatywnie pod względem morfologicznym i funkcjonalnym na niemal każdy układ w ustroju. Można więc przyjąć, że nadmierna masa ciała jest zaburzeniem systemowym.

2. Etiologia otyłości a funkcja wydzielnicza tkanki tłuszczowej

Nadwaga i otyłość jest efektem nadmiernej ekspansji tkanki tłuszczowej. Główną komponentą tkanki tłuszczowej są adipocyty - komórki posiadające zdolność magazynowania substancji lipidowych, stanowiących główny zapas energetyczny ustroju. Pozostałe komórki to elementy zrębu łącznotkankowego, na który składają się preadipocyty, komórki nabłonka, fibroblasty, makrofagi i limfocyty [39,40].

Za rozwój nadwagi i otyłości odpowiada wiele procesów, których skutkiem jest dodatni bilans energetyczny ustroju, gdzie wydatkowanie energii nie równoważy nadmiernej podaży kalorycznej pożywienia. Ów nadmiar niewykorzystanej energii jest gromadzony w postaci wysokoenergetycznych związków, triacylogliceroli, w obrębie tkanki tłuszczowej, konkretnie w cytoplazmie adipocytów [41]. Homeostaza energetyczna ustroju jest utrzymywana dzięki wzajemnym oddziaływaniom procesów wpływających na wydatkowanie i pozyskiwanie energii, do których należą: procesy podstawowej przemiany materii, termogeneza przystosowawcza, aktywność fizyczna (dobrowolne wydatkowanie energii) oraz procesy regulacji łaknienia [42].

W koordynacji i regulacji powyższych oddziaływań nadrzędną rolę pełni podwzgórze, które kontroluje skomplikowany i wielopoziomowy system regulacji łaknienia i

wydatkowania energii wraz z autonomicznym systemem nerwowym oraz licznymi substancjami biologicznie czynnymi. Do tych ostatnich należą m.in.: hormony gruczołów endokrynych (hormony tarczycy, glukokortykosteroidy, insulina oraz hormony gruczołów płciowych), hormony przewodu pokarmowego (m.in.: obestatylna, grelina, cholecystokina), neuropeptyd Y (NPY), czy proteina YY (PYY) [22-24,41,43].

Badania ostatnich dwóch dekad wykazały, iż komórki tkanki tłuszczowej są także źródłem substancji biologicznie czynnych, co wskazuje, iż tkanka tłuszczowa nie jest jedynie magazynem związków wysokoenergetycznych, ale stanowi również specyficzny „organ” wewnątrzwydzielniczy [39,44,45]. Te przełomowe obserwacje stały się kluczowym punktem, który zapoczątkował nowy okres badań nad molekularnymi procesami leżącymi u podstawy rozwoju otyłości.

Etiologia otyłości jest złożona i stanowi wypadkową współwystępowania czynników genetycznych i środowiskowych. Modyfikujący wpływ wielu składowych środowiskowych, działających w różnym czasie i z różnym natężeniem w trakcie ontogenezy, nakładając się na zapis genotypowy, decyduje o ostatecznym fenotypie, który przez to wykazuje znaczne zróżnicowanie osobnicze [23]. Do udowodnionych czynników środowiskowych wpływających na rozwój nadmiaru masy ciała u dzieci należą: miejsce zamieszkania, status socjoekonomiczny rodziny, aktywność fizyczna, wykształcenie rodziców i jakość sprawowania opieki nad dzieckiem czy wreszcie uwarunkowania kulturowe dotyczące nawyków żywieniowych [46].

Rozróżnia się dwa zasadnicze typy otyłości: prostą i wtórną. Otyłość prosta jest bezpośrednim efektem nadmiernej podaży kalorii w stosunku do aktualnego zapotrzebowania energetycznego ustroju bez współistnienia innej przyczyny chorobowej. Natomiast otyłość wtórna rozwija się jako konsekwencja występowania innych schorzeń i dysfunkcji, obejmujących zaburzenia hormonalne (np. niedoczynność tarczycy, nadczynność kory nadnerczy, dysfunkcje podwzgórza), uwarunkowane monogenowo bądź wielogenowo zespoły i choroby genetyczne, stany chorobowe i urazy uszkadzające centralne ośrodki regulacyjne homeostazy energetycznej w mózgowiu. Wreszcie otyłość wtórna może też być efektem działania niektórych leków (np. neuroleptyków) [23,42]. Wpływ czynników genetycznych na rozwój otyłości szacowany jest na 40-70% [47]. Przykładem schorzeń prowadzących do otyłości wtórnej uwarunkowanej wielogenowo należy m.in. zespół Willego-Pradera, zespół Downa, zespół Carpentera, zespół Laurence’a-Moona-Bardeta-Biedla, rzekoma niedoczynność przysadki (pseudohypoparathyroidyzm) czy achondroplazja [24]. Występowanie otyłości uwarunkowanej monogenowo jest stosunkowo rzadkie, szacowane na

ok. 5% wszystkich przypadków otyłości, jednak stanowi duży problem kliniczny, ponieważ prawie zawsze dotyczy ciężkich postaci otyłości i to już we wczesnym okresie dzieciństwa [48]. Z rozwojem otyłości monogenowej, będącej efektem mutacji punktowej pojedynczego genu, jest powiązanych około 250 genów [46]. Geny te kodują aktywne biologicznie peptydy lub receptory biorące udział w regulacji gospodarki energetycznej w organizmie. Co bardzo istotne, ich odkrycie było kluczowe dla zapoczątkowania dalszych badań, umożliwiających głębszy wgląd w procesy promujące rozwój otyłości na poziomie subkomórkowym. Nieprawidłowy zapis tych genów prowadzi zazwyczaj do poważnych zaburzeń funkcjonowania szlaków sygnałowych biorących udział w utrzymaniu homeostazy energetycznej ustroju [49]. Do najważniejszych monogenowych zaburzeń genetycznych związanych z otyłością należy mutacja genu leptyny, mutacja genu receptora leptyny, czy mutacja genu pro-opiomelanokortyny (POMC) [49]. Odkrycie owych genów oraz badania nad rolą pełnioną w organizmie przez produkty tych genów stały się punktem wyjścia dla kolejnych ważnych badań ostatnich dekad, próbujących wyjaśnić rolę tkanki tłuszczowej w regulacji wielopoziomowych złożonych procesów wpływających na wydatkowanie i pozyskiwanie energii.

Przełomowym wydarzeniem, które zapoczątkowało badania nad procesami regulującymi homeostazę energetyczną w kontekście hormonalnej funkcji tkanki tłuszczowej było odkrycie u myszy „genu otyłości” *ob* w 1994 roku [50], kodującego polipeptyd o aktywności hormonalnej, nazwanego później leptyną. Działająca zarówno ośrodkowo jak i obwodowo leptyna wykazuje działanie plejotropowe, wpływając na podwzgórzowe mechanizmy kontrolujące apetyt, modyfikując funkcje komórek immunologicznych, będąc zaangażowaną w procesy związane z insulinowrażliwością, gospodarką lipidową, dysfunkcją śródbłonna czy mechanizmami kardioprotekcyjnymi [23,51].

Po leptynie odkrywano stopniowo kolejne substancje produkowane przez komórki tkanki tłuszczowej. Były to związki zarówno nowo odkryte, jak: adiponektyna, wisfatyna, rezystyna, adypsyna, apelina czy waspina, jak i znane już wcześniej w związku z pełnionymi w organizmie funkcjami, np. cytokiny IL-6, TNF- α , PAI-1 (inhibitor aktywatora plazminogenu 1), angiotensynogen, haptoglobina, RBP4 (*retinoid binding protein 4*). Tkanka tłuszczowa okazała się więc być wysoce aktywnym narządem wydzielającym szereg niejednorodnych chemicznie substancji o właściwościach auto- i parakrynych, nazwanych umownie adipokinami [23,43,52,53]. Ogół wydzielanych przez tkankę tłuszczową substancji nazywa się również „adipokinomem” [53]. Ostatnie badania proteomiczne przeprowadzone przez Eckela i wsp. wskazują, iż adipokinom jest znacznie większy niż obecna liczba odkrytych

adipokin, jednak ich identyfikacja nie została jeszcze ukończona [54]. Do tego czasu odkryto i zbadano kilkadziesiąt związków, dzieląc je pod względem funkcji na kilka grup, wyróżniając cytokiny (TNF- α , IL-1 β , IL-6), chemokiny (np. MCP-1 *monocyte chemoattractant protein-1*), adipokiny wpływające na gospodarkę lipidową (lipaza lipoproteinowa czy proteina przenosząca estry cholesterolu), adipokiny zaangażowane w procesy kontrolujące apetyt i równowagę energetyczną (szczególnie leptyna), adipokiny hemostazy naczyniowej (np. PAI-1), kontrolujące ciśnienie krwi (np. angiotensynogen), biorące udział w angiogenezie (VEGF *vascular endothelial growth factor*) czy specyficzne czynniki wzrostu (jak np. NGF *nerve growth factor*) [53]. Do odkryć ostatniej dekady wśród adipokin należy chemeryna [55,56].

3. Budowa, aktywacja i poznane funkcje chemeryny.

Pierwsze prace dotyczące chemeryny wiążą się z badaniami przeprowadzonymi w 1997 roku, dotyczącymi wpływu syntetycznego retinoidu – tazarotenu, na procesy molekularne zachodzące w skrawkach skórnych pacjentów cierpiących na łuszczycę. Zidentyfikowano wówczas gen zbudowany z 830 par zasad, a ponieważ indukcja jego ekspresji regulowana była tazarotenem (pochodna kwasu retinowego), nazwano go TIG2 (*tazaroten-induced gen 2*). Ekspresja genu TIG2 była wysoka w niezmiennych łuszczycowo skrawkach skóry, natomiast w skrawkach, gdzie zmiany występowały, była niższa; przy czym, po aplikacji tazarotenu obserwowano jej wzrost [57]. Dziś wiadomo, że gen TIG2 obecnie znany również jako RARRES2 (*retinoic acid receptor Responder 2*) znajduje się na chromosomie 7 w pozycji q36,1, nie zawiera intronów a efektem jego transkrypcji i translacji jest zidentyfikowana przez dwie niezależne grupy naukowców w 2003 roku składająca się z 163 aminokwasów pre-proteina (pre-prochemeryna). Peptyd ten, nazwany przez Valerie Wittamer chemeryną, przypomina strukturalnie białka z rodziny ketelicydyn (peptydów antybakteryjnych), cystatyn (inhibitorów peptydaz cystynowych) i kininogenów (kofaktorów kaskady zapalnej i procesów krzepnięcia) [55,56].

Po odcięciu N-końcowego 20-aminokwasowego peptydu sygnałowego od pre-prochemeryny jest ona wydzielana z komórki jako 143-aminokwasowa praktycznie nieaktywna biologicznie proteina (prochemeryna) o masie cząsteczkowej 18 kDa. Jest ona poddawana dalszym pozakomórkowym procesom proteolitycznym, modyfikującym fragmenty C-terminalne; dzięki czemu nabywa aktywności biologicznej [55,56]. Jedną z

powstających w wyniku proteolizy proteina nazwana chemeryną-157 o masie cząsteczkowej 15,8 kDa wykazuje około 100 razy większą aktywność biologiczną od propeptydu [56,58].

Do pozakomórkowych enzymów o aktywności protelitycznej, przekształcających C-końcowy fragment należą proteazy serynowe kaskady krzepnięcia, fibrynolizy a także proteazy kaskady zapalnej. Do enzymów o udowodnionej aktywności proteolitycznej w stosunku do chemeryny należą plazmina, tryptaza, elastaza, katepsyna G, proteinaza 3, chymaza, a także ACE (konwertaza angiotensyny) oraz karboksypeptydaza N i B [52,56,59-62]. W efekcie działania proteaz, odcinających krótkie fragmenty aminokwasowe o różnej długości (tj. 1-11-elementowe), w zależności od miejsca cięcia - specyficznego dla danej proteazy, prochemeryna jest przekształcana do różnych izoform, o różnej długości łańcucha aminokwasowego. Wykazano, że jego długość ma ścisły związek ze stopniem aktywności danej izoformy chemeryny. Najwyższą aktywność wykazuje chemeryna-157, a na przykład izoformy -154 oraz -152 są relatywnie nieaktywne [52,56,58-60,62,63]. Krótka charakterystyka izoform chemeryny z określeniem stopnia ich aktywności została przedstawiona w tabeli 1. Udowodniono, że jedne izoformy mogą być przekształcane do innych (krótszych), w wyniku kolejnego cięcia przez inną protezę, co ukazuje, iż aktywacja może przebiegać wieloetapowo. Wynika z tego, że w pewnych warunkach do pełnej aktywności chemeryny niezbędne jest wielokrotne rozszczepienie proteolityczne. Zależec to może od dostępności enzymu, a więc lokalizacji tkankowej, co wynika z obserwacji zależności długości peptydu od miejsca, z którego był on izolowany. Inaktywacja również może następować wieloetapowo, podobnie jak aktywacja. Te złożone, mogące po sobie następować, procesy aktywacji i deaktywacji przez proteolizę, mogą wpływać na miejscowe i ogólne stężenie chemeryny, a co się z tym wiąże, na jej aktywność w danej lokalizacji [52,58-60,62].

Tabela 1. Właściwości izoform chemeryny

Preprochemeryna - 1-163	nieaktywna, wydzielana z komórki po odcięciu peptydu sygnałowego z N-końca
Prochemeryna - 21-163	praktycznie nieaktywna, poddawana modyfikacjom proteolitycznym przez różne enzymy: plazminę, tryptazę, elastazę, katepsynę G, proteinazę 3 do różnych izoform
Chemeryna - 21-158	niska aktywność; powstaje z prochemeryny dzięki proteolizie przez plazminę i tryptazę, przekształcana przez karboksypeptydazę N lub B do izoformy -157
Chemeryna -21-157	najwyższa aktywność (100x większa niż prochemeryny-163); powstaje z izoformy -158 dzięki karboksypeptydazie N lub B lub bezpośrednio z prochemeryny dzięki elastazie, inaktywowana przez chymazę do formy -154
Chemeryna - 21-156	wysoka aktywność (nieco mniejsza niż chemeryny -157), powstaje z prochemeryny przez jednoetapową proteolizę z udziałem katepsyny G
Chemeryna - 21-155	niska aktywność, prawdopodobnie aktywacja przez proteinazę 3, tryptazę, elastazę, konwertazę angiotensyny
Chemeryna - 21-154	relatywnie nieaktywna, powstaje z formy -157 lub -156 jako efekt aktywności chymazy
Chemeryna - 21-152	relatywnie nietaktywna, produkt działania elastazy

Na przykład nieaktywna prochemeryna-163 rozszczepiona pierwotnie przez tryptazę do chemeryny-158, która wykazuje bardzo niską aktywność biologiczną, jest w drugim etapie poddawana kolejnemu cięciu przez karboksypeptydazę: do chemeryny-157, która wykazuje się pełną aktywnością biologiczną. Innym sposobem powstania wysoko aktywnej chemeryny-157 jest jednoetapowe rozszczepianie prochemeryny-163 przez elastazę. Co ważne, produktami aktywności elastazy może być również chemeryna-152 (nieaktywna) oraz chemeryna-155 (o niskiej aktywności). W procesy aktywacji i inaktywacji zaangażowane są więc te same enzymy. Na aktywność chemeryny oraz jej lokalne i systemowe stężenia mają więc wpływ sumaryczne procesy proteolityczne, a więc dostępność różnych proteaz w danej tkance, jednak dokładny mechanizm regulacji jeszcze nie jest dokładnie poznany [52,56,60,62,64,65].

Po raz pierwszy o biologicznej aktywności proteiny nazwanej chemeryną doniosły badania V. Wittamer, która równolegle, niezależnie od drugiej grupy badawczej pod

przewodnictwem W. Medera, zidentyfikowała ligand sierocego receptora Chem23, jako produkt genu TIG2, nazywając go chemeryną. Wittamer wykazała, że chemeryna jest czynnikiem chemotaktycznym komórek układu immunologicznego, zawierających na swojej powierzchni receptor ChemR23: niedojrzałych komórek dendrytycznych i makrofagów [55,56].

Obecnie znane są 3 receptory, których ligandem może być chemeryna. Pierwszym i najlepiej poznanym jest ChemR23, bardziej znany jako CMKLR1 (ang. *chemokine-like receptor 1*), wykazujący dużą homologię z receptorami dla neuropeptydów i chemoatraktantów [55]. CMKLR1 to receptor serpentynowy, siedmiokrotnie przechodzący przez błonę komórkową, sprzężony z wewnątrzkomórkowym układem białek G. Efektem transdukcji sygnału w wyniku aktywacji receptora jest wzrost stężenia cyklicznego AMP, w konsekwencji dochodzi do aktywacji kinazy białkowej A (PKA) fosforylującej wewnątrzcytoplazmatyczne białka efektorowe [52,56,66]. Nie jest do końca wiadomo, jak dokładnie wygląda regulacja kaskady sygnałowej, ostatecznie wpływającej na efekt połączenia chemeryny z receptorem, wykazano jednak, że aktywacja receptora CMKLR1 wiąże się ze wzrostem wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia i fosforylacją białek p42 (ERK2) i p44 (ERK1) (MAPKs) [56]. Od niedawna wiadomo również, iż receptor ten może kooperować z innymi receptorami, tworząc heteromery, jednak zjawisko i znaczenie heteromeryzacji w warunkach fizjologicznych u ludzi wymaga wyjaśnienia [67].

Wiadomo obecnie, że do znacznej ekspresji tego receptora dochodzi na powierzchni licznych komórek układu odpornościowego: makrofagów, komórek dendrytycznych i NK oraz adipocytów i płytek krwi, jak również (co stwierdzono w badaniach nad tkankami mysimi) na powierzchni komórek wielu struktur i narządów: kości, płuc, mózgu, mięśni, serca i łożyska [52,61,65,67-70]. Wiadomo również, iż niewielkiego stopnia ekspresja ChemR23 (CMKLR1) obecna jest na powierzchni limfocytów CD 4+ i umożliwia niektórym szczepom wirusów niedoboru odporności (HIV1 - *human immunodeficiency virus*, SIV - *simian immunodeficiency virus*) wnikanie do komórki gospodarza, służąc jako koreceptor, podobnie do innych receptorów chemokin [71]. Jedne z ostatnio publikowanych badań wykazały ekspresję receptora ChemR23 w błonie środkowej oraz nabłonku tętnic, a doświadczenia przeprowadzone w ramach opisywanych badań pozwalają wskazać chemerynę jako na endogennego wazokonstryktora [72].

Obecna wiedza dotycząca biologicznej aktywności chemeryny wynika głównie z badań dotyczących aktywacji receptora CMKLR1. Na temat roli dwóch pozostałych receptorów, których ligandem, jak wykazano, może być chemeryna, w chwili obecnej danych jest

niewiele. Do receptorów tych należy CCRL2 (chemokin CC-motif receptor like 2) oraz GPR1 [60,73].

CCRL2 jest również receptorem serpentynowym, jednak po związaniu przez niego chemeryny nie dochodzi do wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału. Jak się uważa, jego zadaniem jest zwiększenie lokalnego stężenia chemeryny i prezentowanie adipokiny znajdującym się w pobliżu komórkom zapalnym posiadającym receptor CMKLR1, co może mieć związek ze zwiększeniem odpowiedzi zapalnej [66,74,75]. Ekspresja tego receptora w tkance tłuszczowej jest znikoma, natomiast wyraźną jego obecność wykazano w płucach, sercu, śledzionie, komórkach śródbłonna i na powierzchni leukocytów [74,75]. Ekspresja trzeciego receptora, GPR1, w komórkach zapalnych jest ograniczona, natomiast wykazano ją głównie w komórkach tkanki tłuszczowej, rabdomiocytów oraz komórkach centralnego układu nerwowego, szczególnie w tkance hipokampa, komórkach glioblastoma i fibroblastopodobnych komórkach pochodzenia mózgowego [52,67]. Zastanawiającym jest czy różnorodność lokalizacji występowania receptorów może mieć znaczenie we wspólnym oraz niezależnym ich oddziaływaniu i czy ma to wpływ na różnorodność funkcji chemeryny. Powinowactwo chemeryny do GPR1 jest podobne jak w przypadku CMKLR1, natomiast o biologicznej funkcji receptora GPR1 u ssaków niewiele wiadomo. Jego poznana funkcja jest związana ze zdolnością do wyczuwania substancji odżywczych (glukozy) w otaczającym środowisku przez komórki drożdży [52].

Tkanka tłuszczowa uważana jest obok wątroby za główne źródło krążącej chemeryny [52,68,76]. Wysoką ekspresję chemeryny, jednak w mniejszych stężeniach w porównaniu do wątroby i tkanki tłuszczowej, stwierdzono również w narządach takich jak: łożysko, płuca, brunatna tkanka tłuszczowa, serce, jajniki, nerki, mięśnie szkieletowe i trzustka [68]. Z badań wynika, że najwyższa ekspresja zarówno chemeryny jak i receptora CMKLR1 ma miejsce w białej tkance tłuszczowej. Adipocyty produkują większe ilości chemeryny w porównaniu do komórek zrębu tkanki tłuszczowej [68]. Z jednych z najnowszych badań wynika, że CMKLR1 jest obecny również w ludzkich komórkach śródbłonna naczyń, a jego ekspresja jest indukowana cytokinami pozapalnymi TNF α , IL-1 β i IL-6 [77].

W odniesieniu do tkanki tłuszczowej stężenia chemeryny są szczególnie wysokie w procesie różnicowania adipocytów, przy czym udowodniono, że obniżenie ekspresji chemeryny i CMKLR1 hamuje adipogenezę [68,76,78-81]. Jak wykazano, z bezpośrednim wzrostem ekspresji chemeryny we wczesnych fazach ekspansji klonalnej w trakcie różnicowania adipocytów wiąże się aktywność PPAR γ (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*), który jest kluczowym regulatorem adipogenezy [68,79,81]. Powyższe

obserwacje jednoznacznie wskazują, że chemeryna pełni ważną rolę w inicjowaniu procesu adipogenezy na wczesnych jej etapach.

Podobnie jak w przypadku innych adipokin (leptyna, adiponektyna) stężenia wydzielanej chemeryny w surowicy wykazują się pewnym rytmem dobowym, jakkolwiek u ludzi wahania stężeń są niższe niż na modelach zwierzęcych [76,82-84]. Istnieje również praca, w której przedstawiono, iż chemeryna nie wykazuje rytmu dobowego [85]. U kobiet i starszych dorosłych wykazano wyższe stężenia niż u mężczyzn i osób młodszych, jakkolwiek nie wszystkie badania na to wskazują [76,82-84,86].

Badań dotyczących dzieci jest niewiele i wyniki dwóch grup badawczych są rozbieżne. W badaniu Landgraf i wsp. wykazano ujemną korelację z wiekiem w grupie dzieci 7-18-letnich, szczególnie u chłopców [87], podczas gdy druga grupa badawcza Schipperera i wsp. nie wykazała zależności stężenia chemeryny od wieku [88].

Znaczący nagły spadek stężenia krążącej chemeryny u ludzi był obserwowany w związku z nagłą deprivacją energetyczną wywołaną głodem, obniżenie poziomu chemeryny wynosiło aż około 42% [85].

Podwyższone stężenia krążącej chemeryny obserwowano w licznych schorzeniach związanych z przewlekłym stanem zapalnym: w chorobie Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego, przewlekłych chorobach nerek u pacjentów dializowanych, w zapaleniu trzustki, przewlekłych schorzeniach wątroby, a także w stanie przedrzucawkowym oraz zespole policystycznych jajników [52,66,89-100].

Istotną obserwacją jest fakt, iż wzrost ekspresji chemeryny i jej aktywacji proteolitycznej jest często ograniczony tylko do regionu tkanki objętej zapaleniem i nie musi wiązać się ze wzrostem stężenia krążącej w surowicy chemeryny, takie obserwacje miały miejsce zarówno na modelach zwierzęcych jak i u ludzi i były zauważane w przypadku przewlekłych schorzeń skóry (toczniu, łuszczycy), tkanek objętych procesem nowotworowym, stwardnienia rozsianego czy zapalenia stawów [52,56,70,75,101-105].

Tak więc, chociaż udział chemeryny w procesach zapalnych jest bezsporny, niejasne pozostawały biochemiczne zależności, których efektem są opisane powyżej korelacje stężeń chemeryny ze schorzeniami o podłożu zapalnym i jej wpływ na inne komórki, biorące udział w procesach immunologicznych. Poszukując molekularnego podłoża tych korelacji, spodziewano się znaleźć powiązania chemeryny z innymi mediatorami procesu zapalnego. Zgodnie z tym, badania *in vitro* wykazały, iż stężenia chemeryny w surowicy dodatnio korelują z poziomem prozapalnych cytokin TNF α , IL-6 oraz z CRP [83,87,97], jak również ze stężeniami innych prozapalnych adipokin: leptyny i rezystyny [52,81,83,87,97]. Powyższe

badania stały się punktem wyjścia dla dalszych poszukiwań udziału chemeryny w skomplikowanych procesach immunologicznych. Kolejne badania wykazały wzrost sekrecji cytokin prozapalnych IL-6, IL-8, TNF α , IL-1 β *in vitro* jako efekt podania chemeryny do hodowli ludzkich komórek (chondrocytów i komórek błony maziowej) [106,107]. Z kolei wzrost wydzielania chemeryny uzyskano poprzez traktowanie ludzkich komórek nabłonka jelitowego oraz mysich i ludzkich adipocytów czynnikiem TNF α [81,108-110].

