

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Studijní program: Doktorské studium biomedicíny 1. LF UK

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Judita Klímová

Úloha tukové tkáně v rozvoji inzulinorezistence a dalších metabolických změn u nemocných
s feochromocytomem

The role adipose tissue in development of insulin resistance and other metabolic disorders in
patients with pheochromocytoma

Disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Ondřej Petrák, Ph.D

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 15.12.2020

Judita Klímová

Podpis

Poděkování:

Chtěla bych na tomto místě poděkovat doc. MUDr. Ondřejovi Petrákovi, Ph.D za trpělivé vedení mé disertační práce, cenné rady a odborný dohled. Dále bych chtěla poděkovat všem spolupracovníkům z odborné hypertenziologické skupiny III. interní kliniky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze za odborné rady a předané zkušenosti. Dále děkuji kolektivu III. interní kliniky, bez kterých by tato práce nevznikla, a mojí rodině za podporu ve studiu.

Identifikační záznam:

KLÍMOVÁ, Judita. Úloha tukové tkáně v rozvoji inzulinorezistence a dalších metabolických změn u nemocných s feochromocytomem. [The role adipose tissue in development of insulin resistance and other metabolic disorders in patients with pheochromocytoma]. Praha, 2020. 86 s., 0 příl. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, III. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze. Školitel doc. MUDr. Ondřej Petrák, Ph.D.

Abstrakt

Feochromocytomy a funkční paragangliomy (PPGL) jsou vzácné neuroendokrinní tumory charakteristické nadprodukcí katecholaminů, která může vést mj. k poruchám glukózového, lipidového a energetického metabolismu. Role tukové tkáně v těchto procesech zůstává nejasná. Naším cílem bylo stanovit profil genové exprese v subkutánní a viscerální tukové tkáni pacientů s PPGL se zaměřením na endokrinní funkce tukové tkáně, výskyt hnědé (BAT) a béžové tukové tkáně (BeAT), vše v souvislosti s dalšími měřeními metabolickými a energetickými parametry a hladinami cirkulujících adipokinů.

Ve vzorcích retroperitoneální VAT pacientů s PPGL jsme prokázali známky UCP1-mediované noradrenalinem indukované termogeneze s vyšší expresí *DIO2* a klíčových transkripčních faktorů adipogeneze BAT/BeAT (*PPARGC1A*, *CEBPB* a *PRDM16*). VAT pacientů s PPGL neodpovídala na základě použitých markerů jednoznačně BAT ani BeAT. V subkutánní tukové tkáni (SAT) pacientů s PPGL jsme našli známky transformace v BeAT, ale bez známek současně probíhající UCP1-mediované termogeneze.

Dále jsme prokázali, že pacienti s PPGL mají vyšší cirkulující hladiny FGF21 ve srovnání s kontrolami a po adrenalectomii dochází k jejich poklesu. Zvýšené hladiny FGF21 byly zvláště evidentní u pacientů s DM a byly pozitivně spojené s hladinami glykémie na lačno a BMI u těchto pacientů. Důsledky elevace FGF21 u pacientů s PPGL jsou nejasné. Nemůžeme jasně určit, zdali jsou zvýšené hodnoty důsledkem kontroverzní "FGF21 rezistence" nebo zdali má FGF21 specifický metabolický efekt. Domníváme se, že hladiny FGF21 u pacientů s PPGL jsou biologicky signifikantní a odráží metabolické abnormality asociované s diabetem mellitus a metabolickým syndromem. Spojení mezi sérovými hladinami FGF21 či expresí UCP1 s hypermetabolismem jsme nenašli. Současně rozšiřujeme možnosti endokrinní funkce termogenní tukové tkáně o působení adiponektinu a visfatinu.

Nenašli jsme změny v cirkulujících hladinách rezistinu, lipokalinu 2, PAI-1 a adipsinu u pacientů s PPGL.