O ile większość doniesień w literaturze potwierdza zdecydowanie prozapalny charakter chemeryny, to w ostatnich kilku latach pojawiły się również doniesienia sugerujące jej antyzapalną aktywność. Wykazywały one początkowo, iż pod pewnymi stworzonymi doświadczalnie warunkami chemeryna może pośrednio wpływać na zmniejszenia nacieku leukocyтарnego, poprzez hamowanie produkcji cytokin pozapalnych: TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-12 i RANTES (*Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted*) przez makrofagi tkankowe. Wysłunięto przypuszczenie, iż na modelu zwierzęcym klasycznie aktywowane makrofagi tkankowe są zdolne do przekształcenia chemeryny w izoformę antyzapalną [111]. Ponieważ innej grupie badaczy nie udało się uzyskać podobnego efektu, potwierdzającego potencjalne bezpośrednie przeciwzapalne działanie chemeryny [112], postulowano, iż efekt taki mógł być związany z aktywnością innych niż leukocyty komórek, np. śródbłonkowych [113] lub z zaangażowaniem grup mediatorów przeciwzapalnych nazywanych resolwinami [52,114]. W ostatnim czasie pojawiły się kolejne prace udowadniające, iż chemeryna posiada obok właściwości prozapalnych również przeciwzapalną aktywność. W badaniach na modelach mysich (u zwierząt z wyłączonym genem ChemR23) wykazano, iż w ostrym zapaleniu płuc wywołanym przez LPS bakteryjne chemeryna zmniejsza infiltrację neutrofilii i uwalnianie cytokin zapalnych w sposób zależny od ChemR23 [115]. Nieco zbliżone obserwacje dotyczą badań związanych z wirusowym zapaleniem płuc u myszy, gdzie, jak wykazano, właściwości przeciwzapalne chemeryny wiążą się z ChemR23-zależną rekrutacją plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych, co wpływa na adaptację odpowiedzi immunologicznej przez zmniejszenie nacieku neutrofilii i prawidłową produkcję interferonu typu I (zmniejszona u myszy z knock-outem). U myszy z wyłączeniem systemu chemeryna/ChemR23 obserwowano wyższą śmiertelność i zachorowalność, opóźnioną eliminację wirusa i zaburzenia funkcji płuc. Według autorów, jest to związane z brakiem ograniczających proces zapalny procesów, w których główną rolę pełni chemeryna i jej receptor. Potwierdza to występowanie przeciwzapalnych właściwości chemeryny [116]. Kolejne doniesienia potwierdzają, iż z całą pewnością chemeryna ma możliwość aktywowania ścieżki zarówno zapalnej jak i przeciwzapalnej, w zależności od

schorzenia i miejsca objętego procesami zapalnymi, co zapewne uzależnione jest to od typu komórek zaangażowanych w te procesy i od aktywacji odmiennych kaskad sygnałowych [113,117,118]. Problem warunkowej aktywności przeciwzapalnej i mechanizmów z tym związanych wymaga z pewnością dalszych badań i wyjaśnień.

Na podstawie przeglądu literatury dotyczącej udziału chemeryny w opisanych powyżej procesach immunologicznych i fakt, iż jej stężenie jest znacząco podwyższone w tkankach objętych zapaleniem, można uznać, że chemeryna jest aktywnym uczestnikiem procesów indukujących odpowiedź zapalną i może wpływać na ekspresję innych mediatorów zapalnych i podtrzymanie odpowiedzi zapalnej. Biorąc pod uwagę związek otyłości z obecnością przewlekłego procesu zapalnego [119], wydaje się słusznym zwrócić szczególną uwagę na możliwość pełnienia potencjalnej roli przez chemerynę w patofizjologii nadwagi i otyłości.

4. Chemeryna a otyłość

Kluczowym wydarzeniem rozpoczynającym prace nad udziałem chemeryny w patogenezie otyłości i chorób z nią współistniejących były badania, które wykazały wysoką ekspresję chemeryny i jej receptora w tkance tłuszczowej gryzoni a następnie ludzi [68,76]. Jak już wspomniano, szczególnie wysokie stężenia chemeryny obserwowano podczas procesów adipogenezy, stwierdzając, iż chemeryna i jej receptor CMKLR1 pełnią fundamentalną rolę w różnicowaniu preadipocytów do adipocytów poprzez mechanizmy autokrynne i parakrynne [68,79,80]. Obserwacje te pozwoliły zaliczyć chemerynę do adipokin, a wykazanie w kolejnych badaniach zależności stężeń chemeryny od masy ciała [76,82,83,120] było powodem zainteresowania badaczy potencjalnym udziałem chemeryny w procesach molekularnych powiązanych z rozwojem nadwagi/otyłości.

Obserwacje wykazujące dodatnią korelację stężenia chemeryny z nadmierną masą ciała w modelach zwierzęcych zostały potwierdzone również podobnymi obserwacjami u ludzi [68,76,121], a w ostatnim czasie także w populacji dziecięcej, w jednych z pierwszych badań [87,88]. Chemeryna wykazuje dodatnią korelację z BMI, z pomiarami wskazującymi na otyłość centralną (obwodem talii oraz stosunkiem obwodu talii do bioder - *waist to hip ratio* - WHR) [76,97,122,123] oraz masą trzewnej tkanki tłuszczowej [87,124].

Powyższe obserwacje mogą wskazywać, iż, mimo że chemeryna syntezowana jest w dużej mierze w wątrobie [97], jak również przez komórki układu immunologicznego oraz komórki śródbłonna naczyń [77], to jednak tkanka tłuszczowa jest głównym miejscem uwalniania krążącej chemeryny w otyłości. Należy również zwrócić uwagę, że w otyłości

tkanka tłuszczowa może osiągać bardzo dużą masę, stanowiąc zdecydowanie największy narząd wydzielający chemerynę do krwi. Jak wykazano, stężenie chemeryny jest uzależnione od zawartości tkanki tłuszczowej w ustroju, co uzasadniać może obserwacja znacznie wyższej sekrecji chemeryny w eksplantach tkanki tłuszczowej pobieranych od otyłych w porównaniu do sekrecji w tkance izolowanej od osób z prawidłową masą ciała. Wysokość tej sekrecji korelowała z BMI, WHR oraz objętością adipocytów i ich liczbą [81]. Co więcej, jak wykazano, ekspresja mRNA chemeryny rosła znacząco u otyłych pacjentów w tkance tłuszczowej trzewnej, korelując dodatnio z poziomem krążącej chemeryny, czego nie obserwowano w odniesieniu do tkanki tłuszczowej podskórnej [122].

Dane doświadczalne i kliniczne ostatnich lat potwierdzają więc, że tkanka tłuszczowa jest ważnym źródłem chemeryny, co więcej, ekspresja jej wykazywać się może dużą dynamiką zmian zależną od zmian masy ciała. Zgodnie z tymi obserwacjami, u otyłych dorosłych pacjentów, którym skutecznie udało się obniżyć masę ciała dzięki zabiegowi bariatrycznemu, obserwowano znaczne obniżenie stężenia krążącej chemeryny w porównaniu do wartości wyjściowych [120,122,125] i to niezależnie od metody stosowanego zabiegu [126]. Podobnie u pacjentów poddawanych zachowawczym metodom redukcji masy ciała polegającym na diecie i aktywności fizycznej [122,127,128]. Obserwowano również, iż obniżenie stężenia chemeryny było powiązane z poprawą insulinowrażliwości u osób z otyłością, którym udało się zredukować masę ciała [129,130]. Jednak nie we wszystkich doniesieniach opisywane są takie obserwacje. Catalan i wsp. nie obserwowali spadku stężeń chemeryny po redukcji masy ciała związanej z operacją bariatryczną z zastosowaniem bypassu żołądkowego *Roux-en-Y* (badanie było przeprowadzone na grupie 36 pacjentów) [108].

Rozrost tkanki tłuszczowej jest efektem zarówno hiperplazji, jak i hipertrofii adipocytów, natomiast, jak wcześniej wspomniano, chemeryna jest kluczowym hormonem inicjowania adipogenezy. Jak w każdej tkance, ekspansji komórek towarzyszy rozwój podścieliska naczyniowego. W 2010 roku pojawiły się dwie prace, w których wykazano, iż chemeryna nie tylko inicjuje proces różnicowania komórek tłuszczowych, ale odgrywa również szczególną rolę w stymulacji angiogenezy, aktywując kluczowe procesy indukujące proliferację i migrację komórek endotelialnych oraz tworzenie cewek naczyniowych [77,131]. Stanowi to kolejny dowód na związek chemeryny z ekspansją tkanki tłuszczowej.

Co więcej, wydaje się, że chemeryna przez swój receptor może wywierać wpływ na apetyt. W jednym z najnowszych badań prowadzonych przez Ernsta u myszy z knock-outem genu receptora CMKLR1 (CMKLR1^{-/-}) oprócz obserwowanych niższych wartości całkowitej masy ciała i procentowej zawartości tkanki tłuszczowej obserwowano również mniejszy

apetyt, mierzony ilością spożytego pokarmu [78]. Dowodzi to, że transdukcja sygnału przez receptor, którego ligandem jest chemeryna, ma wpływ na ilość pobieranego pokarmu, a więc bierze udział w regulacji procesów energetycznych ustroju wpływających na wielkość dostarczanej energii. Receptor CMKLR1 może być w przyszłości istotnym punktem, stwarzającym możliwość opracowania strategii terapeutycznych poprzez wpływ na regulację apetytu. W ostatnim czasie pojawiło się bardzo interesujące doniesienie, oparte na badaniach na zwierzęcych modelach doświadczalnych, opisujące wpływ dootrzewnowego podania chemeryny na podwzgórzową regulację apetytu [132]. Obserwowany spadek apetytu z jednoczesną utratą masy ciała, wydaje się być efektem dootrzewnowej podaży chemeryny w ciągu kilkunastu kolejnych dni. Efekty te w odniesieniu do apetytu widoczne są od 6 doby podawania adipokiny, natomiast redukcja masy ciała obserwowana była od 8 doby. Opiswane powyżej zmiany są prawdopodobnie związane ze znaczącym wzrostem syntezy i uwalniania serotoniny w podwzgórzu. Badania te wykazały ponadto istotne zmiany w ekspresji genów związków biologicznie czynnych, odpowiedzialnych za regulację apetytu, mianowicie: obniżenie ekspresji genów oreksyny A oraz AgRP (*aguti-related peptide*), natomiast po podaniu wyższych dawek stosowanej chemeryny obserwowano znaczące zwiększenie ekspresji genów NPY (*Neuropeptide Y*) i CART (*cocaine and amphetamine-regulated transcript*) [132]. Oreksyna A, AgRP i NPY są związane ze stymulacją apetytu, natomiast CART jest peptydem anorektycznym [22,24,41].

Bardzo ważnym wydarzeniem w trakcie badań nad molekularnym podłożem procesów zachodzących w otyłości było wykazanie związku nadmiernej masy ciała z obecnością procesów zapalnych. Jak udowodniono, nadmierny rozwój tkanki tłuszczowej indukuje powstawanie w jej obrębie uogólnionego przewlekłego stanu zapalnego o niskim natężeniu. Wpływa to na rozwój procesów patologicznych w samej tkance tłuszczowej, ale również jest związane z występowaniem licznych schorzeń powiązanych z otyłością [119]. Poprzez swoje udokumentowane działanie prozapalne chemeryna jest także zaangażowana w procesy immunologiczne, zachodzące w obrębie tkanki tłuszczowej, jakkolwiek bezpośrednia zależność z występowaniem chorób towarzyszących nadwadze/otyłości jak dotąd nie został udowodniona i ciągle jest przedmiotem badań wielu ośrodków naukowych całego świata. W wyniku indukowanego otyłością stanu zapalnego w obrębie tkanki tłuszczowej obserwuje się charakterystyczne zmiany: rekrutację i naciek makrofagów, niedojrzałych komórek dendrytycznych limfocytów NK i T oraz wzrost sekrecji takich adipokin jak TNF α , czy IL-6. Jak udowodniono, wydzielana przez adipocyty chemeryna, działa jako chemoatraktant na komórki posiadające jej receptor CMKLR1, a komórkami tymi są właśnie wymienione

powyżej komórki odpowiedzi zapalnej (makrofagi, komórki dendrytyczne i NK) [56,58,112]. Obserwowano, iż zwiększenie poziomu chemeryny w umiarkowanej i ciężkiej otyłości wiązało się ze zwiększeniem nacieku makrofagów w tkance tłuszczowej i wzrostem ekspresji mediatorów stanu zapalnego, takich jak CRP, IL-6, TNF α [83,97]. Zjawisko to może być konsekwencją zwiększenia ekspresji cytokin prozapalnych: TNF α , LPS, IL-1 β , które jak wykazano, mają wpływ na zwiększoną ekspresję chemeryny i na jej aktywność względem adipocytów [52,110,133].

We wspomnianych już wcześniej badaniach na modelach zwierzęcych delecja genu CMKLR1 wiązała się z obniżeniem pobierania pokarmów (niezależnie od stosowanej diety), niższą całkowitą masą ciała i procentową zawartością tkanki tłuszczowej. U zwierząt z *knock-outem* genu tego receptora obserwowano niższe poziomy mRNA dla TNF α i IL-6, co współwystępowało z mniejszą infiltracją wątroby przez komórki zapalne (dendrytyczne, NK oraz makrofagi) jak również zmniejszeniem ilości limfocytów CD3+ przy wzroście liczby komórek NK w tkance tłuszczowej [78]. Powyższe obserwacje potwierdzają udział chemeryny i jej receptora w procesach zapalnych, które mogą mieć związek z otyłością.

5. Chemeryna a choroby współistniejące z otyłością

Bardzo ważnym spostrzeżeniem, sugerującym możliwy udział chemeryny w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych powiązanych z otyłością było wykazanie dodatniej korelacji stężeń chemeryny z wartościami ciśnienia tętniczego krwi [76,82]. Choć pojawiły się również pojedyncze doniesienia o braku takiej korelacji [81], większość późniejszych badań potwierdza występowanie tej zależności [52,128,134]. Powiązanie działania chemeryny z nadciśnieniem przyniosły jedne z najnowszych badań opublikowanych przez Wattsa w 2013 roku. Wykazano w nich ekspresję genu chemeryny w tkance tłuszczowej okołonaczyniowej w eksplantach pochodzących od otyłych pacjentów oraz ekspresję genu receptora ChemR23 w obrębie nabłonka i warstwy środkowej naczyń tętniczych szczurzych, o czym już wcześniej wspomniano. W pracy tej udowodniono ponadto, iż podanie agonisty receptora chemeryny powodowało skurcz naczyń tętniczych szczurzych i ludzkich – co wskazuje na nową rolę chemeryny jako na endogennego wazokonstryktora w otyłości [72]. Pojawiły się również doniesienia o hamującym wpływie chemeryny na produkcję tlenku azotu (NO) w obrębie naczyń pochodzących od osobników otyłych, zmniejsza to zdolność do relaksacji mięśniówki naczynia [135], co świadczyć może o dodatkowym mechanizmie przyczyniającym się do dysfunkcji naczyń w otyłości. Kolejne obserwacje autorów greckich opublikowane w 2014

roku sugerują udział chemeryny i jej receptora w rozwoju zmian aterosklerotycznych [136]. W niektórych jednak wcześniejszych doniesieniach wyniki badań klinicznych nie wskazywały na występowanie związku pomiędzy stężeniem chemeryny a nasileniem zmian aterosklerotycznych naczyń wieńcowych u dorosłych pacjentów po incydentach wieńcowych [83] Ostatnie doniesienia z 2014 roku wykazały jednak związek chemeryny z chorobą naczyń wieńcowych (CAD - *coronary artery disease*), aczkolwiek sugestia, iż chemeryna może być predyktorem ostrego zespołu wieńcowego, nie została potwierdzona [137].

Przeprowadzone jako jedno z pierwszych, niezwykle istotne badania Bozaoglu i wsp. oraz Goralskiego i wsp. wykazały związek chemeryny nie tylko z nadmierną masą ciała, ale wskazują na możliwy związek również z zaburzeniami metabolicznymi. Wyciszenie genu chemeryny lub receptora CMKLR1 w dojrzałych adipocytach powodowało zmiany ekspresji genów zaangażowanych w utrzymanie homeostazy glukozy i lipidów (perylipiny, GLUT4 - *glucose transporter type 4*, adiponektyny, leptyny) [68]. Jak donosi część autorów chemeryna wykazuje dodatnią korelację z triacyloglicerolami w surowicy [76,83,128], stężeniem glukozy na czczo, stężeniami insuliny w surowicy, całkowitym stężeniem cholesterolu i frakcji LDL-cholesterolu, niezależnie od wieku i płci u osób bez cukrzycy. Natomiast HDL-cholesterol wykazuje odwrotną zależność ze stężeniem chemeryny w surowicy [76,120,128].

Opisywane wcześniej obniżenie stężeń chemeryny obserwowane w trakcie redukcji masy ciała, niezależnie od stosowanej metody, było związane również z obniżaniem stężeń CRP [125], glukozy, poprawą insulinowrażliwości (obniżenie HOMA - *homeostasis model assessment of insulin resistance*) i obniżeniem stężenia triacylogliceroli [120,122,128-130].

Wpływ chemeryny na metabolizm glukozy na poziomie komórkowym nie jest jednak oczywisty i jednoznaczny. W literaturze można spotkać sprzeczne wyniki badań *in vitro* odnoszące się do molekularnych aspektów dysregulacji gospodarki glukozą przez chemerynę: była ona opisywana zarówno jako czynnik zwiększający [138] jak i zmniejszający wychwyt glukozy stymulowany insuliną w hodowlach adipocytów i ludzkich rbdomiocytów [80,81]. Wobec sprzecznych informacji wynikających z badań *in vitro* Ernst zbadał *in vivo* wpływ chemeryny na gospodarkę glukozy na modelach zwierzęcych, wykorzystując myszy z genetyczną ablacją genu receptora CMKLR1. Stwierdził on, iż brak receptora chemeryny wiąże się z występowaniem nietolerancji glukozy, będącym wynikiem zależnego od sekrecji insuliny wychwyty tkankowego glukozy [78]. Z kolei Takahashi i wsp. zaobserwowali, że przewlekła nadekspresja chemeryny u myszy zwiększa tolerancję glukozy [139]. Wzajemne relacje między chemeryną, otyłością, stanem zapalnym i gospodarką glukozą były wykazywane na modelach hodowli tkankowych, zwierzęcych i u ludzi dorosłych. W

badaniach tych obserwowano, iż wzrost chemeryny krążącej oraz pochodzącej z tkanki tłuszczowej był znacząco wyższy u osobników z insulinoopornością lub rozwiniętą cukrzycą typu 2 [82,122,140]. Ten wzrost stężenia chemeryny w insulinooporności i cukrzycy typu 2 według części źródeł jest czynnikiem niezależnym od masy ciała [82,97,122]. Z drugiej jednak strony istnieją prace wykazujące brak korelacji stężeń chemeryny z parametrami insulinooporności czy związku z cukrzycą typu 2 [92,120]. Zgodnie z opisaną wcześniej rolą chemeryny w utrzymywaniu homeostazy glukozy stężenia chemeryny w większości prac opisywane są jako silnie skorelowane z insulinowrażliwością: u pacjentów normoglikemicznych z prawidłową insulinowrażliwością oraz u pacjentów z nieprawidłowymi wartościami glukozy na czczo (IFG), nietolerancją glukozy (IGT) oraz pacjentów z cukrzycą typu 2 stężenie chemeryny w surowicy lub osoczu było niezależnie związane z wartościami glukozy na czczo i stężeniem insuliny w surowicy jak również wartością HOMA [82,141,142]. Różnice stężeń chemeryny były wykazane w różnych stanach przedcukrzycowych, co może być wiązane z dysfunkcją samej tkanki tłuszczowej, co więcej, sugeruje się, iż chemeryna stanowić może dodatkowy czynnik predykcyjny otyłości brzusznej oraz wczesnych zaburzeń w rozwoju cukrzycy [142]. Chemeryna przez niektórych autorów jest nawet wskazywana jako biomarker mogący służyć do identyfikacji pacjentów z insulinoopornością jeszcze bez widocznych zaburzeń metabolicznych [141].

Tak więc badania przeprowadzone *in vitro* jak i *in vivo* wskazują, iż chemeryna odgrywa ważną rolę w utrzymaniu homeostazy glukozy, najprawdopodobniej jako modulator wydzielania insuliny oraz insulinowrażliwości tkankowej.

Wśród najbardziej rozpowszechnionych chorób współwystępujących z otyłością zwiększających ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych oraz cukrzycy typu 2 jest zespół metaboliczny, określany jako zespół zaburzeń metabolicznych obejmujący nieprawidłową tolerancję glukozy, zaburzenia gospodarki lipidowej, otyłość centralną ze współwystępowaniem nadciśnienia tętniczego. W opublikowanym w ostatnim czasie doniesieniu Chu i wsp. przedstawiają sugestię, iż poziom chemeryny w surowicy jest istotnym czynnikiem ryzyka dla rozwoju zespołu metabolicznego [143]. Opisywano obserwacje podwyższonych poziomów chemeryny w surowicy i w tkance tłuszczowej u osób z zespołem metabolicznym w porównaniu do osób z prawidłową masą ciała [144-146]. Wysłunięto także sugestię, iż wysokie stężenia chemeryny mogą być czynnikiem przepowiadającym cięższą postać zespołu metabolicznego [84]. Po wspomnianych powyżej badaniach Bozaoglu i Goralskiego przedstawiane były kolejne prace potwierdzające występowanie dodatniej korelacji stężeń chemeryny z licznymi parametrami zespołu

metabolicznego: poziomem krążących triacylogliceroli, cholesterolu w lipoproteinach niskiej gęstości (LDL-cholesterolu), obwodem talii, insulinoopornością, ilorazem stężeń insuliny i glukozy na czczo, wartościami skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi [7,82,84,143,146-148]. Wykazano również, iż redukcja masy ciała osiągana przy pomocy ćwiczeń fizycznych związana z obniżeniem stężeń krążącej chemeryny korelowała z poprawą parametrów zespołu metabolicznego: objętością tkanki tłuszczowej, wskaźnikami insulinoopornosci, stężeniem glukozy na czczo, obwodem talii u dorosłych z nadwagą i otyłością [127]. Niestety biochemiczne mechanizmy leżące u podstawy obserwowanych zjawisk nie są jeszcze znane.

Ponieważ z rozwojem otyłości a także z rozwojem zespołu metabolicznego wiąże się wysokie ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych, podjęto pierwsze próby poszukiwania związku chemeryny z patogenezą tych schorzeń, szczególnie w kontekście rozwoju zmian miażdżycowych w naczyniach [144,146,148-150]. Wstępne badania sugerują, iż chemeryna może wywierać wpływ na rozwój zmian naczyniowych, a świadczyć o tym może związek chemeryny z ekspresją markerów patologii naczyń: E-selektyny oraz *ICAM 1*, *VCAM*, co stwierdzono nie tylko u dorosłych ale również u dzieci [87,88,113,151]. Istnieje również doniesienie opisujące, iż o ile chemeryna jest silnie związana z markerami stanu zapalnego oraz parametrami zespołu metabolicznego, jednak nie stanowi czynnika predykcyjnego dla wystąpienia miażdżycy naczyń wieńcowych, ponieważ korelacja jej stężenia z występowaniem blaszek miażdżycowych jest słaba [83]. Niemniej jednak hiperlipidemia definiowana jako podwyższony poziom triacylogliceroli w surowicy krwi oraz podwyższony współczynnik frakcji LDL/HDL cholesterolu, występująca w otyłości, jest związana z podwyższonym ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. W zdecydowanej większości prac obserwowana jest dodatnia korelacja stężeń krążącej chemeryny z poziomem triacylogliceroli, LDL cholesterolu oraz z ciśnieniem tętniczym krwi [76,84,122,134,143,144,146,148,152], natomiast frakcja HDL cholesterolu wykazuje z chemeryną korelację ujemną [82-84,120,143]. W dostępnej literaturze można znaleźć niewiele komentarzy a także badań dążących do wyjaśnienia mechanizmów kierujących zależnościami chemeryny i hiperlipidemii. Na temat wpływu chemeryny na proces lipolizy doniesienia przedstawiają sprzeczne wyniki: chemeryna była opisywana jako czynnik stymulujący [68,80] lub zmniejszający lipolizę [118]. W piśmiennictwie obecne są prace wskazujące na zwiększanie ekspresji chemeryny przez wolne kwasy tłuszczowe w hodowlanej linii adipocytów [153], jednakże wpływ chemeryny na procesy zawiadujące gospodarką lipidową pozostaje niezbadany.

Spośród innych chorób, które współwystępują z otyłością, znajduje się zespół policystycznych jajników (PCOS), gdzie również obserwowane są wyższe stężenia chemeryny w porównaniu do kobiet bez PCOS, przy czym masa tłuszczowa wydaje się być głównym czynnikiem determinującym wzrost stężeń chemeryny [154].

Związek chemeryny z otyłością, stanem zapalnym, parametrami zespołu metabolicznego może stanowić element łączący otyłość z rozwojem chorób sercowo-naczyniowych.

6. Chemeryna w okresie wieku rozwojowego

Badania dotyczące chemeryny były przeprowadzane *in vitro* na komórkach linii hodowlanych czy eksplantów *ex vivo* oraz *in vivo* na modelach zwierzęcych i/lub u osób dorosłych. O stężeniu chemeryny i jej roli na wczesnych etapach życia osobniczego niewiele jeszcze wiadomo. Wykazano jednak, iż pierwsze następstwa otyłości pod postacią różnych objawów i zespołów chorobowych oraz prawdopodobnie powiązane z nimi patologiczne zmiany na poziomie molekularnym, w tym zmiany dotyczące adipokin, są widoczne już w okresie dziecięcym [155]. Zależności występowania otyłości, czy patologii naczyń, ze zmianami stężeń adipokin w wieku dziecięcym obserwowano już w przypadku leptyny, adiponektyny, czy rezystyny [23]. W ostatnim czasie pojawiły się trzy doniesienia dotyczące badań u dzieci w kontekście poszukiwań związku chemeryny z rozwojem wczesnych zmian naczyniowych i metabolicznych, które były przeprowadzone w ośrodku holenderskim oraz niemieckim [87,88,156]. W badaniu przeprowadzonym przez badaczy niemieckich stężenia chemeryny wykazywały zależność od wieku u dzieci nieotyłych: negatywna korelacja wieku i stężeń krążącej chemeryny szczególnie widoczna była u chłopców z wyraźną progresją w poszczególnych etapach dojrzewania, co może świadczyć, iż mechanizmy wpływające na ekspresję chemeryny podlegają dodatkowo regulacjom zależnym od płci. Jednakże nie wykazano statystycznie istotnych różnic w stężeniu chemeryny u obu płci, zarówno w całej grupie 69 badanych dzieci, jak i w podgrupie wiekowo starszej. Związek chemeryny z wysokością ciała jest pochodną wieku dziecka, wysokość nie jest bowiem niezależnym predyktorem stężenia tej adipokiny [87]. W doniesieniach badaczy holenderskich, nie wykazano zależności stężenia chemeryny zarówno od wieku jak i od płci w grupie 30 dzieci z prawidłową masą ciała oraz 60 dzieci otyłych [88].

Co ważne, obie grupy badawcze wykazały występowanie związku pomiędzy stężeniem chemeryny a otyłością [87,88].

Liczne badania przeprowadzone u dorosłych wskazywały chemerynę jako predyktora zespołu metabolicznego, szczególnie zaangażowanego w procesy zawiadujące gospodarką glukozy i insuliny [76,82,84,120]. W badaniach Landgraf i wsp. dotyczących populacji dziecięcej wykazano również związek stężeń chemeryny z parametrami homeostazy glukozy, który, według autorki, wynikać ma z mechanizmów związanych z rozwojem otyłości [87]. W pracy holenderskich autorów pod kierunkiem Schippera wykazano, iż chemeryna obok leptyny, TIMP-1 (*tissue inhibitor of metalloproteinase 1*), EGF (*endothelial growth factor*) i TNF-R2 (*TNF-receptor 2*) jest nowym mediatorem stanu zapalnego o wyższych stężeniach u dzieci otyłych w porównaniu z dziećmi o prawidłowej masie ciała [88]. Obie grupy badaczy były szczególnie zainteresowane poszukiwaniem powiązań między otyłością a wczesnym rozwojem zmian naczyniowych, sugerując wpływ mediatorów stanu zapalnego na patogenezę powikłań towarzyszących otyłości w kontekście zaburzeń metabolicznych czy zmian naczyniowych. Landgraf i wsp. przedstawili interesujące dane dotyczące powiązań chemeryny ze wzrostem ekspresji molekuł adhezji ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule 1*) i selektyny E w śródbłonku naczyń, co może stanowić podłoże obserwacji korelacji stężeń chemeryny ze stężeniami tych molekuł w surowicy krwi. Są one markerami aktywacji śródbłonka, która stanowi jeden z pierwszych procesów występujących w patogenezie aterosklerotycznych zmian naczyniowych. Na podstawie tych obserwacji wysunięto sugestię, że chemeryna może być jednym z istotnych czynników łączących nadmiar tkanki tłuszczowej, stan zapalny i wczesne zmiany naczyniowe już we wczesnych etapach rozwoju osobniczego [87]. Natomiast Schipper i wsp., poszukując asocjacji otyłości i zmian naczyniowych, badali profile mediatorów stanu zapalnego przy pomocy kompleksowej analizy klasterowej w surowicy krwi dzieci otyłych i z prawidłową masą ciała. Efektem ich badań były obserwacje wskazujące na wyższe stężenia w surowicach dzieci z nadmierną masą ciała licznych krążących mediatorów stanu zapalnego (w tym niektórych adipokin) oraz aktywowanych monocytów CD14++, które u dorosłych uważane są za istotny element łączący otyłość z miażdżycą naczyń [88]. Verrijn Stuart oraz Schipper podjęli się również sprawdzenia, jak zachowuje się chemeryna u dzieci w początkowych stadiach oraz długo trwającą cukrzycą typu pierwszego (T1D – *Type 1 Diabetes*) i jakie może mieć to implikacje w kontekście rozwoju następstw i powikłań cukrzycy [156]. Zaobserwowano, iż stężenia chemeryny u dzieci z T1D są podwyższone w porównaniu do dzieci zdrowych niezależnie od czasu trwania choroby, a co więcej, surowica tych chorych działa adipogennie *in vitro*. Autorzy podkreślają, że obserwacje te wskazują na zaangażowanie tkanki tłuszczowej w

procesy stanu zapalnego o niskim natężeniu, którego obecność jest również powiązana z rozwojem T1D [156].

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa należy stwierdzić, że chemeryna jest jedną z bardziej interesujących i obiecujących adipokin. Jej udział w adipogenezie, rozwoju otyłości i procesach immunologicznych został potwierdzony licznymi badaniami, jest wysoce prawdopodobne, że jest ona kluczowym czynnikiem wiążącym te procesy. Jednakowoż nie została jednoznacznie wyjaśniona rola, jaką ona w nich pełni. Dalszych badań wymagają mechanizmy regulujące ścieżki sygnałowe, w których bierze udział chemeryna oraz efekty, które może ona wywoływać na poziomie subkomórkowym. Jednym z istotniejszych zagadnień jest potencjalna rola chemeryny na wczesnych etapach rozwoju otyłości, szczególnie przydatnymi w tej ocenie mogą być badania dotyczące populacji wieku rozwojowego.

Chemeryna, nowo odkryty peptyd będący produktem aktywności endokrynnej tkanki tłuszczowej w świetle przedstawionych powyżej obserwacji może stanowić niezwykle istotny czynnik łączący patomechanizm rozwoju otyłości, stanu zapalnego, zaburzeń metabolicznych i powikłań naczyniowych, jak również innych chorób powiązanych z otyłością. O ile wiedza dotycząca chemeryny w populacji dorosłych jest coraz bardziej rozległa, to ilość badań dotyczących tego zagadnienia prowadzonych w obrębie populacji dzieci i młodzieży jest stanowczo zbyt mała.

III. CELE PRACY

Celem niniejszej pracy było:

1. Porównanie stężenia chemeryny we krwi dzieci ze zdiagnozowaną nadwagą i otyłością pierwotną oraz dzieci eutreptycznych.
2. Sprawdzenie, w jaki sposób skład ciała (odsetek masy tłuszczowej) wiąże się ze stężeniem chemeryny we krwi.
3. Odpowiedzenie na pytanie, czy i w jaki sposób stężenie chemeryny wiąże się ze stopniem nasilenia stanu zapalnego, którego wykładnikiem jest białko C-reaktywne.
4. Przeanalizowanie związku pomiędzy stężeniem chemeryny a wykładnikami ryzyka rozwoju powikłań otyłości.

IV. MATERIAŁ I METODY:

3.1 Pacjenci:

Kryterium włączenia do badania był wiek: 4-18 roku życia.

Kryteria wyłączenia stanowiły:

1. choroby przewlekłe,
2. objawy ostrej infekcji w okresie 2 tygodni poprzedzających badanie,
3. przyjmowanie leków mających wpływ na parametry stanu zapalnego (glikokortykosteroidy, NLPZ), glikemię, lipidogram oraz leków przeciwnadciśnieniowych.

Do badania zakwalifikowano ogółem 101 dzieci: 48 dziewczynek i 53 chłopców, przyporządkowując ich do dwóch grup, gdzie głównym kryterium różnicującym była wartość centylowa wskaźnika masy ciała BMI. Centyl BMI dla każdego dziecka był określany na podstawie siatek centylowych referencyjnych dla populacji polskiej opracowanych w 2009 roku przez zespół Instytutu „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie pod przewodnictwem dra Zbigniewa Kułagi w ramach projektu OLAF. Kwalifikacja do grup odbywała się na podstawie wartości centyla BMI wg kryteriów International Obesity Task Force (IOTF), gdzie punktem odcięcia był 85 percentyl BMI [4,5].

Wyróżniono dwie grupy dzieci:

grupa NM (nadmierna masa) – grupa badawcza, kryterium włączenia do tej grupy, poza kryterium wiekowym, było stwierdzenie występowania nadmiernej masy ciała: nadwagi/otyłości pierwotnej - określanej na podstawie siatek centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF: nadwaga: 85 - <95 centyla, otyłość ≥ 95 centyla dla określonej płci i wieku (wg kryteriów IOTF) [4,5]. Dzieci zakwalifikowane do tej grupy zostały wyłączone w badaniach przesiewowych przeprowadzanych w ramach programu „6-10-14 Dla Zdrowia”- tj. zgodnie z działalnością statutową programu. Program ten, funkcjonujący od września 2011 roku, zajmuje się kompleksowo rozpoznawaniem i wielospecjalistycznym leczeniem dzieci z nadmierną masą ciała spośród populacji dzieci w wieku szkolnym na terenie Miasta Gdańska. W programie nacisk położony jest nie tylko na leczenie skutków problemu nadmiernej masy ciała, lecz również na edukację pracowników szkół, a tym samym na profilaktykę występowania tego problemu. W realizację programu zaangażowany jest interdyscyplinarny zespół specjalistów, w tym m.in.: lekarzy, dietetyków, psychologów i specjalistów

aktywności fizycznej. Organizacji pracy związanych z funkcjonowaniem programu podjęło się Uniwersyteckie Centrum Kliniczne i jest ono realizatorem kolejnych edycji programu do chwili obecnej. Program w całości finansowany jest z budżetu Miasta Gdańska.

Do grupy NM zostały zakwalifikowane te dzieci z nadmierną masą ciała spośród wyłonionych w programie „6-10-14 Dla Zdrowia”, u których nie stwierdzono obecności czynnika będącego kryterium wykluczenia.

grupa R – grupa referencyjna dobrana pod względem wieku i płci – dzieci, u których wykluczono występowanie nadwagi i otyłości wg wartości centyla BMI, określanego na podstawie siatek centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF: dzieci z wartościami masy ciała: <85centyla BMI dla określonej płci i wieku (wg kryteriów IOTF).

Dzieci zakwalifikowane do tej grupy były pacjentami oddziałów Pomorskiego Centrum Traumatologii w Gdańsku: Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci GUMed, Szpitalnego Oddziału Ratunkowego oraz Oddziału Ortopedycznego PCT. Dzieci przebywające na tych oddziałach były pacjentami przyjętymi z powodu:

- obecności ciał obcych lub podejrzenia obecności ciał obcych w przewodzie pokarmowym (krew pobierana była przed stosowaniem znieczulenia w przypadku konieczności ewakuacji ciała obcego metodą gastroskopową),
- zmian kostnych (zniekształceń, wyrośli) przed korekcyjnym zabiegiem ortopedycznym po wykluczeniu chorób przewlekłych j.w..

Wiek wszystkich badanych dzieci mieścił się w przedziale od 4 do 18 lat (średnia 11,2 lat; SEM - 0,34; mediana 11,0 lat). Struktura wieku i płci obu grup są podobne.

Grupę badawczą (NM) stanowiło 58 dzieci: 26 dziewczynek i 32 chłopców, natomiast do grupy referencyjnej (R) zakwalifikowano 43 dzieci, z czego: 22 dziewczynki i 21 chłopców. Średnia wieku grupy badanej wynosiła $11,3 \pm 0,58$ lat, grupa referencyjna w odniesieniu do struktury wiekowej była podobna: średnia wieku wynosiła $11,1 \pm 0,46$ lat.

Wszystkie badania były przeprowadzone po uzyskaniu pisemnej zgody rodziców/opiekunów prawnych dzieci oraz pacjentów, którzy ukończyli 16 rok życia. Zostali oni poinformowani o celu i założeniach pracy w formie pisemnej. Badania dzieci zakwalifikowanych do grupy referencyjnej odbywały się wyłącznie przy okazji wykonywania badań kontrolnych/diagnostycznych przy spełnieniu warunków określonych w kryteriach włączenia i wyłączenia. W praktyce - żadnemu pacjentowi zakwalifikowanemu do grupy referencyjnej nie pobierano krwi do badań wyłącznie w celach naukowych - surowicę

pozyskiwano wyłącznie przy okazji pobierania materiału do badań zleczanych w celach diagnostycznych/kontrolnych.

Badanie zostało wykonane zgodnie z Deklaracją Helsińską *World Medical Association*. Na przeprowadzenie badań w ramach powyższego projektu zgodę wydała Niezależna Komisja Bioetyczna do spraw Badań Naukowych przy GUMed - NKBBN 456/2012 decyzja z dnia 12.12.2012 r.

3.2 Metodologia:

U każdego probanta dokonano badania przedmiotowego, analizy składu ciała metodą bioelektrycznej analizy impedancyjnej (BIA) aparatem firmy Tanita oraz pobrano materiał (5ml krwi żyłnej) do przeprowadzenia badań wybranych parametrów biochemicznych surowicy krwi. Krew była przekazana do laboratorium celem wykonania rutynowych badań biochemicznych. Badania rutynowe były wykonane w Centralnym Laboratorium Klinicznym UCK w Gdańsku. Krew była tam odwirowywana w ciągu 30 minut od momentu pobrania (czas wirowania: 10 minut, ilość obrotów: 3 tysiące/min), część surowicy wykorzystywano niezwłocznie do wykonywania rutynowych oznaczeń wybranych parametrów biochemicznych, natomiast pozostałą część w ilości 0,5 ml mrożono i przechowywano w temperaturze -80 °C do czasu wykonywania oznaczeń stężenia chemeryny w Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej, nie dłużej jednak niż przez 6 miesięcy.

a) badanie przedmiotowe:

U każdego dziecka w ramach przeprowadzania badania przedmiotowego dokonywano:

1. badania parametrów antropometrycznych: masy ciała, wzrostu, obwodu talii, obwodu bioder;
 - a) wzrost - mierzony za pomocą wzrostomierza firmy Seca (model 216) z dokładnością do 0,5 cm w standartowych warunkach, przy wyprostowanej postawie, bez obuwia;
 - b) masę ciała- określoną za pomocą wagi elektronicznej firmy Tanita z dokładnością do 0,1 kg w standartowych warunkach, bez obuwia, wyłącznie w bieliźnie osobistej;
 - c) obwód talii- pomiaru dokonano nierozciągliwą taśmą antropometryczną firmy Seca (model 201) z dokładnością do 0,5 cm, w pozycji stojącej, z równomiernie rozłożonym na obu stopach ciężarem ciała, w najmniejszym obwodzie zmierzonym

między dolnym brzegiem klatki piersiowej a górnym brzegiem grzebieni biodrowych, na wysokości wcięcia w taliu,

- d) obwód bioder- pomiaru dokonano za pomocą nierozciągliwej taśmy antropometrycznej firmy Seca (model 201), z dokładnością do 0,5 cm, w pozycji stojącej, z równomiernie rozłożonym na obu stopach ciężarem ciała, w największym obwodzie zmierzonym na wysokości linii międzykrętarzowej, na poziomie najbardziej wystającego punktu pośladków.

2. pomiarów ciśnienia tętniczego krwi - metodą tradycyjną – Korotkova - pomiaru dokonywano sfigmomanometrem Omron M1Plus z odpowiednio dobranym mankietem o szerokości stanowiącej 2/3 długości ramienia, po około 10 minutach odpoczynku, po zapewnieniu warunków ciszy i po wykluczeniu nadmiernego napięcia emocjonalnego, w pozycji siedzącej z odwiedzionym ramieniem ułożonym na poziomie serca, na prawym przedramieniu. By zmniejszyć ryzyko podwyższonej wartości ciśnienia tętniczego wywołanego stresem związanym z wizytą w gabinecie, ciśnienie mierzono na końcu wizyty. Wartości ciśnienia tętniczego podano z dokładnością do 1 milimetra słupa rtęci (mmHg). Pomiaru dokonywano trzykrotnie i odnotowywano średnią wartość ciśnienia tętniczego.

Na podstawie powyższych wartości parametrów antropometrycznych obliczono wartości współczynnika BMI, współczynnika WHR (Waist-to-Hip Ratio); współczynnika WHtR (Waist-to-Height Ratio). Określono wartości centylowe wskaźnika BMI oraz średnich wartości tętniczego ciśnienia skurczowego i rozkurczowego, uwzględniając wiek, płeć i wysokość ciała.

a) BMI:

Na podstawie pomiarów antropometrycznych dla każdego dziecka wyliczono wskaźnik BMI (wagowo-wzrostowy). Wartość jest ilorazem masy ciała wyrażonej w kilogramach i kwadratu wysokości ciała wyrażonego w metrach:

$$BMI = masa\ ciała : wysokość\ ciała^2 [kg/m^2]$$

Na podstawie siatek centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF (wg kryteriów IOTF) określono dla każdego dziecka wartość centylową wskaźnika BMI odpowiednio pod

względem wieku i płci, wykorzystując do tego celu opracowany w ramach projektu OLAF kalkulator, którego autorem jest Anna Manerowska z Politechniki Warszawskiej [157].

Nadmiar masy ciała rozpoznawano wówczas, gdy wartość BMI była równa lub wyższa od 85 centyla dla określonej płci i wieku, co było podstawą kwalifikacji do jednej z obu grup: badanej i referencyjnej, jak opisano powyżej.

b) Wskaźnik WHR i WHtR:

Wskaźniki są ilorazami obwodu talii i obwodu bioder w przypadku WHR a w przypadku WHtR obwodu talii i wysokości ciała:

$$WHR = WC: HC$$

$$WHtR = WC:Ht$$

WC- *waist circumference*-obwód talii; *HC* -*hip circumference* - obwód bioder; *Ht*- *height*, wysokość ciała;

b) bioelektryczna analiza impedancyjna – określanie procentowego udziału masy tkanki tłuszczowej w organizmie:

W przeprowadzonych badaniach wykorzystano wagę z wbudowanym systemem dwuelektrodowym firmy *Tanita* (konfiguracja dwuelektrodowa stopa–stopa). Pomiaru dokonywano podczas badania pediatrycznego, bez ubrań, wyłącznie w białym, osobistej, w pozycji stojącej, z ciężarem równomiernie rozmieszczonym na stopach. Otrzymany wynik uwzględniający procentowy i wagowy skład ciała odnoszono do norm przyjętych dla wieku, płci i wysokości ciała. Pomiarów dokonano z dokładnością do 0,1 kg w ocenie masy ciała, masy mięśniowej i masy tłuszczowej, oraz z dokładnością do 0,1 % w ocenie procentowego składu ciała.

c) badania biochemiczne surowicy krwi:

U każdego probanta z grupy NM w ramach działań programu „6-10-14 Dla Zdrowia” pobrano krew do oznaczenia wartości parametrów laboratoryjnych: glukozy, insuliny, glikowanej hemoglobiny (HbA1c), aktywności enzymów wątrobowych: aminotransferazy alaninowej (ALAT, ALT) oraz asparaginowej (ASPAT, AST), triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL i HDL, TSH (hormonu tyreotropowego) oraz wolnej tyroksyny. Stężenie cholesterolu, HDL-cholesterolu i triacylogliceroli oznaczano metodą enzymatyczną natomiast poziom LDL-cholesterolu wyliczono wg wzoru Friedmana.

Dzieci zgłaszały się na pobranie krwi żyłnej rano, na czczo, po nieobfitej kolacji. Następnie dzieci z grupy NM otrzymały do wypicia 75 g glukozy i dwukrotnie pobrano krew żylną w 60 i 120 minucie, po doustnym obciążeniu glukozą, w celu oznaczenia wartości glukozy i insuliny jw. Stężenie glukozy mierzono metodą enzymatyczną a insuliny metodą RIA (*Radio Immuno Assay*), natomiast odsetek glikowanej hemoglobiny HbA1c badano metodą wysokociśnieniowej chromatografii przepływowej przy użyciu aparatu Variant firmy BIO RAD. Badania te przeprowadzono w CLK UCK.

Powyższe badania w całości były wykonywane i finansowane w zakresie działań programu „6-10-14 Dla Zdrowia”. Pozostałe oznaczenia, opisywane poniżej, wykonywano w ramach przedstawianej pracy.

U pacjentów z grupy referencyjnej wykonano oznaczenia glukozy, insuliny, kreatyniny, aktywności enzymów wątrobowych: aminotransferazy alaninowej (ALAT, ALT) oraz asparaginowej (ASPAT, AST), triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego.

U wszystkich pacjentów obu grup, zgodnie z założeniami przedstawianej pracy, wykonano oznaczenia stężeń białka C-reaktywnego (CRP).

Oznaczenia wszystkich powyższych parametrów zostały wykonane w Centralnym Laboratorium Klinicznym UCK w Gdańsku metodami rutynowymi.

Na podstawie wyników stężenia glukozy i insuliny w surowicy u wszystkich dzieci obliczono współczynnik HOMA-IR (współczynnik insulinooporności):

$$HOMA-IR = \text{glukoza na czczo [mmol/l]} \times \text{insulina na czczo [mU/ml]} : 22,5$$

d) oznaczanie stężenia chemeryny w surowicy:

Stężenie chemeryny w surowicy wszystkich pacjentów oznaczono metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Badania te zostały wykonane w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego przy użyciu komercyjnego testu Human Chemerin ELISA Kit firmy Millipore. Użyta została 96 dołkowa płytka opłaszczona przeciwciałami przeciw ludzkiej chemerynie. Na płytkę naniesiono badaną surowicę oraz kontrolne roztwory standardowe w ilości wymaganej przez producenta. Po odpłukaniu niezwiązanych przeciwciał dodane zostały przeciwciała wiążące inny epitet chemeryny związane z biotyną. Następnie po odpłukaniu niezwiązanych przeciwciał przeprowadzono koniugację biotynylowanych przeciwciał przeciw chemerynie z peroksydazą chrzanową i następnie przeprowadzono barwną reakcję po podaniu substratu 3,3',5,5'-tetrametylobenzydiny w czasie której powstaje produkt absorbujący światło o długości fali

450 nm. Pomiaru absorpcji dokonano przy pomocy spektrofotometru Synergy HT Multi-Mode Microplate Reader produkcji BioTec (USA).

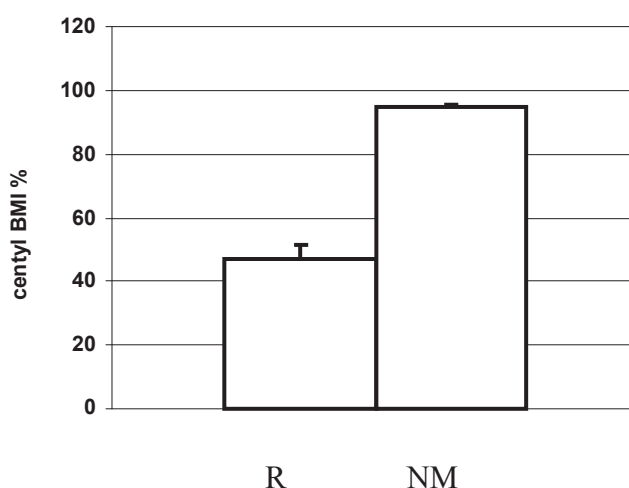
e) Metody statystyczne

Wyniki zostały przedstawione w postaci wartości średnich oraz wartości błędu standardowego średniej (SEM). Istotność statystyczną różnic między badanymi grupami poddawano szacunkowi w oparciu o analizę wariancji a następnie dwukierunkowym testem T. Siłę i kierunek zależności między zmiennymi w zdefiniowanych grupach danych określano przy pomocy obliczeń współczynnika korelacji Pearsona. W celu wyznaczenia głównego predyktora dla stężenia chemeryny we krwi badanych osób wykonano analizę korelacji wielorakiej. Analizy danych dokonano przy pomocy programu Microsoft Excel oraz SigmaStat. Różnice pomiędzy badanymi grupami były uznawane za istotne statystycznie, gdy $p < 0,05$.

V. WYNIKI

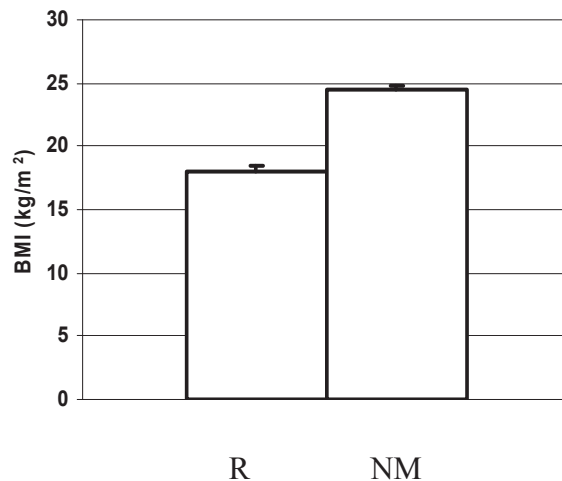
Do badania zakwalifikowano ogółem 101 dzieci: 48 dziewczynek i 53 chłopców, przyporządkowując ich do dwóch grup, gdzie kryterium różnicującym była wartość centylowa wskaźnika masy ciała BMI: do **grupy NM** – badanej, o nadmiernej masie ciała – włączono 59 dzieci, których BMI było wyższe lub równe 85 centylowi - określanemu na podstawie siatek centylowych dla określonej płci i wieku, opracowanych w ramach projektu OLAF (wg kryteriów International Obesity Task Force - IOTF) [4,5], do **grupy R**, referencyjnej, zakwalifikowano 42 dzieci dobranych pod względem wieku i płci, których wartości BMI były poniżej 85 centyla określonego według tych samych kryteriów.

Średnia wartość centylowa BMI w grupie dzieci z nadwagą i otyłością (NM), przedstawione na Ryc. 1, była dwukrotnie wyższa niż u dzieci z prawidłową masą ciała (odpowiednio $95 \pm 0,41$ i $47 \pm 4,2$).



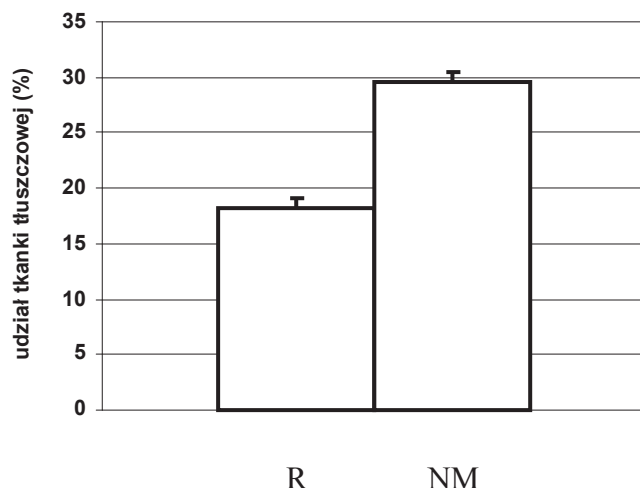
Rycina 1. Porównanie średniej wartości centylowej BMI w grupie referencyjnej (R) i grupie dzieci z nadmierną masą ciała (NM). Wykres przedstawia średnią \pm SEM. $p < 0,01$

Stwierdzono również, iż średnia wartość wskaźnika BMI była istotnie wyższa w grupie badanej ($24,4 \pm 0,4$ vs $18,0 \pm 0,5$ kg/m² w grupie kontrolnej) (Ryc. 2).