Klíčová slova: feochromocytom, funkční paragangliom, hnědá tuková tkáň, béžová tuková tkáň, energetický metabolismus, metabolismus glukózy, adipokiny, FGF21, genová exprese

Abstract

Pheochromocytoma and functional paraganglioma (PPGL) are rare neuroendocrine tumors characterized by catecholamines overproduction, which give a rise to disorders of glucose, lipid, and energy metabolism. The role of adipose tissue in these processes remains unclear. Our aim was to determine the gene expression profile in subcutaneous and visceral adipose tissue of patients with PPGL focusing on endocrine functions of adipose tissue, occurrence of brown (BAT) and beige adipose tissue (BeAT), all in connection with other measured metabolic and energy parameters and levels of circulating adipokines.

We demonstrate signs of UCP1-dependent norepinephrine induced thermogenesis connected with overexpression of *DIO2* in retroperitoneal VAT of PPGL and higher expression of key transcriptional factors of brown/beige adipogenesis, namely *PPARGC1 α* , *CEBPB* and *PRDM16*. However, classic murine BAT or BeAT gene signature in VAT of PPGL was not detected. In subcutaneous adipose tissue (SAT) of PPGL we found signs of possible BeAT transformation, however without simultaneously undergoing UCP1-dependent thermogenesis.

We also demonstrate that patients with PPGL have higher serum levels of FGF21 compared to healthy controls and these levels do not differ from obese patients. Furthermore, successful tumor removal decreased significantly FGF21 levels. Elevated FGF21 levels were more evident in patients with secondary diabetes mellitus and were related positively to fasting glucose levels and BMI in PPGL. The consequences of the elevation of FGF21 in PPGL are unclear. We cannot identify from our work whether the elevation of FGF21 is the result of a controversial FGF21 resistance or whether FGF21 has some biological effect. We assume, that elevated levels of FGF21 in patients with PPGL are biologically significant and reflect metabolic abnormalities associated with diabetes mellitus and obesity. We did not find a relationship between FGF21 or UCP1 expression and hypermetabolic state in PPGL.

We also extend possible endocrine functions of BAT/BeAT of hormone adiponectin and visfatin. We did not find difference in circulating levels of resistin, lipocalin 2, PAI-1 and adipsin in patients with PPGL.

Key words: pheochromocytoma, functional paraganglioma, brown adipose tissue, beige adipose tissue, energy metabolism, glucose metabolism, adipokines, FGF21, gene expression

Obsah

Úvod	1
1. Feochromocytomy a funkční paragangliomy	1
1.1. Katecholaminy – syntéza a degradace	1
Obrázek 1: Katecholaminy – syntéza a degradace	3
1.2. Katecholaminy a jejich receptory	3
Tabulka 1: Adrenergní receptory, lokalizace, účinky.....	4
1.3. Klinický obraz	5
Tabulka 2: Příznaky pacientů s PPGL	6
1.4. Diagnostika.....	8
1.5. Terapie	8
2. Energetický metabolismus a termoregulace	9
3. Tuková tkáň.....	10
3.1. Subkutánní tuková tkáň.....	10
3.2. Viscerální tuková tkáň	10
3.3. Ektopická tuková tkáň.....	11
Obrázek 2: Lokalizace různých typů tukové tkáně	11
3.4. Bílá tuková tkáň.....	11
3.5. Hnědá tuková tkáň	12
Obrázek 3: Aktivace UCP1.....	13
3.6. Běžová tuková tkáň.....	14
4. Výskyt hnědé tukové tkáně u dospělých.....	14
5. Výskyt hnědé tukové tkáně u pacientů s PPGL	15
6. Adipogeneze, transkripční faktory a specifické markery	18
6.1. PRDM16	19
6.2. PPAR γ	20
6.3. Pgc-1 α	20