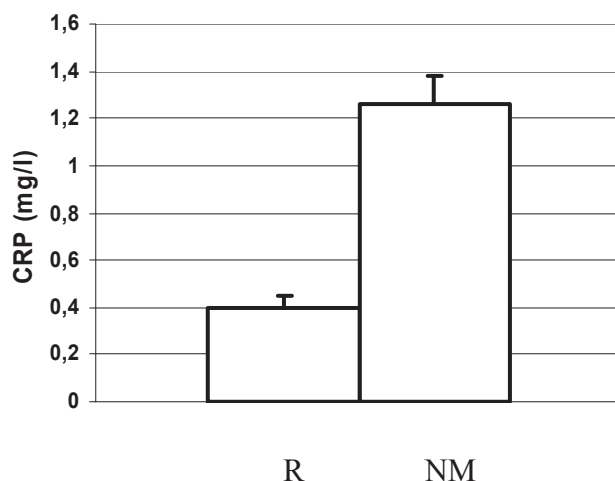
Rycina 2. Porównanie średniej wartości BMI w grupie referencyjnej (R) i grupie dzieci z nadmierną masą ciała (NM). Wykres przedstawia średnią \pm SEM. $p < 0,01$

Otyłość wiąże się ze zwiększoną masą tkanki tłuszczowej. Ocena przy pomocy wskaźnika BMI nie różnicuje w przypadku wyższych jego wartości, czy odpowiedzialna jest za to tkanka tłuszczowa, czy może obecność tkanki mięśniowej przy prawidłowym odsetku masy tłuszczowej. Rozwój nadwagi i otyłości wiąże się z hipertrofią i hiperplazją tkanki tłuszczowej, dlatego bardzo istotnym wydaje się określenie stopnia udziału tkanki tłuszczowej w ogólnej masie ciała, co zostało wykonane przy pomocy impedancji bioelektrycznej (BIA - *Bioelectrical Impedance Analysis*). W badanych grupach średni procentowy udział masy tkanki tłuszczowej znacznie się różnił: w grupie dzieci z nadmierną masą ciała był o ponad 10 punktów procentowych wyższy niż w grupie referencyjnej (odpowiednio $29,6 \pm 0,7$ i $18,3 \pm 0,9$ %).



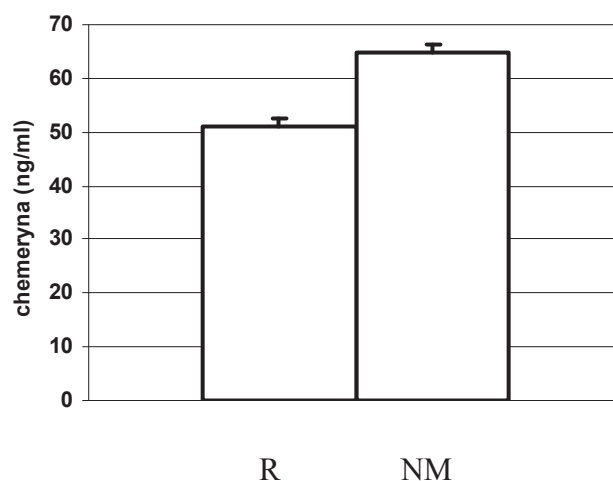
Rycina 3. Porównanie średnich wartości procentowego udziału masy tkanki tłuszczowej w masie ciała mierzonego metodą bioimpedancji (BIA) w grupie referencyjnej (R) i grupie badanej (NM). Wykres przedstawia średnią \pm SEM. $p < 0,01$

Jak wcześniej wspomniano, badania ostatnich lat dowiodły, iż otyłości towarzyszy stan zapalny o niewielkim nasileniu. W przedstawianych badaniach w grupie dzieci o nadmiernej masie ciała średnie wartości stężenia CRP we krwi, będącego wykładnikiem stanu zapalnego, mieściły się co prawda w granicach wartości referencyjnych, jednak, co należy podkreślić, średnie wartości stężenia CRP w grupie badanej były ponad trzykrotnie wyższe w porównaniu do grupy dzieci z prawidłową masą ciała, a różnice te były istotne statystycznie (odpowiednio $1,3 \pm 0,12$ i $0,4 \pm 0,046$ mg/L).



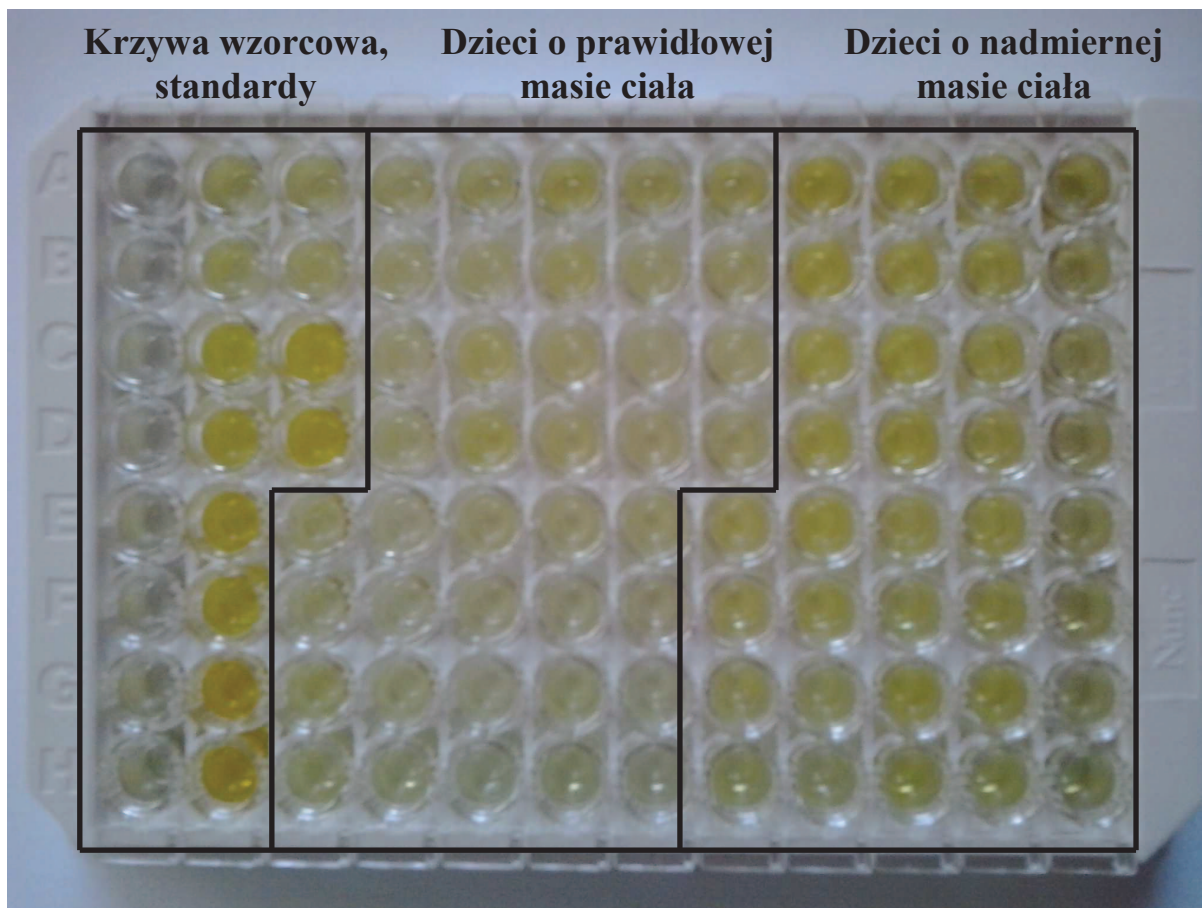
Rycina 4. Porównanie średnich wartości CRP w grupie referencyjnej (R) i grupie dzieci z nadmierną masą ciała (NM). Wykres przedstawia średnią \pm SEM. $p < 0,01$

Głównym celem pracy było porównanie wartości stężenia chemeryny, hormonu produkowanego w głównej mierze przez adipocyty, w surowicach obu grup. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, iż stężenie chemeryny w surowicy dzieci z nadmierną masą ciała jest istotnie wyższe ($64,7 \pm 1,7$ vs $50,8 \pm 1,6$ ng/mL w grupie referencyjnej).



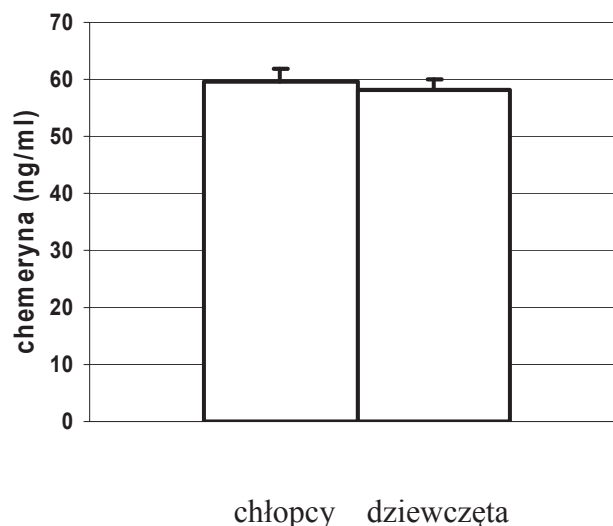
Rycina 5. Porównanie średnich wartości stężenia chemeryny w surowicy w grupie referencyjnej (R) i grupie dzieci z nadmierną masą ciała (NM). Wykres przedstawia średnią \pm SEM. $p < 0,01$

Różnice te były widoczne już po przeprowadzeniu badań kolorymetrycznych, co można zaobserwować na załączonej fotografii płytki do mikrotestów po wykonaniu analizy metodą ELISA z wykorzystaniem reakcji katalizowanej przez peroksydazę chrzanową z wytworzeniem barwnego produktu absorbującego światło o długości fali 405 nm (Ryc. 6).



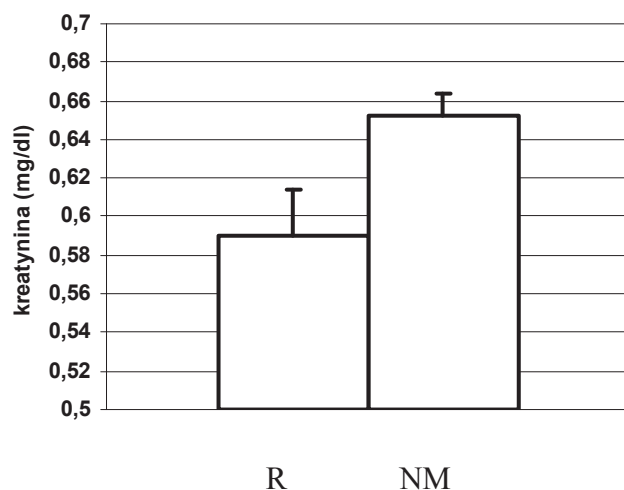
Rycina 6. Zdjęcie płytki mikrotestowej Human Chemerin ELISA Kit po przeprowadzonej reakcji barwnej. Do badania użyto surowic dzieci z grupy referencyjnej oraz badanej.

W przedstawianej pracy sprawdzono, czy stężenie chemeryny różni się w zależności od płci i wieku. Nie stwierdzono występowania istotnych różnic między stężeniem chemeryny u dziewcząt i chłopców (odpowiednio $58,1 \pm 1,7$ i $59,5 \pm 2,5$ ng/mL) (Ryc 7). Przeanalizowano również pod względem zależności od płci stężenia chemeryny w obu badanych grupach niezależnie, nie stwierdzając istotnej różnicy stężenia chemeryny między płciami zarówno w grupie dzieci z prawidłową masą ciała ($52,8 \pm 2,3$ u dziewcząt vs $47,5 \pm 2,4$ ng/mL u chłopców) jak również w grupie dzieci z nadwagą i otyłością ($62,0 \pm 1,9$ u dziewcząt vs $66,9 \pm 2,7$ ng/mL u chłopców).

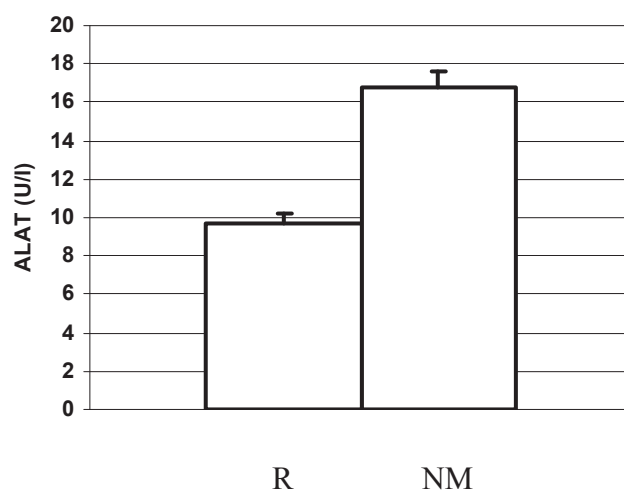


Rycina 7. Porównanie średniego stężenia chemeryny w surowicy w zależności od płci. Wykres przedstawia średnią \pm SEM.

W kolejnych etapach badań porównywano również inne parametry antropometryczne i biochemiczne badanych grup. Zaobserwowano, iż największe różnice dotyczące parametrów biochemicznych między badanymi grupami występują w przypadkach stężeń kreatyniny, będącej parametrem funkcji nerek, oraz aktywności ALAT (aminotransferazy alaninowej), będącej wykładnikiem uszkodzenia hepatocytów. Na poniższych wykresach przedstawiono różnice pomiędzy średnimi wartościami parametrów: zarówno w przypadku stężenia kreatyniny (Ryc. 8), jak i aktywności ALAT (Ryc. 9). Chociaż wszystkie średnie wartości zawierają się w zakresie wartości referencyjnych, to jednak są istotnie wyższe w surowicy dzieci z nadmierną masą ciała. W przypadku kreatyniny różnica jest nieznaczna, niemniej jednak istotna statystycznie (w grupie badanej $0,65 \pm 0,011$ mg/dL, w grupie referencyjnej $0,59 \pm 0,024$ mg/dL, $p < 0,05$). Natomiast stężenia aktywności ALAT było około dwukrotnie wyższe w grupie NM ($16,8 \pm 0,84$ vs $9,6 \pm 0,55$ U/L, $p < 0,01$).



Rycina 8. Porównanie średnich wartości stężenia kreatyniny w surowicy w grupie dzieci o prawidłowej masie ciała (R) i dzieci z nadmierną masą ciała (NM). Wykres przedstawia średnią \pm SEM. $p < 0,05$



Rycina 9. Porównanie średnich wartości aktywności aminotransferazy alaninowej w surowicy w grupie referencyjnej (R) i badanej (NM). Wykres przedstawia średnią \pm SEM. $p < 0,01$.

Pozostałe badane parametry u dzieci z obu grup przedstawiono w tabeli 2. Wyniki te wskazują, że dzieci o nadmiernej masie ciała charakteryzują się statystycznie wyższymi wartościami centylowymi ciśnienia tętniczego, zarówno skurczowego jak i rozkurczowego. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w zakresie stężenia glukozy, insuliny i współczynnika insulinooporności (HOMA-IR). Nie stwierdzono także istotnych różnic w zakresie stężenia triacylogliceroli i cholesterolu całkowitego w surowicy między grupami dzieci z prawidłową i nadmierną masą ciała. Dane przedstawione w tabeli 2 potwierdzają, że obie grupy zostały prawidłowo dobrane pod względem wieku i płci.

Tabela 2. Porównanie średnich wartości wybranych parametrów w obu badanych grupach.

parametr	Grupa R (średnia ± SEM)	Grupa NM (średnia ± SEM)
Wiek (lata)	11 ± 0,58	11 ± 0,42
Płeć (k/m)	22/21	26/32
Waga (kg)	40 ± 2,7	57 ± 2,3*
Glukoza (mg/dl)	90 ± 2,4	92 ± 0,98
Insulina (uU/ml)	9,6 ± 1,1	11,2 ± 1,0
HOMA-IR	2,1 ± 0,25	2,6 ± 0,25
Cholesterol całkowity (mg/dl)	162 ± 4,6	169 ± 3,3
Triacyloglicerole (mg/dl)	76 ± 4,3	89 ± 6,0
Aspat (U/l)	22 ± 1,1	21 ± 0,27
Skurczowe ciśnienie tętnicze krwi ^a – wartości centylowe	28 ± 5,2	68 ± 2,0*
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze krwi ⁿ – wartości centylowe	64 ± 5,0	81 ± 2,9*

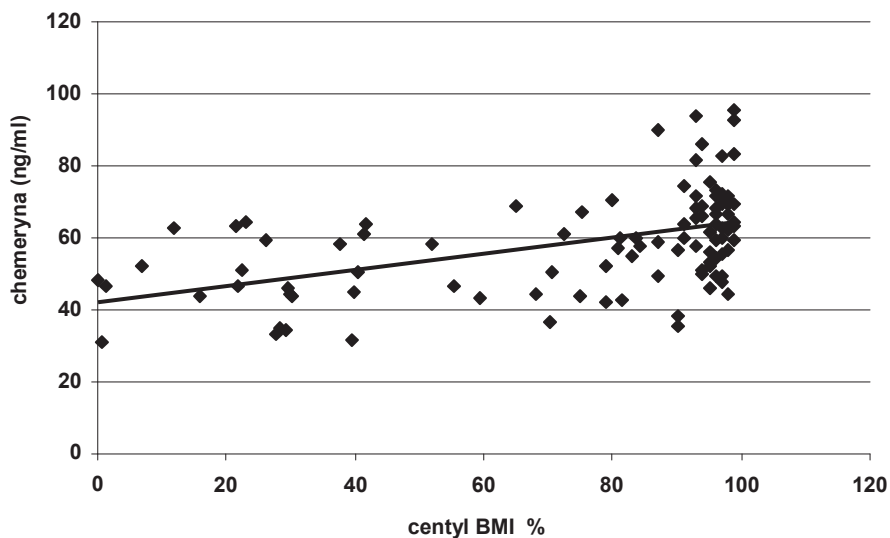
^a – średnie wartości skurczowego ciśnienia tętniczego, przedstawione jako wartości percentylowe w odniesieniu do płci i wieku wg siatek centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF;

ⁿ - średnie wartości rozkurczowego ciśnienia tętniczego, przedstawione jako wartości percentylowe w odniesieniu do płci i wieku wg siatek centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF;

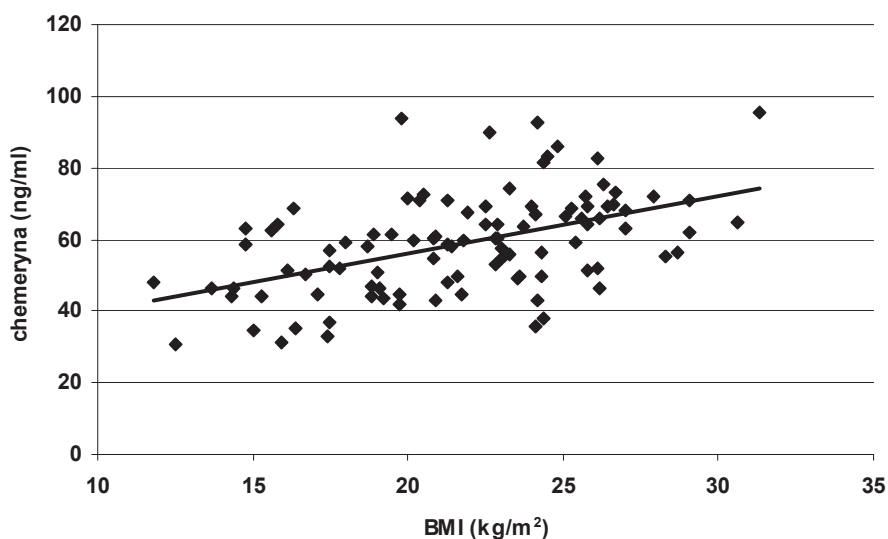
* $p < 0,01$

$p < 0,05$

W kolejnych etapach pracy podjęto próbę ustalenia, czy stężenie chemeryny zmienia się w zależności od parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych. Aby sprawdzić siłę zależności pomiędzy wskaźnikami masy ciała (BMI oraz wartości centylowe wskaźnika BMI) a wartościami badanego hormonu zbadano korelację tych parametrów u dzieci w obrębie obu grup. Wykazano obecność dość silnej dodatniej korelacji stężenia chemeryny zarówno z wartościami wskaźnika BMI, jak również z wartościami centylowymi wskaźnika BMI (Ryc. 10 i 11).

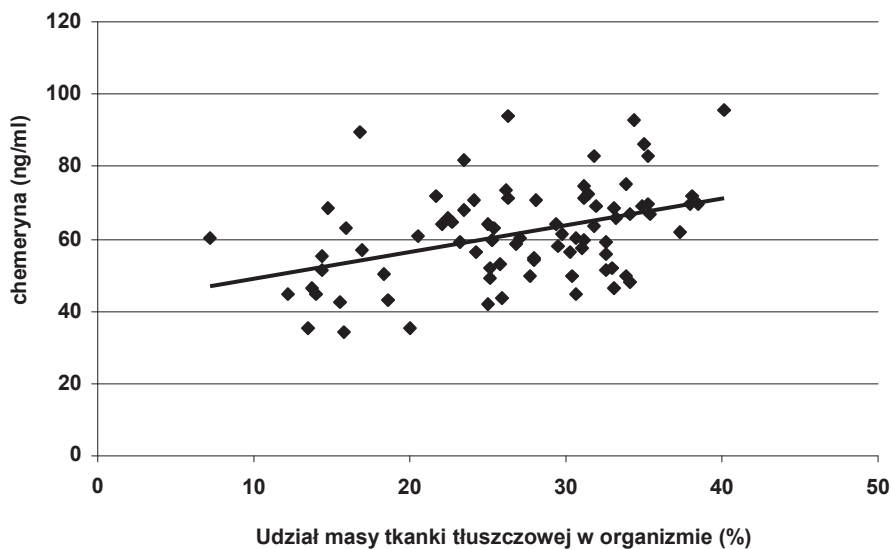


Rycina 10. Korelacja między wartościami centylowymi wskaźnika BMI a wartościami stężeń chemeryny. Współczynnik korelacji Pearsona $r = 0,48$ $p < 0,01$



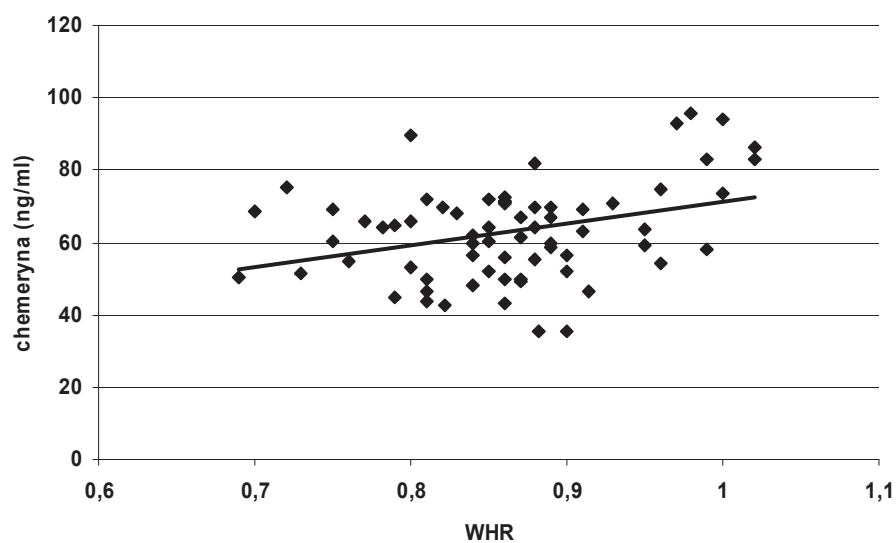
Rycina 11. Korelacja między wartościami wskaźnika BMI a wartościami stężeń chemeryny. Współczynnik korelacji Pearsona $r = 0,49$ $p < 0,01$

Zbadano również czy, wobec wykazania korelacji między stężeniem chemeryny a wskaźnikami masy ciała, taka statystyczna zależność istnieje również między stężeniami chemeryny a procentową zawartością masy tkanki tłuszczowej w organizmie. Jak przedstawiono na poniższym wykresie (Ryc.12) u dzieci stwierdzono korelację pomiędzy stężeniem chemeryny a odsetkiem masy tłuszczowej.



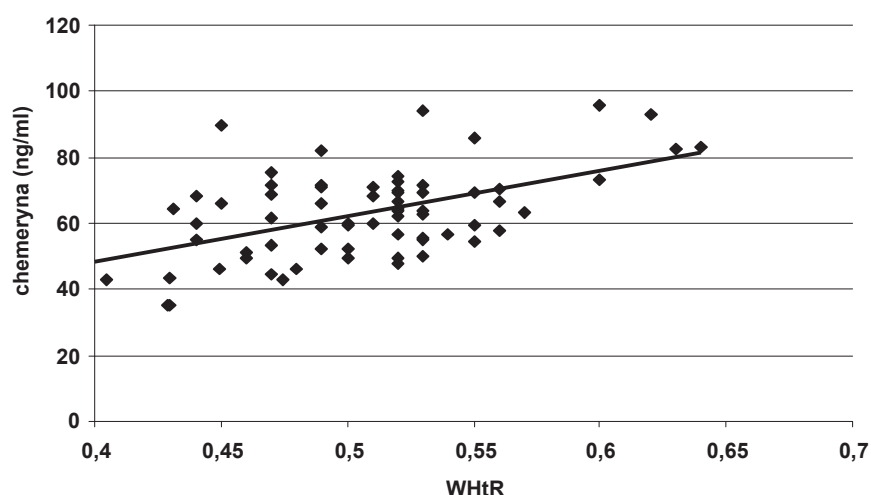
Rycina 12. Korelacja między wartościami procentowymi udziału masy tkanki tłuszczowej w organizmie a wartościami stężeń chemeryny $r = 0,40$ $p < 0,01$

Podobną korelację, choć o nieco mniejszej sile, stwierdzono pomiędzy stężeniem chemeryny a wartościami wskaźnika talia-biodra - WHR (Ryc.13).



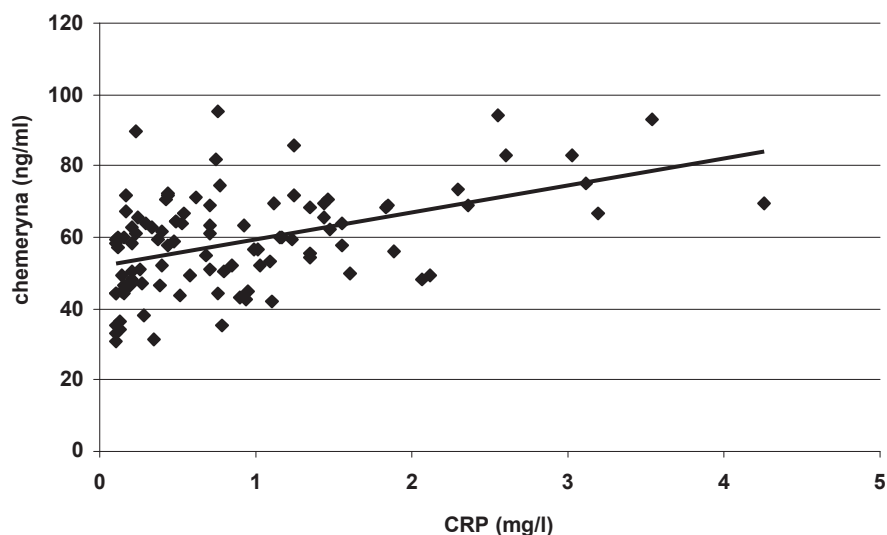
Rycina 13. Korelacja między wartościami wskaźnika talia-biodra (WHR) a wartościami stężeń chemeryny $r = 0,35$ $p < 0,01$

Wskaźnik talia-wzrost (WHtR), jak przedstawia poniższy wykres (Ryc.14), jest kolejnym parametrem antropometrycznym, gdzie zaobserwowano statystyczną zależność. Siła tej korelacji jest wyższa od przedstawianej powyżej zależności stężenia chemeryny i wskaźnika talia-biodra.

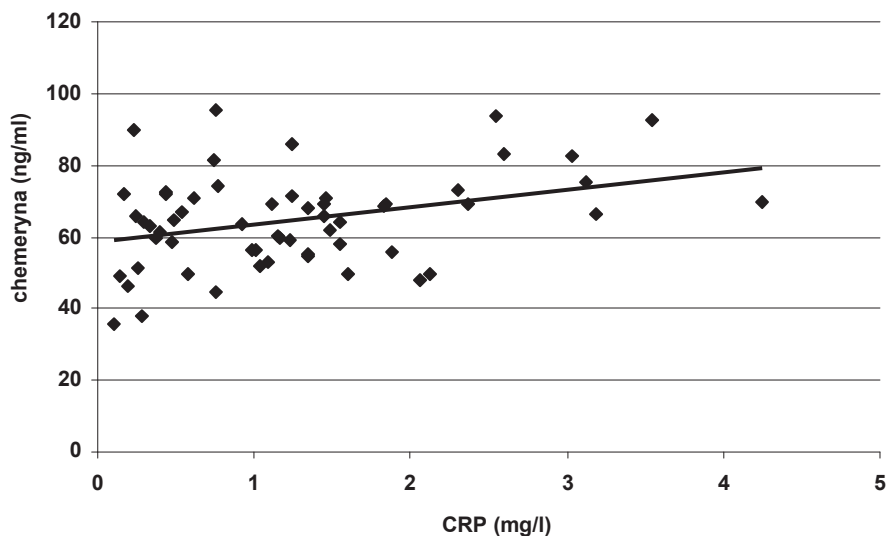


Rycina 14. Korelacja między wartościami wskaźnika talia-wzrost (WHtR) a wartościami stężeń chemeryny $r = 0,53$ $p < 0,01$

Jak wykazano powyżej, średnie wartości CRP są ponad trzykrotnie wyższe w surowicy dzieci z nadmierną masą ciała. Jednym z najistotniejszych zagadnień przedstawianej pracy było sprawdzenie, czy istnieje zależność między stężeniem chemeryny a stężeniem CRP. Jak przedstawiają dwa poniższe wykresy (Ryc.15 i 16) istnieje dodatnia korelacja pomiędzy omawianymi parametrami zarówno w całej badanej populacji jak i w obrębie dzieci z nadmierną masą ciała.

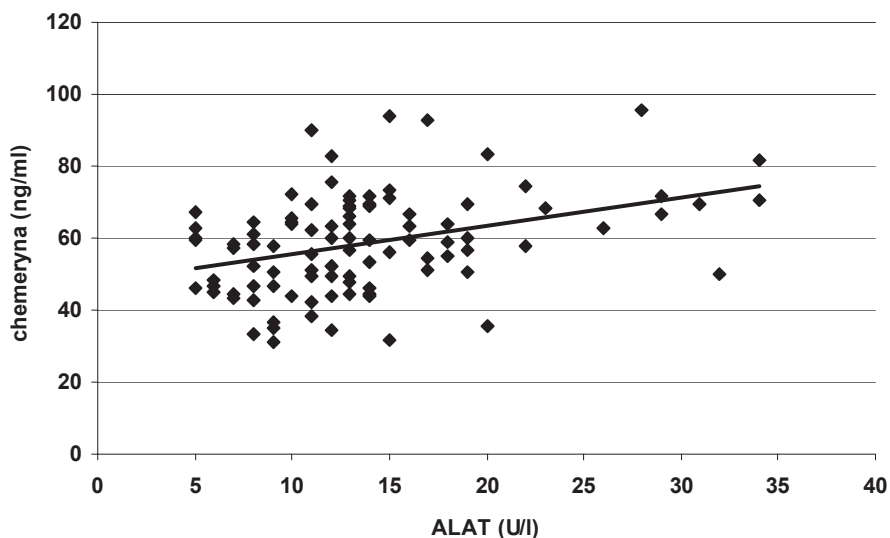


Rycina 15. Korelacja między wartościami białka C-reaktywnego (CRP) a wartościami stężeń chemeryny u dzieci obu grup: z prawidłową oraz nadmierną masą ciała. Współczynnik korelacji Pearsona $r = 0,46$ $p < 0,01$



Rycina 16. Korelacja między wartościami białka C-reaktywnego (CRP) a wartościami stężeń chemeryny u dzieci grupy z nadmierną masą ciała. Współczynnik korelacji Pearsona $r = 0,35$ $p < 0,01$

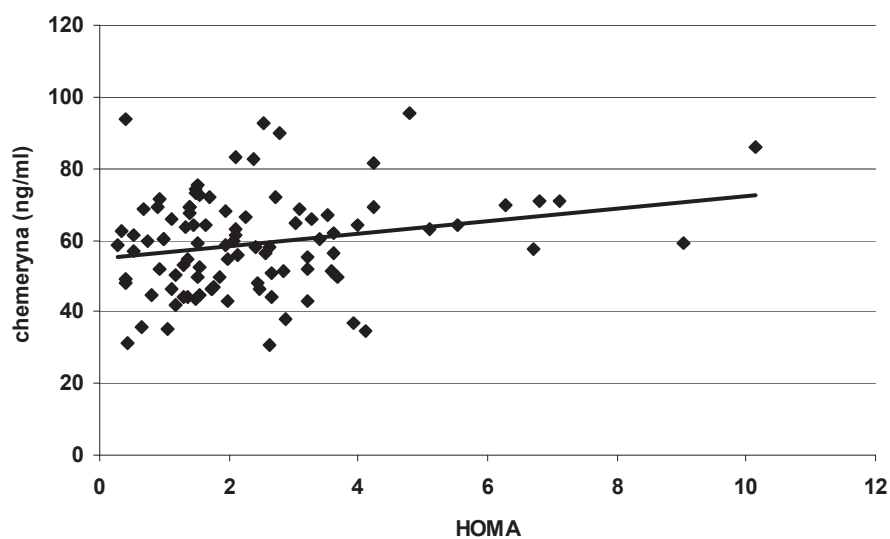
Spośród badanych parametrów oznaczanych rutynowo w surowicy krwi drugim z kolei najwyższym współczynnikiem korelacji charakteryzowała się statystyczna zależność między stężeniem chemeryny a aktywnością aminotransferazy alaninowej w surowicy (Ryc. 17).



Rycina 17. Korelacja między wartościami aktywności aminotransferazy alaninowej a wartościami stężeń chemeryny u dzieci obu grup: z prawidłową oraz nadmierną masą ciała. Współczynnik korelacji Pearsona $r = 0,37$ $p < 0,01$

Średnie stężenia glukozy, insuliny, jak również lipidów: triacylogliceroli i cholesterolu całkowitego w surowicy nie wykazywały istotnych zależności ze stężeniem chemeryny. Na poniższym wykresie przedstawiono niewielką, choć istotną statystycznie ($p <$

0,05) dodatnią korelację między wartościami wskaźnika insulinooporności (HOMA-IR) a stężeniem chemeryny (Ryc.18).



Rycina 18. Korelacja między wartościami współczynnika insulinooporności (HOMA-IR) a wartościami stężeń chemeryny u dzieci obu grup: z prawidłową oraz nadmierną masą ciała. $r = 0,23$ $p < 0,05$

W poniższej tabeli zebrano dane dotyczące wartości współczynnika korelacji stężeń chemeryny wobec badanych parametrów; w grupie badanej (NM) oraz w całej badanej populacji (NM + R) (Tab.3).

Tabela 3. Wskaźniki korelacji stężeń chemeryny wobec badanych parametrów w obrębie całej grupy dzieci oraz wyłącznie dzieci z nadmierną masą ciała.

parametr	Grupa NM	Grupa NM i R łącznie
CRP (mg/mL)	0,35*	0,46*
BMI	0,15	0,49*
Centyl BMI (%)	0,17	0,48*
Masa ciała (kg)	-0,02	0,26*
Wiek (lata)	-0,10	0,02
Glukoza (mg/dL)	0,19	-0,01
Insulina (uU/mL)	0,19	0,23 [#]
HOMA-IR	0,20	0,23 [#]
Glikowana hemoglobina A1c	0,13	-
Cholesterol całkowity (mg/dL)	0,11	0,18
Cholesterol LDL (mg/dL)	0,03	-
Cholesterol HDL (mg/dL)	-0,05	-
Triacyloglicerole (mg/dL)	0,09	0,19
Kreatynina (mg/dL)	-0,14	0,14
ALAT (U/L)	0,21	0,37*
ASPAT (U/L)	0,16	-0,04
SBP ^a – wartości centylowe	-0,03	0,27 [#]
DBP ⁿ – wartości centylowe	-0,07	0,14
Procentowy udział masy tłuszczowej w organizmie (%)	0,20	0,40*
Talia (cm)	0,29 [#]	0,39*
Biodra (cm)	0,03	0,14
WHR	0,36*	0,34*
WHtR	0,43*	0,53*

^a SBP- wartości skurczowego ciśnienia tętniczego, przedstawione jako wartości percentylowe w odniesieniu do płci i wieku wg siatek centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF;

ⁿ DBP - wartości rozkurczowego ciśnienia tętniczego, przedstawione jako wartości percentylowe w odniesieniu do płci i wieku wg siatek centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF;

* p < 0,01

p < 0,05

Analiza regresji liniowej wykazała, że stężenie chemeryny we krwi pozytywnie koreluje ze stężeniem CRP, wartościami BMI, wartościami centylowymi BMI, odsetkiem masy tłuszczu w organizmie, współczynnikiem WHR oraz WHtR, masą ciała oraz aktywnością aminotransferazy alaninowej. Ponadto słaba, ale istotna korelacja występuje między stężeniem chemeryny a stężeniem insuliny, wskaźnikiem insulinooporności, obwodem talii oraz średnimi wartościami ciśnienia skurczowego krwi. W przedstawianej pracy nie znaleziono istotnych korelacji stężenia chemeryny z wiekiem, płcią, stężeniem glukozy, odsetkiem glikowanej hemoglobiny, stężeniem cholesterolu całkowitego oraz jego frakcji HDL i LDL, stężeniem triacylogliceroli, wartościami centylowymi ciśnienia rozkurczowego krwi, stężeniem kreatyniny oraz aktywnością aminotransferazy asparaginianowej.

Aby sprawdzić, który z parametrów jest najlepszym prognostykiem stężenia chemeryny we krwi wykonano analizę regresji wielorakiej pomiędzy stężeniem chemeryny (zmienna zależna) a parametrami, które najsilniej korelują ze stężeniem tego białka we krwi na podstawie regresji liniowej (zmiennie niezależne): wartościami centylowymi BMI, wartościami bezwzględными BMI, stężeniem CRP, procentowymi wartościami udziału masy tłuszczu w organizmie. Wyniki tej analizy wykazały, iż najsilniejszym prognostykiem dla stężenia chemeryny we krwi badanych dzieci jest stężenie CRP.

Ponadto zbadano wzajemne zależności pomiędzy parametrami które pozytywnie korelują z chemeryną. Podsumowanie tych analiz przedstawiono w tabeli nr 3.

Tabela 4. Wyniki analizy regresji liniowej pomiędzy badanymi parametrami, które w badanej populacji najsilniej korelują ze stężeniem chemeryny.

	HOMA	ALAT	SBP-pc ^a	Tłuszcz %	CRP	BMI%	BMI	CHEM
CHEM	0,23[#]	0,37*	0,27	0,40*	0,46*	0,48*	0,49*	1
BMI	0,36*	0,41*	0,60	0,52*	0,44*	0,80*	1	
BMI%	0,18	0,51*	0,49	0,59*	0,46*	1		
CRP	0,14	0,32*	0,09	0,50*	1			
Tłuszcz %	0,23[#]	0,29*	0,40	1				
SBP-pc^a	0,34*	0,09	1					
ALAT	0,34*	1						
HOMA	1							

^a SBP-pc- wartości skurczowego ciśnienia tętniczego krwi, przedstawione jako wartości percentylowe w odniesieniu do płci i wieku wg siatek centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF; * p < 0,01; # p < 0,05.

VI. PODSUMOWANIE WYNIKÓW

1. Stężenia chemeryny w grupie dzieci z nadmierną masą ciała były istotnie wyższe w porównaniu z grupą referencyjną (określanej na podstawie wartości centylowych wskaźnika BMI) ($p < 0,01$).

2. Stężenie chemeryny wykazuje istotną dodatnią korelację z wartością centylową BMI ($r = 0,48$; $p < 0,01$), wartością bezwzględną BMI ($r = 0,49$; $p < 0,01$) a także z odsetkiem masy tłuszczowej w organizmie ($r = 0,40$; $p < 0,01$). Chemeryna wykazuje pozytywną korelację ze wskaźnikiem talia-biodra (WHR) ($r = 0,35$; $p < 0,01$) oraz talia-wzrost (WHtR) ($r = 0,53$; $p < 0,01$).

3. W grupie dzieci z nadmierną masą ciała średnie wartości stężenia CRP, mimo iż mieściły się w zakresie wartości referencyjnych, były trzykrotnie wyższe w porównaniu z grupą dzieci o prawidłowej masie ciała, różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,01$). Stwierdzono występowanie istotnej dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem chemeryny a CRP w surowicy ($r = 0,46$; $p < 0,01$). Wyniki analizy regresji wielorakiej wykazały, iż CRP jest najsilniejszym predyktorem stężenia chemeryny we krwi badanych dzieci spośród analizowanych parametrów.

4. Nie stwierdzono różnic w zakresie stężenia chemeryny w zależności od wieku i płci.

5. Aktywność aminotransferazy alaninowej była wyższa w surowicy dzieci z nadmierną masą ciała w porównaniu do dzieci z grupy referencyjnej ($p < 0,01$) i stwierdzono istotną korelację między stężeniem chemeryny a aktywnością ALAT ($r = 0,37$; $p < 0,01$).

6. Dzieci z nadwagą i otyłością charakteryzowały się wyższymi wartościami centylowymi ciśnienia tętniczego, zarówno skurczowego, jak i rozkurczowego w porównaniu do dzieci z prawidłową masą ciała ($p < 0,01$). Obserwowano słabą ale istotną dodatnią zależność między wartością centylową skurczowego ciśnienia tętniczego u dzieci w badanej grupie a stężeniem chemeryny ($r = 0,27$; $p < 0,05$).

7. Stężenie chemeryny wykazuje słabą lecz istotną statystycznie korelację z wartością współczynnika insulinooporności (HOMA-IR) ($r = 0,23$; $p < 0,05$).

8. Nie wykazano istotnych różnic między stężeniem glukozy oraz insuliny we krwi w obrębie obu badanych grup, nie obserwowano statystycznej zależności pomiędzy tymi parametrami a chemeryną.

9. Nie stwierdzono występowania istotnych zależności między stężeniem chemeryny a stężeniem cholesterolu całkowitego i jego frakcji oraz triacylogliceroli w surowicy. Nie

wykazano również korelacji pomiędzy stężeniem chemeryny a aktywnością AspAT. W grupie dzieci z nadmierną masą ciała nie obserwowano związku między odsetkiem glikowanej hemoglobiny a stężeniem chemeryny.

10. Choć stężenie kreatyniny różniło się w sposób statystycznie istotny między obiema badanymi grupami dzieci (były wyższe w obrębie grupy dzieci z nadmierną masą ciała, $p < 0,05$), nie stwierdzono jednak istotnej korelacji między stężeniem krążącej chemeryny a kreatyniny.

VII. DYSKUSJA

Obserwowany w ostatnich 30 latach alarmujący wzrost częstości występowania nadmiernej masy ciała oraz chorób z nią powiązanych wśród dorosłych, jak również wśród dzieci [22], rzucił wyzwanie nowoczesnej medycynie i wyznaczył nowe cele w poszukiwaniu przyczyn oraz możliwości zapobiegania otyłości i leczenia schorzeń z nią związanych. Na patogenezę nadwagi i otyłości składają się regulowane wieloczynnikowo, skomplikowane zależności wielu mechanizmów i procesów na różnych poziomach: organów, tkanek, komórek, subkomórkowych szlaków sygnałowych i czynników genetycznych. Dużo uwagi w ostatnich latach poświęcono nie tylko obserwacji stosunku podaży energii do sposobu i efektywności jej wydatkowania przez organizm, ale przede wszystkim udziałowi substancji biologicznie czynnych w procesach zawiadujących metabolizmem. Szczególny nacisk kładzie się na odkrytą niedawno endokrynną rolę tkanki tłuszczowej, która wydaje się być swoistym węzłem łączącym i modulującym pracę wielu innych tkanek i organów w aspekcie metabolicznym [45,158]. Spośród wielu mediatorów wydzielanych przez tkankę tłuszczową chemeryna wzbudza wiele kontrowersji. Jest ona niedawno odkrytym peptydem o aktywności biologicznej a wykazanie jej ekspresji w znacznej ilości w tkance tłuszczowej pozwoliło ją zaliczyć do grupy adipokin. Pierwsze prace dotyczące chemeryny wskazały na jej udział w procesach immunologicznych, a konkretnie na jej rolę chemoatraktanta komórek układu immunologicznego: makrofagów, komórek NK i komórek dendrytycznych [56]. Obecnie wiadomo, że głównym źródłem chemeryny są dojrzałe adipocyty a zwiększoną ekspresję mRNA chemeryny obserwuje się w procesie różnicowania hodowlanej linii adipocytów *in vitro* [76,80] oraz ludzkich pre-adipocytów *ex vivo* [81]. Potwierdzony udział w procesie adipogenezy może wskazywać na chemerynę jako na jeden z kluczowych modulatorów rozwoju otyłości.

U dorosłych związek chemeryny z otyłością został potwierdzony licznymi badaniami, wykazującymi znacząco wyższe stężenia chemeryny w surowicy oraz wyższą ekspresję chemeryny w tkance tłuszczowej pochodzącej od otyłych osobników w porównaniu z osobami o prawidłowej masie ciała [76,81,97,120,121]. Istnieją jednak pojedyncze doniesienia, w których nie zaobserwowano żadnych statystycznych zależności pomiędzy stężeniem chemeryny a BMI [159]. Przyczyną tego mogła być kwalifikacja szczególnej grupy pacjentów do badań, mianowicie pacjentów chorujących na reumatoidalne zapalenie stawów, u których włączono leczenie biologiczne przeciwciałami przeciw TNF. Trzeba wziąć

pod uwagę, iż choroba zapalna może być czynnikiem zakłócającym obserwację, ponieważ chemeryna jest jednym z mediatorów procesu zapalnego.

Wyższe stężenia krążącej chemeryny były obserwowane u dorosłych z insulinoopornością w porównaniu do zdrowych dorosłych [60,81,140]. Ponadto opisywano występowanie podwyższonego stężenia chemeryny u osób z zespołem metabolicznym [82,84]. Sugerowano, iż chemeryna może być potencjalnym niezależnym markerem występowania zespołu metabolicznego u dorosłych. Praca miała jednak charakter pilotażowy i jak do tej pory w dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono kontynuacji tych badań [84]. Jakkolwiek bogactwo prac doświadczalnych z całego świata, dotyczące populacji dorosłych, wskazuje na powiązanie podwyższonego stężenia chemeryny w otyłości z zaburzeniami metabolicznymi charakterystycznymi dla zespołu metabolicznego, tj. stężenia glukozy, wskaźnika insulinooporności, triacylogliceroli, podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego krwi [84,134,158]. Istnieją jednak doniesienia, w których nie wykazano związku stężenia tej adipokiny z wyżej wymienionymi parametrami [97,160], co ciągle czyni dyskusję bardzo żywą i aktualną. Z pewnością wyciągnięcie jednoznacznych wniosków będzie wymagało przeprowadzenia starannie zaplanowanych poprawnych metodologicznie badań wielośrodkowych obejmujących duże populacje.

Nie została również dotychczas sprecyzowana rola, jaką dokładnie pełnić miałyby w opisanych powyżej zjawiskach chemeryna. Pozostaje niejasnym, czy jest raczej czynnikiem patogennym, czy potencjalnie prewencyjnym w rozwoju powikłań związanych z otyłością. Ponieważ w otyłości u dorosłych obserwuje się wyższe stężenia krążącej chemeryny, przypuszcza się, że może mieć ona związek z utrzymywaniem się przewlekłego stanu zapalnego o niskim natężeniu, obecnego w otyłości. Istnieją również doniesienia wykazujące przeciwzapalne właściwości chemeryny i choć początkowo wzbudzały one wiele kontrowersji, kolejne badania potwierdzają, iż chemeryna obok wykazywania ewidentnych właściwości prozapalnych jest również zaangażowana w procesy ograniczające rozwój stanu zapalnego w pewnych warunkach [58,97,111,113,115,116,118]. Szczegółowe mechanizmy leżące u podstawy tych obserwacji wymagają wyjaśnienia.

Jedna z kluczowych kwestii ciągle pozostaje nierozstrzygnięta, mianowicie, czy wzrost stężenia krążącej chemeryny jest przede wszystkim wynikiem samej otyłości jako wyraz wzrostu objętości tkanki tłuszczowej i liczby adipocytów [76,120,154], czy też insulinooporności [120,140,152], hiperglikemii [142] czy może jej obecność jest stymulowana głównie przez toczący się proces zapalny towarzyszący otyłości [97].

Wyniki badań dotyczących chemeryny prawie w całości dotyczą prac przeprowadzonych u dorosłych. Jak już wspomniano, niewiele jest prac wśród populacji wieku rozwojowego. W literaturze ogólnosiwiatowej pojawiła się jak dotąd tylko jedna praca w całości poświęcona chemerynie dotycząca dzieci. Wspomniana praca została opublikowana już po rozpoczęciu badań przedstawianych w niniejszej dysertacji. Grupa pod kierunkiem Kathrin Landgraf zbadała 174 dzieci (w tym 105 z nadmierną masą ciała), poszukując powiązań pomiędzy stężeniem chemeryny a masą ciała, wykładnikami stanu zapalnego oraz dodatkowo markerami aktywacji śródbłonna- ICAM-1 i E-selektyną, co mogłoby wskazywać na pewną rolę tej adipokiny w patogenezie wczesnej aterogenezy u otyłych dzieci [87]. Prócz opisywanej pracy, w całości poświęconej chemerynie, w ostatnim czasie pojawiły się jeszcze dwie publikacje dotyczące powiązań otyłości ze stanem zapalnym, potencjalnymi niekorzystnymi następstwami zdrowotnymi i udziałem chemeryny jako jednego z wielu czynników w procesach związanych z patogenezą stanu zapalnego u dzieci [88,156]. Grupa badaczy holenderskich pod przewodnictwem H.S. Schipperera zbadała 60 dzieci z nadwagą i otyłością oraz 30 nieotyłych dzieci, wykazując zwiększoną liczbę monocytów CD14++ i ich zaktywowanych subpopulacji u dzieci otyłych, co może mieć znaczenie w późniejszym rozwoju zmian miażdżycowych [88]. Grupa ta zajmowała się także badaniem obecności wielu innych czynników związanych ze stanem zapalnym, w tym m.in. adipokin w surowicy u otyłych i nieotyłych dzieci, w celu weryfikacji hipotezy o występowaniu stanu zapalnego o niskim natężeniu również u dzieci i jego potencjalnego związku z występowaniem zaburzeń metabolicznych i powikłań naczyniowych. Autorzy obserwowali podwyższone stężenie nowo poznanych mediatorów stanu zapalnego (chemeryny, tkankowego inhibitora metaloproteiny 1, EGF oraz receptora TNF 2) u badanych dzieci z otyłością, co według nich ma potwierdzać, że mechanizmy zapalne, które mogą łączyć otyłość z jej metabolicznymi i naczyniowymi powikłaniami, są obecne już w wieku rozwojowym [88]. Doniesienie dotyczące stężenia krążącej chemeryny u dzieci z cukrzycą typu 1 było również jednym z elementów badań dotyczących poziomu adipokin jako całej niejednorodnej grupy związków u pacjentów poniżej 18 roku życia z tym schorzeniem, praca ta również była autorstwa holenderskich badaczy pod kierunkiem Schipperera oraz Verrijn Stuart. Autorzy na podstawie uzyskanych wyników sugerują, iż tkanka tłuszczowa u dzieci z cukrzycą typu 1 jest powiązana z występowaniem stanu zapalnego niskiego stopnia u tych dzieci, podobnie jak u dorosłych [156].

Celem przedstawianej pracy była analiza stężenia chemeryny we krwi w grupie dzieci otyłych i o prawidłowej masie ciała a także sprawdzenie, czy można zaobserwować

jakiegokolwiek statystyczne zależności pomiędzy stężeniem chemeryny a parametrami antropometrycznymi oraz wybranymi parametrami biochemicznymi oznaczanymi w surowicy krwi.

Przedstawione wyniki badań potwierdzają, że u dzieci z nadmierną masą ciała stężenie chemeryny we krwi jest istotnie wyższe niż w grupie referencyjnej. W badaniach Landgraf i wsp. wykazano podobne różnice, jednak średnie wartości chemeryny u dzieci nieotyłych i z nadmierną masą ciała różniły się od prezentowanych w niniejszym opracowaniu (były około dwukrotnie wyższe zarówno w jednej jak i drugiej grupie), co można tłumaczyć odmienną metodologią badań (zastosowanie komercyjnego testu ELISA innego producenta niż użyty podczas prowadzenia niniejszych badań) [87]. W pracy przedstawionej przez Schipera i wsp. stężenia chemeryny u dzieci z nadwagą i otyłością były istotnie wyższe w porównaniu do dzieci nieotyłych, jednak tutaj również przedstawione wyniki znacznie się różniły od przedstawianych w niniejszej dysertacji (były znacznie wyższe), prawdopodobnie również z powodu odmiennej metodologii badań i wykorzystania MIA (*Multiplex Immunoassay for human Adipokine profiling*) [161], która wykazuje wyższą czułości w porównaniu do klasycznej metody ELISA [88]. Porównywanie wyników badań holenderskich i niemieckich z wynikami prezentowanych badań ma również inne ograniczenia, mianowicie kryteria doboru grup istotnie się różnią: o ile w prezentowanej pracy kwalifikacji do grup badanej i referencyjnej dokonano na podstawie wartości centylowych opracowanych w ramach projektu OLAF na reprezentatywnej grupie polskich dzieci, to badacze niemieccy i holenderscy stosowali dobór wg kryteriów i wartości referencyjnych opracowanych na podstawie badań kohortowych w danym kraju w oparciu o wartości BMI-SD [87,88,162]. Dodatkowo, u dzieci zakwalifikowanych do badań przez Schipera wykazano znacznie wyższe wartości udziału masy tłuszczowej w organizmie. Zarówno w grupie dzieci nieotyłych, jak z nadmierną masą ciała wartości te były aż o 10 punktów procentowych wyższe niż w prezentowanych wynikach badań. Może to wynikać z odmienności metody stosowanej do określania udziału całkowitej masy tłuszczu w organizmie w obu badaniach (wersja elektrodowa stopa-dłoń vs dwustopowa w prezentowanych badaniach), ale może też potwierdzać, iż populacje dzieci zakwalifikowanych do obu badań znacznie się różniły.

W przedstawianej pracy stwierdzono, że wyższym wartościom centylowym BMI, jak i wartościom bezwzględny BMI, towarzyszyło wyższe stężenie chemeryny we krwi. Podobne zależności były prezentowane w opublikowanych niedawno pracach dotyczących populacji dziecięcej przez badaczy holenderskich [88] i niemieckich [87]. Jak uprzednio wspomniano, o ile w literaturze można spotkać prace kwestionujące występowanie związku

między stężeniami chemeryny a wielkością BMI [159], to większość badań przeprowadzonych u dorosłych jednak zdecydowanie potwierdza występowanie takiego związku [76,82,120-122]. Dodatkowo, redukcja masy ciała u pacjentów dorosłych wiązała się również z obniżeniem stężeń chemeryny, niezależnie od metody osiągania efektywnego obniżenia masy ciała (metody chirurgii bariatrycznej lub dieta i wzrost aktywności fizycznej), co potwierdza występowanie związku stężenia chemeryny we krwi z otyłością [120,122,125,126,128].

Ponieważ za rozwój nadwagi i otyłości odpowiedzialny jest rozrost i rozplem adipocytów, wydaje się istotnym zbadanie związku między stężeniem chemeryny u dzieci i odsetkiem masy tłuszczowej w organizmie. W analizie wzięto pod uwagę nie tylko wartości BMI czy wartości centylowe BMI, na wielkość których może mieć wpływ nie tylko masa tkanki tłuszczowej, ale również masa kostna oraz mięśniowa u osobników o tzw. atletycznym typie budowy. Tak jak w przypadku badań populacji osób dorosłych [121], również u dzieci w przedstawianej analizie obserwuje się korelację pomiędzy odsetkiem masy tłuszczowej a stężeniem chemeryny we krwi. Według mojej wiedzy jest to pierwsze doniesienie dotyczące statystycznego związku między stężeniem chemeryny a odsetkiem masy tłuszczowej w populacji wieku rozwojowego. W pracy autorstwa Shippera i wsp., pomimo że wykonano pomiar zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie dzieci, nie przedstawiono analizy korelacji tego parametru ze stężeniem chemeryny we krwi [88].

Nie są poznane, jak dotąd, mechanizmy łączące chemerynę i otyłość. Wiadomo, że chemeryna, działając przez receptor CMKLR1 jest jednym z kluczowych inicjatorów adipogenezy poprzez stymulację różnicowania preadipocytów do adipocytów [68,79,80]. Jak już wspomniano, przez indukcję proliferacji i migracji komórek śródbłonna oraz udział w tworzeniu cewek naczyniowych, chemeryna może dodatkowo być czynnikiem wspomagającym ekspansję tkanki tłuszczowej [77,131]. Jednak nie oznacza to, że chemeryna jest w sposób jednoznaczny odpowiedzialna za rozwój otyłości. Jej podwyższone stężenie może również mieć znaczenie protekcyjne. Opisywany jest wpływ tej adipokiny na podwzgórzowe mechanizmy regulacji apetytu. Brunetti i wsp., podając gryzoniom dootrzewnowo chemerynę, obserwowali u nich spadek apetytu i w efekcie redukcję masy ciała. Obserwacjom tym towarzyszyły ponadto zmiany ekspresji genów i uwalniania związków zaangażowanych w podwzgórzową kontrolę apetytu: wzrost ekspresji genów i sekrecji substancji o aktywności anorektycznej (serotonina, CART) z obniżeniem ekspresji genów stymulujących apetyt (oreksyny A i AgRP). Zaobserwowali również wzrost ekspresji stymulującego apetyt NPY [132]. Można domniemywać, że wzrost ekspresji NPY ma

znaczenie kontrolujące, tj. przeciwdziałanie nadmiernemu hamowaniu apetytu. Wobec powyższych spostrzeżeń nieco kontrowersyjne wydają się być obserwacje Ernsta i wsp., opisującego obniżenie apetytu i masy ciała u gryzoni z wyłączeniem genu receptora CMKLR1 (CMKLR1^{-/-}). Wyniki tej pracy w odróżnieniu od Brunettiego sugerują, że chemeryna przez swój receptor działa stymulująco na apetyt [78]. Być może klucz do zrozumienia i wyjaśnienia kwestii spornych stanowić będzie występowanie chemeryny w organizmie w różnych izoformach o potencjalnie różnej aktywności biologicznej. Niewątpliwie mechanizm działania i szczegółowa rola chemeryny w tych procesach wymaga dalszych badań. Niewykluczone, że te procesy mogłyby stanowić interesujący punkt uchwytu dla badań nad potencjalnymi możliwościami terapeutycznymi.

Ponieważ, jak wcześniej wspomniano, nie jest wiadome, czy zwiększone stężenie chemeryny w nadwadze i otyłości jest bardziej związane z rozplemem i przerostem adipocytów, czy też z obecnością stanu zapalnego o niskim natężeniu, podjęto próbę wyjaśnienia tego aspektu w badanej populacji dzieci. W powyższej pracy potwierdzono, że u dzieci z nadwagą i otyłością w surowicy występują wyższe stężenia białka C-reaktywnego jako wykładnika stanu zapalnego. Badania te pozostają w zbieżności z obserwacjami Schipperera i wsp. na podobnej liczebnie grupie dzieci [88]. W przedstawianej pracy wykazano występowanie dodatniej korelacji między stężeniem chemeryny a stężeniem CRP, co sugeruje istnienie związku ekspresji chemeryny z obecnością stanu zapalnego o niskim natężeniu. Analiza korelacji wielorakiej wykazała, że CRP jest głównym prognostykiem stężenia chemeryny we krwi w badanej grupie. Podobny związek chemeryny i CRP opisuje Landgraf i wsp. na zbliżonej liczebnie grupie dzieci z nadmierną masą ciała, jest to jak dotąd jedyne badanie dotyczące wieku rozwojowego, opisujące korelację chemeryny z parametrami stanu zapalnego: CRP i WBC [87].

Badania dotyczące populacji dorosłych wykazują, że otyłość wiąże się z występowaniem stanu zapalnego o niskim natężeniu [119]. Jak wspomniano we wstępie, chemeryna, działając przez receptor CMKLR1, jest czynnikiem chemotaktycznym dla komórek stanu zapalnego posiadających ów receptor [56,58,64]. Sugestia prozapalnych właściwości chemeryny wiąże się dodatkowo z obserwacją pozytywnych korelacji stężeń tej adipokiny ze stężeniami cytokin pozapalnych: TNF α , IL-6 oraz – jak donosi większość autorów - białka CRP u dorosłych [83,97,108,163]. Podwyższone stężenia chemeryny towarzyszyły także wzrostowi innych prozapalnych adipokin: leptyny i rezystyny [52,81,83,87,97]. Jak wcześniej opisywano, w literaturze obecne są również doniesienia dotyczące antyzapalnych właściwości chemeryny [111,113], jednak właściwości te wykazywane były w pracach nad

schorzeniami nie związanymi bezpośrednio z otyłością: zapaleniu otrzewnej [111], zapaleniu płuc [115,116] lub na modelach *in vitro* pod pewnymi warunkami stworzonymi doświadczalnie [117]. Wydaje się, że w otyłości i schorzeniach z nią związanych chemeryna ma dobrze udokumentowane działanie prozapalne.

Opisywany w literaturze światowej dylemat, czy wzrost chemeryny w otyłości wynika bardziej z obecności stanu zapalnego o niskim natężeniu towarzyszącemu otyłości, czy też jest efektem wzrostu bezwzględnej masy tkanki tłuszczowej, podzielił zajmujących się tym aspektem badaczy. Istnieją prace ukazujące silny związek stężeń chemeryny i CRP [83,163], są też prace wskazujące ponadto, iż wzrost krążącej chemeryny jest wynikiem raczej nasilenia procesów zapalnych niż wynika z samej otyłości i BMI [97,159,164]. Tezę tę potwierdzają wyniki badań dotyczących przewlekłego zapalenia trzustki, gdzie dochodzi do znacznego wzrostu stężeń chemeryny oraz CRP we krwi, podczas gdy masa ciała tych pacjentów jest istotnie niższa w porównaniu do grupy kontrolnej [89]. Z drugiej strony obecne są również prace, z których wynika, iż najsilniejszym predyktorem wzrostu krążącej chemeryny jest BMI i masa tkanki tłuszczowej [121,154]. Warte odnotowania jest pojawianie się prac, w których nie znaleziono żadnych istotnych związków między stężeniami chemeryny a wykładnikami stanu zapalnego (CRP) u otyłych pacjentów dorosłych [160]. Podczas gdy większość publikowanych prac potwierdza jednak związek chemeryny z parametrami stanu zapalnego, ciągle jest jeszcze wiele niejasności i kontrowersji, wymagających rozwiązania. Liczne badania *in vitro* wskazujące na indukcję ekspresji/wydzielania chemeryny przez cytokiny pozapalne (TNF α) [81,108-110] sugerują, że zwiększone stężenie chemeryny w surowicy otyłych może być następstwem zwiększonego stanu zapalnego. Warta szczególnej uwagi jest zwłaszcza praca Catalan i wsp., którzy obserwowali wzrost ekspresji chemeryny w tkance tłuszczowej pozyskanej *ex vivo* jako efekt podawania TNF α [108]. Z drugiej strony, sama chemeryna podawana do hodowli tkankowych ludzkich komórek (chondrocytów czy komórek maziówki) stymuluje sekrecję cytokin pozapalnych: IL-6, IL-8, TNF α , IL-1 β [106,107]. Co więcej, zastosowanie antyoksydantu (kwasu liponowego) powodowało znaczące obniżenie poziomu zarówno chemeryny jak i TNF α [163]. Powyższe obserwacje wskazują na to, iż chemeryna, sama będąc produktem odpowiedzi na stymulację zapalną, jest w stanie również indukować powstawanie mediatorów zapalenia, czyli aktywnie wpływać na odpowiedź zapalną. Być może bierze ona udział w tworzeniu swoistej pętli dodatniego sprzężenia zwrotnego, podtrzymując stan zapalny do postaci przewlekłej w otyłości.

Poszukiwania u dorosłych związku występowania stanu zapalnego w otyłości z rozwojem powikłań towarzyszących nadmiernej masie ciała skierował uwagę badaczy na chemerynę jako na potencjalny łącznik tych procesów i zjawisk. W prezentowanych badaniach znaleziono słabą, lecz istotną korelację między stężeniem chemeryny a wartością wskaźnika insulinooporności, stężeniem insuliny oraz wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego krwi, co może wskazywać na potencjalne powiązania chemeryny z rozwojem powikłań towarzyszących otyłości. Występowanie związku między stężeniem krążącej chemeryny i wskaźnikiem insulinooporności u dzieci wykazano, jak dotąd, tylko w jednej pracy [87], natomiast w populacji dorosłych dowody na występowanie takiej asocjacji są liczne [120,140,142,165]. Wykazano również, iż HOMA-IR pozytywnie koreluje ze zwiększoną ekspresją mRNA chemeryny w tkance tłuszczowej ludzi [122]. Jest także praca, w których nie znaleziono związku między współczynnikiem insulinooporności a stężeniem chemeryny [84].

W prezentowanej analizie nie znaleziono istotnych zależności między chemeryną a stężeniem innych parametrów metabolicznych: glukozy na czczo, czy parametrami profilu lipidowego we krwi. Landgraf i wsp. w odróżnieniu od prezentowanych wyników wykazali słabą dodatnią korelację między chemeryną a parametrami lipidowymi surowicy: cholesterolem całkowitym i triacyloglicerolami, natomiast w odniesieniu do glukozy i insuliny jej obserwacje były zbieżne z prezentowanymi. Landgraf nie udało się wykazać, podobnie jak w przedstawianej analizie, ujemnej korelacji między stężeniem chemeryny a stężeniem cholesterolu frakcji HDL [87]. W literaturze opisującej badania populacji dorosłych liczne prace (poza pojedynczymi [97,160]) opisują wyraźne zależności z wykładnikami metabolicznymi, w szczególności wskaźnikiem insulinooporności oraz insuliną i homeostazą glukozy [76,84,97,140,163,165]. Chemeryna w populacji dorosłych, w przeciwieństwie do przedstawianych obserwacji, wykazuje istotne korelacje ze stężeniem cholesterolu (szczególnie frakcją HDL, gdzie kierunek korelacji jest ujemny) oraz triacyloglicerolami [76,82-84,92,97,163,165,166]. Taka rozbieżność może być tłumaczona czasem trwania i stopniem zaawansowania dyslipidemii u dorosłych. Warto dodać, że populacja badana przez Landgraf i wsp. była nieco starsza od prezentowanej w powyższej pracy [87]. Podobnie tłumaczyć można obserwacje dotyczące parametrów homeostazy glukozy i insulinooporności i ich relacji z chemeryną.

Obecność w literaturze prac, w których nie wykazano związku chemeryny z parametrami metabolicznymi – wykładnikami homeostazy glukozy [97], profilu lipidowego w ujęciu całościowym lub jego części [97,121] lub całościowo: wykładników metabolicznych

oraz stanu zapalnego [160] sprawia, iż dyskusja nad tymi zagadnieniami jest ciągle otwarta a dalsze badania próbujące wyjaśniać sporne aspekty są konieczne.

Chemeryna, jak wspomniano wcześniej, jest wiązana z zespołem metabolicznym u dorosłych [76,82] a nawet upatrywana jest przez niektórych jako niezależny jego marker [84], a przez innych uznana za czynnik ryzyka jego rozwoju [143]. Prócz zaburzeń metabolicznych do kryteriów rozpoznawania zespołu metabolicznego należy wzrost ciśnienia tętniczego. Dostępna literatura przedstawia w tym aspekcie różne dane dotyczące dorosłych, większość prac przedstawia obecność dodatniej korelacji między ciśnieniem skurczowym i chemeryną [76,82,84,165], są też wykazujące istotne korelacje chemeryny z rozkurczowym ciśnieniem tętniczym [92]. W piśmiennictwie są już obecne badania, które potwierdzać mogą związek chemeryny z rozwojem nadciśnienia tętniczego. Na eksplantach *ex vivo* naczyń tętniczych wykazano, iż chemeryna może działać wazokontrykcyjnie. Ekspresję genów tego hormonu obserwowano w tkance tłuszczowej okołonaczyniowej, natomiast ekspresję genów jego receptora w obrębie nabłonka i warstwy środkowej naczyń tętniczych u szczurów [72]. Wykazano, iż chemeryna w eksplantach naczyniowych pochodzących od otyłych osobników wpływa na zmniejszenie syntezy tlenku azotu, co zmniejsza zdolność do relaksacji mięśniówki naczyń [135]. Molekularne aspekty tych zależności wymagają jednak dalszych szczegółowych badań.

Przedstawione powyżej zbadane przeze mnie zależności chemeryny z podwyższonymi wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego znajdują swoje potwierdzenie w podobnych obserwacjach opisanych przez Landgraf i wsp. w populacji dziecięcej. Podobnie jak w prezentowanej pracy, siła korelacji tych parametrów jest zbliżona, natomiast wartości ciśnienia rozkurczowego nie wykazują istotnych zależności z chemeryną [87]. Tak jak w przypadku zaburzeń metabolicznych, słabą korelację podwyższonych wartości ciśnienia skurczowego i jej braku w przypadku wartości ciśnienia rozkurczowego tłumaczyć można wiekiem badanej populacji, a co się z tym wiąże – wczesnymi etapami rozwoju nadciśnienia tętniczego w populacji dziecięcej oraz nieutrwaleniem zmian patofizjologicznych leżących u podstawy jego rozwoju.

O istniejącym związku między chemeryną a wzrostem wartości ciśnienia tętniczego, powikłaniami metabolicznymi w postaci zaburzeń gospodarki glukozy oraz, według licznych danych pochodzących od innych autorów, także gospodarki lipidów, świadczyć może również obserwowany spadek poziomów krążącej chemeryny, który koreluje ze spadkiem parametrów zespołu metabolicznego w efekcie redukcji masy ciała u dorosłych. Jak już wspomniano, zjawiska te były obserwowane niezależnie od sposobu uzyskania redukcji masy

ciała: dietą i wzrostem aktywności fizycznej [122,127-129], czy metodami chirurgii bariatrycznej [120,122,125] i to niezależnie od stosowanej metody: wyłączenia żołądkowego typu *Roux-en-Y* (*RYGB - Roux-en-Y gastric bypass*) lub laparoskopowej rękawowej resekcji żołądka (*LSG - laparoscopic sleeve gastrectomy*) [126]. Choć z drugiej strony, być może metoda ma jednak znaczenie, ponieważ w ostatnim czasie pojawiło się doniesienie opisujące brak spadku stężeń chemeryny po leczeniu metodą *RYGB* mimo redukcji masy ciała [108]. Różnice między danymi w literaturze mogą znaleźć wytłumaczenie w długości czasu trwania obserwacji po zabiegu i możliwości utrzymywania się stanu zapalnego w miejscu zespolenia, aczkolwiek kwestie te wymagają dalszego wyjaśnienia w wielośrodkowych badaniach przeprowadzonych przy pomocy tej samej metodologii na większej grupie populacyjnej.

W przedstawianej pracy po raz pierwszy wykazano obecność korelacji pomiędzy stężeniem chemeryny a aktywnością aminotransferazy alaninowej w populacji dziecięcej. Jak wynika z przeglądu piśmiennictwa, pojawiły się jak dotąd pojedyncze prace dotyczące dorosłych, u których zbadano tę zależność i uzyskano podobne wyniki [124,166]. Jednak w pracy Weigert i wsp. nie stwierdzono korelacji między stężeniem chemeryny a aktywnością aminotransferazy alaninowej w populacji dorosłych z cukrzycą, otyłością oraz zdrowych osób [97].

W prezentowanym opracowaniu aktywność aminotransferazy alaninowej była co prawda w granicach wartości referencyjnych, jednak w obrębie obu badanych grup wykazywała różnice, mianowicie, u dzieci z nadmierną masą ciała była istotnie wyższa i to prawie dwukrotnie. Oczywiście, nie świadczy to w tym momencie o uszkodzeniu komórek wątroby, czy istniejącej innej jej patologii, jednakże obserwacje te skłaniają do rozważenia możliwości występowania u tych dzieci czynników ryzyka rozwoju chorób wątroby towarzyszących otyłości, a co się z tym wiąże - rozwoju schorzenia wątroby, będącego najczęstszym niekorzystnym zdrowotnym następstwem otyłości – niealkoholowej choroby stłuszczeniowej wątroby (NAFLD; *non-alcoholic fatty liver disease*). Najważniejszymi czynnikami ryzyka rozwoju NAFLD u dzieci i młodzieży jest otyłość i insulinooporność. Wykrywanie tego schorzenia wiąże się najczęściej z przypadkowym wykryciem podwyższonej aktywności aminotransferaz i/lub GGTP (gamma-glutamylotranspeptydazy) w surowicy lub stwierdzonym wzrostem echogeniczności wątroby w badaniu ultrasonograficznym [167]. W ostatnim czasie postuluje się obniżenie wartości referencyjnych aktywności aminotransferaz w surowicy, co miałyby zwiększyć wykrywalność wczesnych stadiów NAFLD i innych przewlekłych schorzeń wątroby [168]. W tym aspekcie wartości aktywności ALAT (i ASPAT) w populacji badanych dzieci mogłyby okazać się wartościami granicznymi, a u

części uznawanymi za patologiczne. Niezależnie od wartości, które uznamy za potencjalny objaw choroby, chemeryna wykazuje słabą lecz istotną korelację z wartościami aktywności ALAT. Pojawiły się jak dotąd nieliczne prace, w których autorzy donoszą o występowaniu podwyższonych stężeń zarówno krążącej chemeryny [169] jak i zwiększonej ekspresji mRNA chemeryny [170] u gryzoni oraz pacjentów dorosłych z NASH (*non-alcoholic steatohepatitis*), jednej z postaci NAFLD. Być może chemeryna jest jednym z możliwych ogniw łączących otyłość z NAFLD, jakkolwiek sugestia ta wymaga potwierdzenia szczegółowymi badaniami.

Wobec sprzecznych danych pochodzących z prac dwóch wspomnianych już powyżej ośrodków, w których podmiotem badań była chemeryna w kontekście wieku rozwojowego, jednym z badanych w niniejszej pracy zagadnień było sprawdzenie zależności stężeń chemeryny od płci i wieku. Wyniki przeze mnie prezentowane wskazują na brak powiązań krążącej chemeryny zarówno z wiekiem dzieci, jak i płcią. Jak już wspomniano Landgraf i wsp. wykazali ujemną korelację stężenia chemeryny z wiekiem u chłopców. Według autorów w odniesieniu do kolejnych etapów związanych z dojrzewaniem stężenie chemeryny wykazywało coraz niższe wartości (w okresie prepubertalnym stężenia były istotnie wyższe niż w okresie postpubertalnym) [87]. Na podstawie tych obserwacji można przypuszczać, że wysokość stężeń chemeryny u zdrowych, nieotyłych dzieci mogłoby podlegać modulacjom przez czynniki zależne od płci, np. hormony płciowe. Obserwacje Schipperera i wsp. natomiast są zbieżne z badaniami omawianymi w niniejszej dysertacji: nie wykazał on zależności chemeryny od płci i wieku [88]. W odniesieniu do płci Landgraf i wsp., podobnie, nie wykazali istotnych różnic między stężeniami chemeryny [87]. Warto dodać, że grupa dzieci badanych przez Schipperera i wsp. była zbliżona liczebnie do grupy omawianej w niniejszym opracowaniu, natomiast badania grupy niemieckiej były prowadzone na grupie 1,5 razy większej. Doniesienia dotyczące dorosłych wskazują na występowanie wyższych stężeń chemeryny u kobiet w porównaniu do mężczyzn [82,86,166]. Jednak obserwacje różnic między płciami w odniesieniu do wieku znacznie się różnią [76,82-84,86,166]. Zależności chemeryny od płci w wieku rozwojowym oraz dynamika zmian stężeń chemeryny w odniesieniu do wieku wymaga dalszych obserwacji na zdecydowanie większej liczbie probantów.

Przedstawiane w literaturze analiza stężenia chemeryny w otyłości zarówno u ludzi jak i u zwierząt odnosi się do całkowitego stężenia chemeryny, bez określenia stężeń bioaktywnych jej izoform, co wynika z dostępnych możliwości analitycznych. Wiadomo, że tkanka tłuszczowa wydziela różne proteazy, jak katepsynę G czy tryptazę, które są zdolne do

przekształcania chemeryny w ramach modyfikacji potranslacyjnej w izoformy aktywne [78] Jakkolwiek w piśmiennictwie pojawiły się już pierwsze doniesienia dotyczące udziału poszczególnych izoform krążącej chemeryny oraz ich związku z otyłością na modelu mysim [171]. Zagadnienie wysokości stężeń bioaktywnych izoform tej adipokiny w odniesieniu do całkowitych stężeń w otyłości u ludzi pozostaje niezbadane. Szczególnie interesującym i wymagającym wyjaśnienia jest udział i rola poszczególnych izoform w procesach, które mogą łączyć adipogenezę, stan zapalny i rozwój schorzeń powiązanych z otyłością. Być może kontrowersje dotyczące wpływu chemeryny na gospodarkę lipidową czy glukozową mogłyby zostać wyjaśnione dzięki przyszłym badaniom charakteryzującym udział poszczególnych izoform chemeryny w patogenezie otyłości i chorób z nią związanych.

Niemniej istotne wydaje się poznanie mechanizmów leżących u podstaw powiązań chemeryny z regulacją apetytu. Kwestie sporne wymagają dalszych wyjaśnień, niemniej poczynione obserwacje są niezwykle interesujące i obiecujące w aspekcie poszukiwań nowych rozwiązań farmakologicznych leczenia otyłości.

Nie wiadomo, czy i w jaki sposób chemeryna wpływa na biochemiczne konsekwencje nadmiaru masy ciała i czy stanowi klucz do molekularnego połączenia otyłości z chorobami z nią współistniejącymi. Badania ostatnich lat dowodzą, iż jest ona niezwykle intrygującym lecz również obiecującym związkiem o bardzo różnych właściwościach i kierunkach działania. Molekularne podłoże obserwowanych korelacji stanowi szerokie pole dla dalszych badań. Szczególnie interesujące są potencjalne powiązania chemeryny z występowaniem patologicznych zmian i objawów powiązanych z nadmiarem masy ciała, być może obecne już we wczesnych etapach rozwoju, czyli w okresie dziecięcym. Niewątpliwie obserwacje ostatnich lat dostarczyły licznych dowodów, iż chemeryna stanowi ważny mediator stanu zapalnego i wiąże się ściśle z występowaniem otyłości u dorosłych. Jednak badanie złożonych mechanizmów, w które może być zaangażowana chemeryna już w populacji pediatrycznej stanowi bardzo ważny wkład w rozwój wiedzy w tym zakresie, zwłaszcza z uwagi na bardzo istotny fakt, iż u pacjentów pediatrycznych możliwa jest ocena wczesnych stadiów procesu zapalnego czy patologicznych zmian tkanek i narządów. Jednocześnie możliwość rzetelnej oceny tych zjawisk zwiększa niewystępowanie czynników mogących znacznie modyfikować wyniki, jak np. palenia papierosów czy współistniejących chorób zapalnych związanych z wiekiem, np. zapalenia stawów.

Przedstawiana analiza daje podstawę do twierdzenia, iż związek między chemeryną i nadwagą/otyłością występuje również u dzieci i młodzieży. Z dużym prawdopodobieństwem można także sądzić, iż adipokina ta może stanowić ważne ogniwo łączące występowanie

nadmiernej masy ciała z rozwijającymi się w późniejszym okresie niekorzystnymi następstwami zdrowotnymi dotyczącymi wielu narządów i funkcji w organizmie.

Być może kolejny głos w dyskusji przyczyni się do zrozumienia mechanizmów wiążących chemerynę z ekspansją tkanki tłuszczowej, nasileniem procesów zapalnych i możliwych powikłań towarzyszących otyłości oraz przybliży nas do znalezienia skutecznej strategii terapeutycznej w leczeniu otyłości i zapobieganiu chorob z nią powiązanych.

VIII. WNIOSKI

1. Nadmierna masa ciała u dzieci wiąże się z wyższym stężeniem krążącej chemeryny.
2. Odsetek masy tłuszczowej jest jednym z czynników związanych ze stężeniem chemeryny we krwi.
3. Stężenie chemeryny we krwi jest związane ze stanem zapalnym w przebiegu otyłości u dzieci, co wiąże się z obserwacją, że im wyższe były wartości CRP, tym wyższe było stężenie krążącej chemeryny we krwi u dzieci. Aczkolwiek na obecnym etapie badań trudno jest wnioskować, na ile podwyższone stężenie chemeryny jest skutkiem toczącego się procesu zapalnego a na ile jego przyczyną.
4. Współwystępowanie podwyższonego stężenia chemeryny we krwi dzieci z nadmierną masą ciała z wyższymi wartościami czynników ryzyka rozwoju powikłań otyłości (HOMA-IR, ALAT, skurczowe ciśnienie tętnicze krwi) pozwala domniemywać, iż chemeryna może odgrywać istotną rolę w procesie rozwoju niekorzystnych następstw zdrowotnych otyłości (cukrzyca typu 2, niealkoholowa choroba tłuszczeniowa wątroby i nadciśnienie tętnicze).
5. Konieczne są dalsze badania wyjaśniające molekularne aspekty wpływu chemeryny na parametry metaboliczne i jej udział w procesach zapalnych, co pozwoli na zrozumienie mechanizmów leżących u podstawy rozwoju otyłości i zaburzeń jej towarzyszących a w przyszłości być może umożliwi opracowanie efektywnych strategii terapeutycznych.

IX. STRESZCZENIE

Wobec narastającego problemu nadwagi i otyłości u dzieci koniecznym wydaje się poznanie biochemicznych mechanizmów leżących u podstaw rozwoju nadmiernej masy ciała. Od ponad dekady wiadomo, że tkanka tłuszczowa jest nie tylko magazynem związków wysokoenergetycznych, ale jest również wyspecjalizowanym narządem endokrynnym, stanowiąc bogate źródło związków biologicznie czynnych zwanych adipokinami. Chemeryna, niedawno odkryty hormon produkowany przez tkankę tłuszczową, reguluje różnicowanie i metabolizm adipocytów. Stwierdzono, że odgrywa ona także istotną rolę w indukcji stanu zapalnego, działając jako chemoatraktant na komórki stanu zapalnego posiadające receptor CMKLR1, którego ligandem jest chemeryna. Zwiększone stężenie chemeryny obserwowano m.in. w otyłości u dorosłych, schorzeniu związanym z przewlekłym stanem zapalnym. W badaniach przeprowadzonych u dorosłych wykazywano związek stężenia chemeryny z BMI, stężeniem triacylogliceroli i ciśnieniem tętniczym krwi. W dostępnej literaturze podejmuje się temat chemeryny jako potencjalnego ogniwa łączącego otyłość, stan zapalny i powikłania towarzyszące otyłości.

Celem badań było sprawdzenie, czy i w jaki sposób w populacji wieku rozwojowego nadmierna masa ciała i związany z nią przewlekły proces zapalny wiąże się ze zmianami stężenia chemeryny we krwi a także, czy istnieje związek między stężeniem chemeryny a wykładnikami ryzyka rozwoju powikłań otyłości (zaburzeń homeostazy glukozy, dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego).

Do badania zakwalifikowano ogółem 101 dzieci w wieku 4-18 lat. Dzieci przyporządkowano do dwóch grup: badawczej i referencyjnej a kryterium różnicującym był 85 percentyl BMI określany na podstawie siatek centylowych referencyjnych dla populacji polskiej opracowanych w 2009 roku przez zespół IPCZD w Warszawie w ramach projektu OLAF. Grupę badawczą stanowiło 58 dzieci z rozpoznaną nadwagą i otyłością, biorących udział w gdańskim programie „6,10,14 Dla Zdrowia”, zajmującym się kompleksowo rozpoznawaniem i wielospecjalistycznym leczeniem dzieci z nadmierną masą ciała. Grupę referencyjną stanowiło 43 dzieci z prawidłową masą ciała. U każdego probanta dokonywano pomiarów antropometrycznych, określono odsetek masy tłuszczowej metodą analizy bioimpedancyjnej (BIA), oznaczono stężenie chemeryny w surowicy metodą immunoenzymatyczną (ELISA) oraz oznaczono parametry biochemiczne w surowicy krwi, będące wykładnikami: stanu zapalnego, homeostazy glukozy, gospodarki lipidowej oraz funkcji nerek i uszkodzenia hepatocytów.

Stwierdzono, iż u dzieci z nadwagą i otyłością stężenie chemeryny było istotnie wyższe w porównaniu z dziećmi eutroficznymi ($64,7 \pm 1,7$ vs $50,8 \pm 1,6$ ng/mL, $p < 0,01$), podobnie jak białka C-reaktywnego (CRP) (odpowiednio $1,3 \pm 0,12$ i $0,4 \pm 0,046$ mg/L, $p < 0,01$). Stwierdzono obecność dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem chemeryny i CRP w surowicy badanej populacji dzieci ($r = 0,46$, $p < 0,01$). Spośród badanych parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych stężenie chemeryny wykazywało również związek z wartościami centylowymi BMI ($r = 0,48$ $p < 0,01$), bezwzględnymi wartościami BMI ($r = 0,49$ $p < 0,01$), odsetkiem masy tłuszczowej ($r = 0,40$ $p < 0,01$), wskaźnikiem talia-biodra (WHR) ($r = 0,35$ $p < 0,01$), talia-wzrost (WHtR) ($r = 0,53$ $p < 0,01$) oraz aktywnością ALAT ($r = 0,37$ $p < 0,01$). U dzieci w badanej grupie obserwowano również słabą lecz istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem chemeryny a wartościami centylowymi skurczowego ciśnienia tętniczego ($r = 0,27$ $p < 0,05$) oraz wartościami współczynnika insulinooporności (HOMA-IR) ($r = 0,23$ $p < 0,05$). Wyniki analizy regresji wielorakiej wykazały, iż CRP jest najsilniejszym predyktorem stężenia chemeryny we krwi badanych dzieci spośród analizowanych parametrów. W badanej populacji stężenia chemeryny nie wykazywały istotnych różnic w odniesieniu do płci i wieku. Nie stwierdzono występowania istotnych zależności między stężeniem chemeryny a stężeniem glukozy, stężeniem insuliny, stężeniem cholesterolu całkowitego i jego frakcji oraz triacylogliceroli w surowicy. Nie wykazano również statystycznego związku pomiędzy stężeniem chemeryny a stężeniem kreatyniny oraz aktywnością ASPAT.

Wyniki prezentowanych badań pozwalają wnioskować, że, podobnie jak u dorosłych, otyłość u dzieci jest związana ze zwiększonym stężeniem chemeryny i CRP w surowicy. Dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem CRP i chemeryny w surowicy dzieci z nadwagą i otyłością może wskazywać na potencjalny udział chemeryny w patomechanizmie rozwoju zarówno otyłości jak również stanu zapalnego w otyłości u dzieci. Współwystępowanie podwyższonego stężenia chemeryny we krwi dzieci z nadmierną masą ciała z wyższymi wartościami czynników ryzyka rozwoju powikłań otyłości (HOMA-IR, ALAT, skurczowe ciśnienie tętnicze krwi) pozwala domniemywać, iż chemeryna może odgrywać istotną rolę w procesie rozwoju powikłań otyłości (cukrzyca typu 2, niealkoholowa choroba tłuszczowa wątroby i nadciśnienie tętnicze), aczkolwiek konieczne są dalsze badania wyjaśniające molekularne aspekty wpływu chemeryny na parametry metaboliczne i jej udział w stanie zapalnym towarzyszącym otyłości.

Zbadanie i zrozumienie mechanizmów leżących u podstawy rozwoju otyłości i zaburzeń jej towarzyszących, w które być może zaangażowana jest chemeryna, w przyszłości może stanowić pole dla opracowania efektywnych strategii terapeutycznych

X. PIŚMIENICTWO

1. Mazur A.: Epidemiologia nadwagi i otyłości u dzieci na świecie, w Europie i Polsce . Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie Rzeszów 2011, 2, 158-63.
2. Wang Y., Lobstein T.: Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *Int J Pediatr Obes* 2006, 1, 1, 11-25.
3. Rolland-Cachera M.F.: Childhood obesity: current definitions and recommendations for their use. *Int J Pediatr Obes* 2011, 6, 5-6, 325-31.
4. Cole T.J., Lobstein T.: Extended international (IOTF) body mass index cut-offs for thinness, overweight and obesity. *Pediatr Obes* 2012, 7, 4, 284-94.
5. Kulaga Z., Litwin M., Tkaczyk M., Palczewska I., Zajaczkowska M., Zwolinska D., Krynicki T., Wasilewska A., Moczulska A., Morawiec-Knysak A., Barwicka K., Grajda A., Gurzkowska B., Napieralska E., Pan H.: Polish 2010 growth references for school-aged children and adolescents. *Eur J Pediatr* 2011, 170, 5, 599-609.
6. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2000, 894:i-xii, 1-253., i-253.
7. Hah Y.J., Kim N.K., Kim M.K., Kim H.S., Hur S.H., Yoon H.J., Kim Y.N., Park K.G.: Relationship between Chemerin Levels and Cardiometabolic Parameters and Degree of Coronary Stenosis in Korean Patients with Coronary Artery Disease. *Diabetes Metab J* 2011, 35, 3, 248-54.
8. Lobstein T., Baur L., Uauy R.: Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obes Rev* 2004, 5 Suppl 1:4-104.
9. Lobstein T., Frelut M.L.: Prevalence of overweight among children in Europe. *Obes Rev* 2003, 4, 4, 195-200.
10. Ulijaszek S.J., Koziel S.: Nutrition transition and dietary energy availability in Eastern Europe after the collapse of communism. *Econ Hum Biol* 2007, 5, 3, 359-69.
11. Malecka-Tendera E., Klimek K., Matusik P., Olszanecka-Glinianowicz M., Lehingue Y.: Obesity and overweight prevalence in Polish 7- to 9-year-old children. *Obes Res* 2005, 13, 6, 964-8.
12. Chrzanowska M., Koziel S., Ulijaszek S.J.: Changes in BMI and the prevalence of overweight and obesity in children and adolescents in Cracow, Poland, 1971-2000. *Econ Hum Biol* 2007, 5, 3, 370-8.

13. Oblacińska A., Wrocławska M., Woynarowska B.: *Frequency of overweight and obesity in the school-aged population in Poland and health care for pupils with these disorders*. *Pediatrics Polska* 1997, 72, 241-5.
14. Palczewska, I., Niedźwiecka, Z. *Siatki centylowe do Oceny Rozwoju Somatycznego Dzieci i Młodzieży*. 1999. Instytut Matki i Dziecka Warszawa . Ref Type: Report
15. Mazur A., Małecka-Tendera E., Lewin-Kowalik J.: *Overweight and obesity in primary school children from the podkarpatian Region* . *Pediatrics Polska* 2001, 76, 743-8.
16. Obuchowicz A., Szymczyk B., Zeckei J.: *Nutritional status of school aged children and adolescents in Zabrze during school year 2003-2004*. *Pediatrics Polska* 2007, 82 (5-6), 403-7.
17. Mazur J., Tabak I., Gajewski J., Dzielska A.: *Overweight and obesity in lower-secondary school students in relation to selected behavioural factors. Changes in 2006-2010*. *Przeegl Epidemiol* 2012, 66, 3, 503-8.
18. Abramowicz P., Białokoz-Kalinowska I., Konstantynowicz J., Piotrowska-Jastrzębska J.: *Overweight and obesity in children aged 7-10: comparison of different diagnostic criteria based on Body Mass Index (BMI)*. *Pediatrics Polska* 2007, 82 (5-6), 408-13.
19. Eriksson J., Forsen T., Osmond C., Barker D.: *Obesity from cradle to grave*. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003, 27, 6, 722-7.
20. Freedman D.S., Mei Z., Srinivasan S.R., Berenson G.S., Dietz W.H.: *Cardiovascular risk factors and excess adiposity among overweight children and adolescents: the Bogalusa Heart Study*. *J Pediatr* 2007, 150, 1, 12-7.
21. Rolland-Cachera M.F., Deheeger M., Bellisle F., Sempe M., Guilloud-Bataille M., Patois E.: *Adiposity rebound in children: a simple indicator for predicting obesity*. *Am J Clin Nutr* 1984, 39, 1, 129-35.
22. Han J.C., Lawlor D.A., Kimm S.Y.: *Childhood obesity*. *Lancet* 2010, 375, 9727, 1737-48.
23. Sledzinska M., Liberek A., Kaminska B.: *Adipokines and obesity in children and adolescents*. *Med Wieku Rozwoj* 2009, 13, 4, 244-51.
24. Barness L.A.: *Obesity in children*. *Fetal Pediatr Pathol* 2007, 26, 2, 75-85.
25. Calcaterra V., Klersy C., Muratori T., Telli S., Caramagna C., Scaglia F., Cisternino M., Larizza D.: *Prevalence of metabolic syndrome (MS) in children and adolescents with varying degrees of obesity*. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008, 68, 6, 868-72.

26. Falkner B., Gidding S.S., Ramirez-Garnica G., Wiltrout S.A., West D., Rappaport E.B.: The relationship of body mass index and blood pressure in primary care pediatric patients. *J Pediatr* 2006, 148, 2, 195-200.
27. Jago R., Harrell J.S., McMurray R.G., Edelstein S., El G.L., Bassin S.: Prevalence of abnormal lipid and blood pressure values among an ethnically diverse population of eighth-grade adolescents and screening implications. *Pediatrics* 2006, 117, 6, 2065-73.
28. Jasik C.B., Lustig R.H.: Adolescent obesity and puberty: the "perfect storm". *Ann N Y Acad Sci* 2008, 1135, 265-79.
29. Owen C.G., Whincup P.H., Orfei L., Chou Q.A., Rudnicka A.R., Wathern A.K., Kaye S.J., Eriksson J.G., Osmond C., Cook D.G.: Is body mass index before middle age related to coronary heart disease risk in later life? Evidence from observational studies. *Int J Obes (Lond)* 2009, 33, 8, 866-77.
30. Sinha R., Fisch G., Teague B., Tamborlane W.V., Banyas B., Allen K., Savoye M., Rieger V., Taksali S., Barbetta G., Sherwin R.S., Caprio S.: Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *N Engl J Med* 2002, 346, 11, 802-10.
31. Weiss R., Dziura J., Burgert T.S., Tamborlane W.V., Taksali S.E., Yeckel C.W., Allen K., Lopes M., Savoye M., Morrison J., Sherwin R.S., Caprio S.: Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* 2004, 350, 23, 2362-74.
32. Sperling MA. *Pediatric endocrinology*, 3e. Elsevier, 2009.
33. Taylor E.D., Theim K.R., Mirch M.C., Ghorbani S., Tanofsky-Kraff M., Adler-Wailes D.C., Brady S., Reynolds J.C., Calis K.A., Yanovski J.A.: Orthopedic complications of overweight in children and adolescents. *Pediatrics* 2006, 117, 6, 2167-74.
34. Yanovski J.A.: Pediatric obesity. *Rev Endocr Metab Disord* 2001, 2, 4, 371-83.
35. Gilliland F.D., Berhane K., Islam T., McConnell R., Gauderman W.J., Gilliland S.S., Avol E., Peters J.M.: Obesity and the risk of newly diagnosed asthma in school-age children. *Am J Epidemiol* 2003, 158, 5, 406-15.
36. Rosenfield R.L., Lipton R.B., Drum M.L.: Thelarche, pubarche, and menarche attainment in children with normal and elevated body mass index. *Pediatrics* 2009, 123, 1, 84-8.
37. Bau A.M., Ernert A., Schenk L., Wiegand S., Martus P., Gruters A., Krude H.: Is there a further acceleration in the age at onset of menarche? A cross-sectional study in 1840 school children focusing on age and bodyweight at the onset of menarche. *Eur J Endocrinol* 2009, 160, 1, 107-13.

38. Bjorge T., Engeland A., Tverdal A., Smith G.D.: Body mass index in adolescence in relation to cause-specific mortality: a follow-up of 230,000 Norwegian adolescents. *Am J Epidemiol* 2008, 168, 1, 30-7.
39. Poulos S.P., Hausman D.B., Hausman G.J.: The development and endocrine functions of adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol* 2010, 323, 1, 20-34.
40. Kiess W., Petzold S., Topfer M., Garten A., Bluher S., Kapellen T., Korner A., Kratzsch J.: Adipocytes and adipose tissue. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008, 22, 1, 135-53.
41. Trayhurn P., Bing C.: Appetite and energy balance signals from adipocytes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006, 361, 1471, 1237-49.
42. Romer TE. Zaburzenia wzrastania i odżywiania . In Dobrzańskiej A, Ryzko J, eds. *Pediatrics*, Urban&Partner , 2005.
43. Smith M.M., Minson C.T.: Obesity and adipokines: effects on sympathetic overactivity. *J Physiol* 2012, 590, Pt 8, 1787-801.
44. Galic S., Oakhill J.S., Steinberg G.R.: Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol* 2010, 316, 2, 129-39.
45. Romacho T., Elsen M., Rohrborn D., Eckel J.: Adipose tissue and its role in organ crosstalk. *Acta Physiol (Oxf)* 2014, 210, 4, 733-53.
46. Weker H.: [Simple obesity in children. A study on the role of nutritional factors]. *Med Wieku Rozwoj* 2006, 10, 1, 3-191.
47. Manco M., Dallapiccola B.: Genetics of pediatric obesity. *Pediatrics* 2012, 130, 1, 123-33.
48. Farooqi S.: Insights from the genetics of severe childhood obesity. *Horm Res* 2007, 68 Suppl 5:5-7.
49. Farooqi I.S.: Monogenic human obesity. *Front Horm Res* 2008, 36:1-11.
50. Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M.: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994, 372, 6505, 425-32.
51. Falcao-Pires I., Castro-Chaves P., Miranda-Silva D., Lourenco A.P., Leite-Moreira A.F.: Physiological, pathological and potential therapeutic roles of adipokines. *Drug Discov Today* 2012, 17, 15-16, 880-9.
52. Rourke J.L., Dranse H.J., Sinal C.J.: Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease. *Obes Rev* 2013, 14, 3, 245-62.

53. Trayhurn P., Drevon C.A., Eckel J.: Secreted proteins from adipose tissue and skeletal muscle - adipokines, myokines and adipose/muscle cross-talk. *Arch Physiol Biochem* 2011, 117, 2, 47-56.
54. Eckel J.: Physiological studies of myokines and adipokines. *Obesity Facts* 2013, 6, Suppl. 1, 17.
55. Meder W., Wendland M., Busmann A., Kutzleb C., Spodsberg N., John H., Richter R., Schleuder D., Meyer M., Forssmann W.G.: Characterization of human circulating TIG2 as a ligand for the orphan receptor ChemR23. *FEBS Lett* 2003, 555, 3, 495-9.
56. Wittamer V., Franssen J.D., Vulcano M., Mirjolet J.F., Le P.E., Migeotte I., Brezillon S., Tyldesley R., Blanpain C., Detheux M., Mantovani A., Sozzani S., Vassart G., Parmentier M., Communi D.: Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *J Exp Med* 2003, 198, 7, 977-85.
57. Nagpal S., Patel S., Jacobe H., DiSepio D., Ghosn C., Malhotra M., Teng M., Duvic M., Chandraratna R.A.: Tazarotene-induced gene 2 (TIG2), a novel retinoid-responsive gene in skin. *J Invest Dermatol* 1997, 109, 1, 91-5.
58. Bondue B., Wittamer V., Parmentier M.: Chemerin and its receptors in leukocyte trafficking, inflammation and metabolism. *Cytokine Growth Factor Rev* 2011, 22, 5-6, 331-8.
59. Du X.Y., Zabel B.A., Myles T., Allen S.J., Handel T.M., Lee P.P., Butcher E.C., Leung L.L.: Regulation of chemerin bioactivity by plasma carboxypeptidase N, carboxypeptidase B (activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor), and platelets. *J Biol Chem* 2009, 284, 2, 751-8.
60. Ernst M.C., Sinal C.J.: Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 2010, 21, 11, 660-7.
61. Zabel B.A., Silverio A.M., Butcher E.C.: Chemokine-like receptor 1 expression and chemerin-directed chemotaxis distinguish plasmacytoid from myeloid dendritic cells in human blood. *J Immunol* 2005, 174, 1, 244-51.
62. Zabel B.A., Allen S.J., Kulig P., Allen J.A., Cichy J., Handel T.M., Butcher E.C.: Chemerin activation by serine proteases of the coagulation, fibrinolytic, and inflammatory cascades. *J Biol Chem* 2005, 280, 41, 34661-6.
63. Yamaguchi Y., Du X.Y., Zhao L., Morser J., Leung L.L.: Proteolytic cleavage of chemerin protein is necessary for activation to the active form, Chem157S, which functions as a signaling molecule in glioblastoma. *J Biol Chem* 2011, 286, 45, 39510-9.

64. Wittamer V., Bondue B., Guillabert A., Vassart G., Parmentier M., Communi D.: Neutrophil-mediated maturation of chemerin: a link between innate and adaptive immunity. *J Immunol* 2005, 175, 1, 487-93.
65. Zabel B.A., Ohyama T., Zuniga L., Kim J.Y., Johnston B., Allen S.J., Guido D.G., Handel T.M., Butcher E.C.: Chemokine-like receptor 1 expression by macrophages in vivo: regulation by TGF-beta and TLR ligands. *Exp Hematol* 2006, 34, 8, 1106-14.
66. Chyra A., Gawel K., Cichy J.: Chemeryna- nowy regulator procesów metabolicznych i odpornościowych . *Postępy biologii komórki* 2011, 38, 3, 407-21.
67. Mattern A., Zellmann T., Beck-Sickinger A.G.: Processing, signaling, and physiological function of chemerin. *IUBMB Life* 2014, 66, 1, 19-26.
68. Goralski K.B., McCarthy T.C., Hanniman E.A., Zabel B.A., Butcher E.C., Parlee S.D., Muruganandan S., Sinal C.J.: Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *J Biol Chem* 2007, 282, 38, 28175-88.
69. Issa M.E., Muruganandan S., Ernst M.C., Parlee S.D., Zabel B.A., Butcher E.C., Sinal C.J., Goralski K.B.: Chemokine-like receptor 1 regulates skeletal muscle cell myogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012, 302, 11, C1621-C1631.
70. Parolini S., Santoro A., Marcenaro E., Luini W., Massardi L., Facchetti F., Communi D., Parmentier M., Majorana A., Sironi M., Tabellini G., Moretta A., Sozzani S.: The role of chemerin in the colocalization of NK and dendritic cell subsets into inflamed tissues. *Blood* 2007, 109, 9, 3625-32.
71. Samson M., Edinger A.L., Stordeur P., Rucker J., Verhasselt V., Sharron M., Govaerts C., Mollereau C., Vassart G., Doms R.W., Parmentier M.: ChemR23, a putative chemoattractant receptor, is expressed in monocyte-derived dendritic cells and macrophages and is a coreceptor for SIV and some primary HIV-1 strains. *Eur J Immunol* 1998, 28, 5, 1689-700.
72. Watts S.W., Dorrance A.M., Penfold M.E., Rourke J.L., Sinal C.J., Seitz B., Sullivan T.J., Charvat T.T., Thompson J.M., Burnett R., Fink G.D.: Chemerin connects fat to arterial contraction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013, 33, 6, 1320-8.
73. Eisinger K., Bauer S., Schaffler A., Walter R., Neumann E., Buechler C., Muller-Ladner U., Frommer K.W.: Chemerin induces CCL2 and TLR4 in synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Exp Mol Pathol* 2012, 92, 1, 90-6.
74. Monnier J., Lewen S., O'Hara E., Huang K., Tu H., Butcher E.C., Zabel B.A.: Expression, regulation, and function of atypical chemerin receptor CCRL2 on endothelial cells. *J Immunol* 2012, 189, 2, 956-67.

75. Zabel B.A., Nakae S., Zuniga L., Kim J.Y., Ohyama T., Alt C., Pan J., Suto H., Soler D., Allen S.J., Handel T.M., Song C.H., Galli S.J., Butcher E.C.: Mast cell-expressed orphan receptor CCRL2 binds chemerin and is required for optimal induction of IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis. *J Exp Med* 2008, 205, 10, 2207-20.
76. Bozaoglu K., Bolton K., McMillan J., Zimmet P., Jowett J., Collier G., Walder K., Segal D.: Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology* 2007, 148, 10, 4687-94.
77. Kaur J., Adya R., Tan B.K., Chen J., Randeve H.S.: Identification of chemerin receptor (ChemR23) in human endothelial cells: chemerin-induced endothelial angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010, 391, 4, 1762-8.
78. Ernst M.C., Haidl I.D., Zuniga L.A., Dranse H.J., Rourke J.L., Zabel B.A., Butcher E.C., Sinal C.J.: Disruption of the chemokine-like receptor-1 (CMKLR1) gene is associated with reduced adiposity and glucose intolerance. *Endocrinology* 2012, 153, 2, 672-82.
79. Muruganandan S., Parlee S.D., Rourke J.L., Ernst M.C., Goralski K.B., Sinal C.J.: Chemerin, a novel peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) target gene that promotes mesenchymal stem cell adipogenesis. *J Biol Chem* 2011, 286, 27, 23982-95.
80. Roh S.G., Song S.H., Choi K.C., Katoh K., Wittamer V., Parmentier M., Sasaki S.: Chemerin--a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2007, 362, 4, 1013-8.
81. Sell H., Laurencikiene J., Taube A., Eckardt K., Cramer A., Horrichs A., Arner P., Eckel J.: Chemerin is a novel adipocyte-derived factor inducing insulin resistance in primary human skeletal muscle cells. *Diabetes* 2009, 58, 12, 2731-40.
82. Bozaoglu K., Segal D., Shields K.A., Cummings N., Curran J.E., Comuzzie A.G., Mahaney M.C., Rainwater D.L., VandeBerg J.L., MacCluer J.W., Collier G., Blangero J., Walder K., Jowett J.B.: Chemerin is associated with metabolic syndrome phenotypes in a Mexican-American population. *J Clin Endocrinol Metab* 2009, 94, 8, 3085-8.
83. Lehrke M., Becker A., Greif M., Stark R., Laubender R.P., von Z.F., Lebherz C., Tittus J., Reiser M., Becker C., Goke B., Leber A.W., Parhofer K.G., Broedl U.C.: Chemerin is associated with markers of inflammation and components of the metabolic syndrome but does not predict coronary atherosclerosis. *Eur J Endocrinol* 2009, 161, 2, 339-44.
84. Stejskal D., Karpisek M., Hanulova Z., Svestak M.: Chemerin is an independent marker of the metabolic syndrome in a Caucasian population--a pilot study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2008, 152, 2, 217-21.

85. Chamberland J.P., Berman R.L., Aronis K.N., Mantzoros C.S.: Chemerin is expressed mainly in pancreas and liver, is regulated by energy deprivation, and lacks day/night variation in humans. *Eur J Endocrinol* 2013, 169, 4, 453-62.
86. Ebert T., Roth I., Richter J., Tonjes A., Kralisch S., Lossner U., Kratzsch J., Bluher M., Stumvoll M., Fasshauer M.: Different associations of adipokines in lean and healthy adults. *Horm Metab Res* 2014, 46, 1, 41-7.
87. Landgraf K., Friebe D., Ullrich T., Kratzsch J., Dittrich K., Herberth G., Adams V., Kiess W., Erbs S., Korner A.: Chemerin as a mediator between obesity and vascular inflammation in children. *J Clin Endocrinol Metab* 2012, 97, 4, E556-E564.
88. Schipper H.S., Nuboer R., Prop S., van den Ham H.J., de Boer F.K., Kesmir C., Mombers I.M., van Bekkum K.A., Woudstra J., Kieft J.H., Hoefler I.E., de J.W., Prakken B., van S.M., Kalkhoven E.: Systemic inflammation in childhood obesity: circulating inflammatory mediators and activated CD14⁺⁺ monocytes. *Diabetologia* 2012, 55, 10, 2800-10.
89. Adrych K., Stojek M., Smoczynski M., Sledzinski T., Sylwia S.W., Swierczynski J.: Increased serum chemerin concentration in patients with chronic pancreatitis. *Dig Liver Dis* 2012, 44, 5, 393-7.
90. Duan D.M., Niu J.M., Lei Q., Lin X.H., Chen X.: Serum levels of the adipokine chemerin in preeclampsia. *J Perinat Med* 2011, 40, 2, 121-7.
91. Hu W., Feng P.: Elevated serum chemerin concentrations are associated with renal dysfunction in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2011, 91, 2, 159-63.
92. Kukla M., Zwirska-Korczala K., Gabriel A., Waluga M., Warakomska I., Szczygiel B., Berdowska A., Mazur W., Wozniak-Grygiel E., Kryczka W.: Chemerin, vaspin and insulin resistance in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2010, 17, 9, 661-7.
93. Kukla M., Mazur W., Buldak R.J., Zwirska-Korczala K.: Potential role of leptin, adiponectin and three novel adipokines--visfatin, chemerin and vaspin--in chronic hepatitis. *Mol Med* 2011, 17, 11-12, 1397-410.
94. Pfau D., Bachmann A., Lossner U., Kratzsch J., Bluher M., Stumvoll M., Fasshauer M.: Serum levels of the adipokine chemerin in relation to renal function. *Diabetes Care* 2010, 33, 1, 171-3.
95. Rutkowski P., Sledzinski T., Zielinska H., Lizakowski S., Goyke E., Szrok-Wojtkiewicz S., Swierczynski J., Rutkowski B.: Decrease of serum chemerin concentration in patients with end stage renal disease after successful kidney transplantation. *Regul Pept* 2012, 173, 1-3, 55-9.

96. Stepan H., Philipp A., Roth I., Kralisch S., Jank A., Schaarschmidt W., Lossner U., Kratzsch J., Bluher M., Stumvoll M., Fasshauer M.: Serum levels of the adipokine chemerin are increased in preeclampsia during and 6 months after pregnancy. *Regul Pept* 2011, 168, 1-3, 69-72.
97. Weigert J., Neumeier M., Wanninger J., Filarsky M., Bauer S., Wiest R., Farkas S., Scherer M.N., Schaffler A., Aslanidis C., Scholmerich J., Buechler C.: Systemic chemerin is related to inflammation rather than obesity in type 2 diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010, 72, 3, 342-8.
98. Weigert J., Obermeier F., Neumeier M., Wanninger J., Filarsky M., Bauer S., Aslanidis C., Rogler G., Ott C., Schaffler A., Scholmerich J., Buechler C.: Circulating levels of chemerin and adiponectin are higher in ulcerative colitis and chemerin is elevated in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010, 16, 4, 630-7.
99. Yamamoto T., Qureshi A.R., Anderstam B., Heimbürger O., Barany P., Lindholm B., Stenvinkel P., Axelsson J.: Clinical importance of an elevated circulating chemerin level in incident dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2010, 25, 12, 4017-23.
100. Yilmaz Y., Yonal O., Kurt R., Alahdab Y.O., Eren F., Ozdogan O., Celikel C.A., Imeryuz N., Kalayci C., Avsar E.: Serum levels of omentin, chemerin and adipsin in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol* 2011, 46, 1, 91-7.
101. Albanesi C., Scarponi C., Pallotta S., Daniele R., Bosisio D., Madonna S., Fortugno P., Gonzalvo-Feo S., Franssen J.D., Parmentier M., De P.O., Girolomoni G., Sozzani S.: Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment. *J Exp Med* 2009, 206, 1, 249-58.
102. Lande R., Gafa V., Serafini B., Giacomini E., Visconti A., Remoli M.E., Severa M., Parmentier M., Ristori G., Salvetti M., Aloisi F., Coccia E.M.: Plasmacytoid dendritic cells in multiple sclerosis: intracerebral recruitment and impaired maturation in response to interferon-beta. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008, 67, 5, 388-401.
103. Pachynski R.K., Zabel B.A., Kohrt H.E., Tejada N.M., Monnier J., Swanson C.D., Holzer A.K., Gentles A.J., Sperinde G.V., Edalati A., Hadeiba H.A., Alizadeh A.A., Butcher E.C.: The chemoattractant chemerin suppresses melanoma by recruiting natural killer cell antitumor defenses. *J Exp Med* 2012, 209, 8, 1427-35.
104. Vermi W., Riboldi E., Wittamer V., Gentili F., Luini W., Marrelli S., Vecchi A., Franssen J.D., Communi D., Massardi L., Sironi M., Mantovani A., Parmentier M., Facchetti F., Sozzani S.: Role of ChemR23 in directing the migration of myeloid and plasmacytoid dendritic cells to lymphoid organs and inflamed skin. *J Exp Med* 2005, 201, 4, 509-15.

105. Zhao L., Yamaguchi Y., Sharif S., Du X.Y., Song J.J., Lee D.M., Recht L.D., Robinson W.H., Morser J., Leung L.L.: Chemerin158K protein is the dominant chemerin isoform in synovial and cerebrospinal fluids but not in plasma. *J Biol Chem* 2011, 286, 45, 39520-7.
106. Berg V., Sveinbjornsson B., Bendiksen S., Brox J., Meknas K., Figenschau Y.: Human articular chondrocytes express ChemR23 and chemerin; ChemR23 promotes inflammatory signalling upon binding the ligand chemerin(21-157). *Arthritis Res Ther* 2010, 12, 6, R228.
107. Kaneko K., Miyabe Y., Takayasu A., Fukuda S., Miyabe C., Ebisawa M., Yokoyama W., Watanabe K., Imai T., Muramoto K., Terashima Y., Sugihara T., Matsushima K., Miyasaka N., Nanki T.: Chemerin activates fibroblast-like synoviocytes in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011, 13, 5, R158.
108. Catalan V., Gomez-Ambrosi J., Rodriguez A., Ramirez B., Rotellar F., Valenti V., Silva C., Gil M.J., Salvador J., Fruhbeck G.: Increased levels of chemerin and its receptor, chemokine-like receptor-1, in obesity are related to inflammation: tumor necrosis factor-alpha stimulates mRNA levels of chemerin in visceral adipocytes from obese patients. *Surg Obes Relat Dis* 2013, 9, 2, 306-14.
109. Maheshwari A., Kurundkar A.R., Shaik S.S., Kelly D.R., Hartman Y., Zhang W., Dimmitt R., Saeed S., Randolph D.A., Aprahamian C., Datta G., Ohls R.K.: Epithelial cells in fetal intestine produce chemerin to recruit macrophages. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009, 297, 1, G1-G10.
110. Parlee S.D., Ernst M.C., Muruganandan S., Sinal C.J., Goralski K.B.: Serum chemerin levels vary with time of day and are modified by obesity and tumor necrosis factor- α . *Endocrinology* 2010, 151, 6, 2590-602.
111. Cash J.L., Hart R., Russ A., Dixon J.P., Colledge W.H., Doran J., Hendrick A.G., Carlton M.B., Greaves D.R.: Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23. *J Exp Med* 2008, 205, 4, 767-75.
112. Bondue B., De H.O., Luangsay S., Devosse T., de N.P., Springael J.Y., Parmentier M., Vosters O.: The chemerin/ChemR23 system does not affect the pro-inflammatory response of mouse and human macrophages ex vivo. *PLoS One* 2012, 7, 6, e40043.
113. Yamawaki H., Kameshima S., Usui T., Okada M., Hara Y.: A novel adipocytokine, chemerin exerts anti-inflammatory roles in human vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012, 423, 1, 152-7.

114. Arita M., Bianchini F., Aliberti J., Sher A., Chiang N., Hong S., Yang R., Petasis N.A., Serhan C.N.: Stereochemical assignment, antiinflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator resolvin E1. *J Exp Med* 2005, 201, 5, 713-22.
115. Luangsay S., Wittamer V., Bondue B., De Henau O., Rouger L., Brait M., Franssen J.D., de Nadai P., Huaux F., Parmentier M.: Mouse ChemR23 is expressed in dendritic cell subsets and macrophages, and mediates an anti-inflammatory activity of chemerin in a lung disease model. *J Immunol* 2009, 183, 10, 6489-99.
116. Bondue B., Vosters O., de Nadai P., Glineur S., De Henau O., Luangsay S., Van Gool F., Communi D., De Vuyst P., Desmecht D., Parmentier M.: ChemR23 dampens lung inflammation and enhances anti-viral immunity in a mouse model of acute viral pneumonia. *PLoS Pathog* 2011, 7, 11, e1002358.
117. Cash J.L., Christian A.R., Greaves D.R.: Chemerin peptides promote phagocytosis in a ChemR23- and Syk-dependent manner. *J Immunol* 2010, 184, 9, 5315-24.
118. Shimamura K., Matsuda M., Miyamoto Y., Yoshimoto R., Seo T., Tokita S.: Identification of a stable chemerin analog with potent activity toward ChemR23. *Peptides* 2009, 30, 8, 1529-38.
119. Lumeng C.N., Saltiel A.R.: Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* 2011, 121, 6, 2111-7.
120. Sell H., Divoux A., Poitou C., Basdevant A., Bouilliot J.L., Bedossa P., Tordjman J., Eckel J., Clement K.: Chemerin correlates with markers for fatty liver in morbidly obese patients and strongly decreases after weight loss induced by bariatric surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2010, 95, 6, 2892-6.
121. Sledzinski T., Korczynska J., Hallmann A., Kaska L., Proczko-Markuszczyńska M., Stefaniak T., Sledzinski M., Swierczynski J.: The increase of serum chemerin concentration is mainly associated with the increase of body mass index in obese, non-diabetic subjects. *J Endocrinol Invest* 2013, 36, 6, 428-34.
122. Chakaroun R., Raschpichler M., Kloting N., Oberbach A., Flehmig G., Kern M., Schon M.R., Shang E., Lohmann T., Dressler M., Fasshauer M., Stumvoll M., Bluher M.: Effects of weight loss and exercise on chemerin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Metabolism* 2012, 61, 5, 706-14.
123. Feng X., Li P., Zhou C., Jia X., Kang J.: Elevated levels of serum chemerin in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Biomarkers* 2012, 17, 3, 248-53.

124. Shin H.Y., Lee D.C., Chu S.H., Jeon J.Y., Lee M.K., Im J.A., Lee J.W.: Chemerin levels are positively correlated with abdominal visceral fat accumulation. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012, 77, 1, 47-50.
125. Röss C., Tschoner A., Engl J., Klaus A., Tilg H., Ebenbichler C.F., Patsch J.R., Kaser S.: Effect of bariatric surgery on circulating chemerin levels. *Eur J Clin Invest* 2010, 40, 3, 277-80.
126. Terra X., Auguet T., Guiu-Jurado E., Berlanga A., Orellana-Gavaldà J.M., Hernandez M., Sabench F., Porrás J.A., Llutart J., Martínez S., Aguilar C., Del Castillo D., Richart C.: Long-term changes in leptin, chemerin and ghrelin levels following different bariatric surgery procedures: Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy. *Obes Surg* 2013, 23, 11, 1790-8.
127. Saremi A., Shavandi N., Parastesh M., Daneshmand H.: Twelve-week aerobic training decreases chemerin level and improves cardiometabolic risk factors in overweight and obese men. *Asian J Sports Med* 2010, 1, 3, 151-8.
128. Stefanov T., Bluher M., Vekova A., Bonova I., Tzvetkov S., Kurktschiev D., Temelkova-Kurktschiev T.: Circulating chemerin decreases in response to a combined strength and endurance training. *Endocrine* 2014, 45, 3, 382-91.
129. Kim S.H., Lee S.H., Ahn K.Y., Lee D.H., Suh Y.J., Cho S.G., Choi Y.J., Lee D.H., Lee S.Y., Hong S.B., Kim Y.S., Jeon J.Y., Nam M.: Effect of lifestyle modification on serum chemerin concentration and its association with insulin sensitivity in overweight and obese adults with type 2 diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014, 80, 6, 825-33.
130. Lee M.K., Chu S.H., Lee D.C., An K.Y., Park J.H., Kim D.I., Kim J., Hong S., Im J.A., Lee J.W., Jeon J.Y.: The association between chemerin and homeostasis assessment of insulin resistance at baseline and after weight reduction via lifestyle modifications in young obese adults. *Clin Chim Acta* 2013, 421, 109-15.
131. Bozaoglu K., Curran J.E., Stocker C.J., Zaibi M.S., Segal D., Konstantopoulos N., Morrison S., Carless M., Dyer T.D., Cole S.A., Goring H.H., Moses E.K., Walder K., Cawthorne M.A., Blangero J., Jowett J.B.: Chemerin, a novel adipokine in the regulation of angiogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 2010, 95, 5, 2476-85.
132. Brunetti L., Orlando G., Ferrante C., Recinella L., Leone S., Chiavaroli A., Di Nisio C., Shohreh R., Manippa F., Ricciuti A., Vacca M.: Peripheral chemerin administration modulates hypothalamic control of feeding. *Peptides* 2014, 51, 115-21.

133. Kralisch S., Weise S., Sommer G., Lipfert J., Lossner U., Bluher M., Stumvoll M., Fasshauer M.: Interleukin-1beta induces the novel adipokine chemerin in adipocytes in vitro. *Regul Pept* 2009, 154, 1-3, 102-6.
134. Gu P., Jiang W., Lu B., Shi Z.: Chemerin is associated with inflammatory markers and metabolic syndrome phenotypes in hypertension patients. *Clin Exp Hypertens* 2013.
135. Neves K.B., Lobato N.S., Lopes R.A., Filgueira F.P., Zanotto C.Z., Oliveira A.M., Tostes R.C.: Chemerin reduces vascular nitric oxide/cGMP signalling in rat aorta: a link to vascular dysfunction in obesity? *Clin Sci (Lond)* 2014, 127, 2, 111-22.
136. Kostopoulos C.G., Spiroglou S.G., Varakis J.N., Apostolakis E., Papadaki H.H.: Chemerin and CMKLR1 expression in human arteries and periadventitial fat: a possible role for local chemerin in atherosclerosis? *BMC Cardiovasc Disord* 2014, 14, 1, 56-14.
137. Aronis K.N., Sahin-Efe A., Chamberland J.P., Spiro A., III, Vokonas P., Mantzoros C.S.: Chemerin levels as predictor of acute coronary events: A case-control study nested within the veterans affairs normative aging study. *Metabolism* 2014, 63, 6, 760-6.
138. Takahashi M., Takahashi Y., Takahashi K., Zolotaryov F.N., Hong K.S., Kitazawa R., Iida K., Okimura Y., Kaji H., Kitazawa S., Kasuga M., Chihara K.: Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2008, 582, 5, 573-8.
139. Takahashi M., Okimura Y., Iguchi G., Nishizawa H., Yamamoto M., Suda K., Kitazawa R., Fujimoto W., Takahashi K., Zolotaryov F.N., Hong K.S., Kiyonari H., Abe T., Kaji H., Kitazawa S., Kasuga M., Chihara K., Takahashi Y.: Chemerin regulates beta-cell function in mice. *Sci Rep* 2011, 1,123.
140. Kloting N., Fasshauer M., Dietrich A., Kovacs P., Schon M.R., Kern M., Stumvoll M., Bluher M.: Insulin-sensitive obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010, 299, 3, E506-E515.
141. Ouwens D.M., Bekaert M., Lapauw B., Van N.Y., Lehr S., Hartwig S., Calders P., Kaufman J.M., Sell H., Eckel J., Ruige J.B.: Chemerin as biomarker for insulin sensitivity in males without typical characteristics of metabolic syndrome. *Arch Physiol Biochem* 2012, 118, 3, 135-8.
142. Tonjes A., Fasshauer M., Kratzsch J., Stumvoll M., Bluher M.: Adipokine pattern in subjects with impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in comparison to normal glucose tolerance and diabetes. *PLoS One* 2010, 5, 11, e13911.

143. Chu S.H., Lee M.K., Ahn K.Y., Im J.A., Park M.S., Lee D.C., Jeon J.Y., Lee J.W.: Chemerin and adiponectin contribute reciprocally to metabolic syndrome. *PLoS One* 2012, 7, 4, e34710.
144. Dong B., Ji W., Zhang Y.: Elevated serum chemerin levels are associated with the presence of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Intern Med* 2011, 50, 10, 1093-7.
145. Min J.L., Nicholson G., Halgrimsdottir I., Almstrup K., Petri A., Barrett A., Travers M., Rayner N.W., Magi R., Pettersson F.H., Broxholme J., Neville M.J., Wills Q.F., Cheeseman J., Allen M., Holmes C.C., Spector T.D., Fleckner J., McCarthy M.I., Karpe F., Lindgren C.M., Zondervan K.T.: Coexpression network analysis in abdominal and gluteal adipose tissue reveals regulatory genetic loci for metabolic syndrome and related phenotypes. *PLoS Genet* 2012, 8, 2, e1002505.
146. Yan Q., Zhang Y., Hong J., Gu W., Dai M., Shi J., Zhai Y., Wang W., Li X., Ning G.: The association of serum chemerin level with risk of coronary artery disease in Chinese adults. *Endocrine* 2012, 41, 2, 281-8.
147. Yang M., Yang G., Dong J., Liu Y., Zong H., Liu H., Boden G., Li L.: Elevated plasma levels of chemerin in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus with hypertension. *J Investig Med* 2010, 58, 7, 883-6.
148. Yoo H.J., Choi H.Y., Yang S.J., Kim H.Y., Seo J.A., Kim S.G., Kim N.H., Choi K.M., Choi D.S., Baik S.H.: Circulating chemerin level is independently correlated with arterial stiffness. *J Atheroscler Thromb* 2012, 19, 1, 59-66.
149. Gao X., Mi S., Zhang F., Gong F., Lai Y., Gao F., Zhang X., Wang L., Tao H.: Association of chemerin mRNA expression in human epicardial adipose tissue with coronary atherosclerosis. *Cardiovasc Diabetol* 2011, 10, 87.
150. Rhee E.J.: Chemerin: A Novel Link between Inflammation and Atherosclerosis? *Diabetes Metab J* 2011, 35, 3, 216-8.
151. Zakareia F.A.: Correlation of peripheral arterial blood flow with plasma chemerin and VEGF in diabetic peripheral vascular disease. *Biomark Med* 2012, 6, 1, 81-7.
152. Tan B.K., Chen J., Farhatullah S., Adya R., Kaur J., Heutling D., Lewandowski K.C., O'Hare J.P., Lehnert H., Randeve H.S.: Insulin and metformin regulate circulating and adipose tissue chemerin. *Diabetes* 2009, 58, 9, 1971-7.
153. Bauer S., Wanninger J., Schmidhofer S., Weigert J., Neumeier M., Dorn C., Hellerbrand C., Zimara N., Schaffler A., Aslanidis C., Buechler C.: Sterol regulatory element-

binding protein 2 (SREBP2) activation after excess triglyceride storage induces chemerin in hypertrophic adipocytes. *Endocrinology* 2011, 152, 1, 26-35.

154. Guzel E.C., Celik C., Abali R., Kucukyalcin V., Celik E., Guzel M., Yilmaz M.: Omentin and chemerin and their association with obesity in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2014, 30, 6, 419-22.

155. Korner A., Kratzsch J., Gausche R., Schaab M., Erbs S., Kiess W.: New predictors of the metabolic syndrome in children--role of adipocytokines. *Pediatr Res* 2007, 61, 6, 640-5.

156. Verrijn Stuart A.A., Schipper H.S., Tasdelen I., Egan D.A., Prakken B.J., Kalkhoven E., de Jager W.: Altered plasma adipokine levels and in vitro adipocyte differentiation in pediatric type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2012, 97, 2, 463-72.

157. <http://olaf.czd.pl/> 2014. Ref Type: Internet Communication

158. Roman A.A., Parlee S.D., Sinal C.J.: Chemerin: a potential endocrine link between obesity and type 2 diabetes. *Endocrine* 2012, 42, 2, 243-51.

159. Herenius M.M., Oliveira A.S., Wijbrandts C.A., Gerlag D.M., Tak P.P., Lebre M.C.: Anti-TNF therapy reduces serum levels of chemerin in rheumatoid arthritis: a new mechanism by which anti-TNF might reduce inflammation. *PLoS One* 2013, 8, 2, e57802.

160. Alfadda A.A.: Circulating Adipokines in Healthy versus Unhealthy Overweight and Obese Subjects. *Int J Endocrinol* 2014, 2014, 170434.

161. Schipper H.S., de Jager W., van Dijk M.E., Meerding J., Zelissen P.M., Adan R.A., Prakken B.J., Kalkhoven E.: A multiplex immunoassay for human adipokine profiling. *Clin Chem* 2010, 56, 8, 1320-8.

162. Schonbeck Y., Talma H., van Dommelen P., Bakker B., Buitendijk S.E., Hirasings R.A., van Buuren S.: Increase in prevalence of overweight in Dutch children and adolescents: a comparison of nationwide growth studies in 1980, 1997 and 2009. *PLoS One* 2011, 6, 11, e27608.

163. Yu S., Zhang Y., Li M.Z., Xu H., Wang Q., Song J., Lin P., Zhang L., Liu Q., Huang Q.X., Wang K., Hou W.K.: Chemerin and apelin are positively correlated with inflammation in obese type 2 diabetic patients. *Chin Med J (Engl)* 2012, 125, 19, 3440-4.

164. Ha Y.J., Kang E.J., Song J.S., Park Y.B., Lee S.K., Choi S.T.: Plasma chemerin levels in rheumatoid arthritis are correlated with disease activity rather than obesity. *Joint Bone Spine* 2014, 81, 2, 189-90.

165. Wang D., Yuan G.Y., Wang X.Z., Jia J., Di L.L., Yang L., Chen X., Qian F.F., Chen J.J.: Plasma chemerin level in metabolic syndrome. *Genet Mol Res* 2013, 12, 4, 5986-91.

166. Wang L.Y., Wei L., Yu H.Y., Zhang Y., Jia W.P.: [Relationship of serum Chemerin to obesity and type 2 diabetes mellitus]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2009, 89, 4, 235-8.
167. Marzuillo P., Del Giudice E.M., Santoro N.: Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: New insights and future directions. *World J Hepatol* 2014, 6, 4, 217-25.
168. Schwimmer J.B., Dunn W., Norman G.J., Pardee P.E., Middleton M.S., Kerkar N., Sirlin C.B.: SAFETY study: alanine aminotransferase cutoff values are set too high for reliable detection of pediatric chronic liver disease. *Gastroenterology* 2010, 138, 4, 1357-64, 1364.
169. Krautbauer S., Wanninger J., Eisinger K., Hader Y., Beck M., Kopp A., Schmid A., Weiss T.S., Dorn C., Buechler C.: Chemerin is highly expressed in hepatocytes and is induced in non-alcoholic steatohepatitis liver. *Exp Mol Pathol* 2013, 95, 2, 199-205.
170. Docke S., Lock J.F., Birkenfeld A.L., Hoppe S., Lieske S., Rieger A., Raschzok N., Sauer I.M., Florian S., Osterhoff M.A., Heller R., Herrmann K., Lindenmuller S., Horn P., Bauer M., Weickert M.O., Neuhaus P., Stockmann M., Mohlig M., Pfeiffer A.F., von Loeffelholz C.: Elevated hepatic chemerin mRNA expression in human non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol* 2013, 169, 5, 547-57.
171. Ernst M.C., Issa M., Goralski K.B., Sinal C.J.: Chemerin exacerbates glucose intolerance in mouse models of obesity and diabetes. *Endocrinology* 2010, 151, 5, 1998-2007.