6.4. c/EBP β	21
6.5. DIO2	21
6.6. CIDEA	21
6.7. Genové markery.....	22
Obrázek 4: Shrnutí rozdílů mezi běžovou a hnědou tukovou tkání	22
7. Endokrinní funkce tukové tkáně	23
7.1. Leptin	23
7.2. Adiponektin.....	24
7.3. Visfatin.....	24
7.4. Rezistin.....	25
7.5. FGF21	25
7.6. Další adipokiny – NGAL, Adipsin, PAI-1	26
Cíle práce a hypotézy	27
Metodika	29
1. Design studie.....	29
2. Antropometrická měření, laboratorní metody a odběry vzorků tukové tkáně	29
3. Nepřímá kalorimetrie.....	30
4. Stanovení mRNA exprese kvantitativní polymerázovou řetězovou reakcí	31
5. Statistická analýza	32
Výsledky	33
Tuková tkáň.....	33
1. Základní charakteristiky skupin	33
Tabulka 3: Klinické a metabolické charakteristiky skupin.....	34
2. Rozdíl v expresi genů VAT a SAT pacientů s PPGL ve srovnání s kontrolami.....	35
Tabulka 4: mRNA exprese genů potenciálně spojených s BAT a BeAT	36
3. Analýza genové exprese u pacientů s PPGL.....	37
Tabulka 5: Korelační analýza mezi mRNA expresí vybraných genů	37

Tabulka 6: Korelační analýza mezi mRNA expresí <i>UCPI</i> a vybraných genů	38
Graf 1: Korelační analýza	38
4. Endokrinní funkce tukové tkáně	39
Tabulka 7: mRNA exprese především genů adipokinů a jejich receptorů	40
Tabulka 8: Korelační analýza mezi mRNA expresí vybraných genů	40
Diskuse	41
Tuková tkáň.....	41
Výsledky	46
FGF21	46
1. Základní charakteristiky skupin	46
Tabulka 9: Základní charakteristiky skupin.....	47
2. Efekt adrenalectomie u pacientů s PPGL	48
Tabulka 10: Pacienti s PPGL před a rok po operaci.....	49
3. Hladiny FGF21 a jeho korelace	50
Tabulka 11: Korelace mezi hladinami FGF21 a vybranými faktory.....	51
Tabulka 12: Hladiny FGF21 u jednotlivých komponent metabolické syndromu.....	52
Graf 2: Korelace hladin FGF21 a vybraných faktorů u pacientů s PPGL	52
4. Hladiny dalších vybraných adipokinů	53
Tabulka 13: Sérové hladiny dalších adipokinů u pacientů s PPGL	53
Diskuse	54
FGF21	54
Další adipokiny	55
Závěr.....	57
Souhrn/Summary.....	58
Seznam použitých zkratk	62
Seznam použité literatury	65
Publikace autora	77

Úvod

1. Feochromocytomy a funkční paragangliomy

Feochromocytomy a funkční paragangliomy (PPGL) jsou vzácné neuroendokrinní nádory vycházející z chromafinních buněk dřeně nadledvin nebo sympatických ganglií hrudníku, břicha nebo pánve (Lenders, Eisenhofer et al. 2005). Tyto nádory jsou charakteristické svojí schopností syntetizovat, metabolizovat a většinou i uvolňovat jeden nebo více katecholaminů (adrenalin, noradrenalin, dopamin). Paragangliomy vycházející z parasympatických ganglií hlavy a krku, sloužící především jako chemoreceptory a baroreceptory, jsou většinou sekrečně němé a do této práce zahrnuty nebyly.

PPGL je onemocnění vzácné, jeho prevalence se pohybuje v rozmezí 0,1 až 0,5 % všech pacientů s arteriální hypertenzí a incidence bývá uváděna zhruba 0,8 na 100 000 osob/rok (Beard, Sheps et al. 1983). Frekvence výskytu v rámci incidentalomů nadledvin je u feochromocytomu uváděna v rozmezí mezi 11 až 23 % (Lee, Kim et al. 2017). Vyskytují se v jakémkoliv věku, sporadické formy nejčastěji mezi 40. a 50. rokem života, a postihují stejně často muže i ženy (Lenders, Eisenhofer et al. 2005). Relativně často se PPGL vyskytují v rámci genetických syndromů (zhruba 30–40 %) (Fishbein 2019). Chromafinní buňky popsal poprvé v letech 1989-1902 Albert Kohn, profesor Německé univerzity a přednosta Histologického ústavu Univerzity Karlovy v Praze, který byl mj. nominován na Nobelovu cenu za svou práci na příštítných tělískách. První operace feochromocytomu byla provedena v Evropě roku 1926 C. Rouxem a v USA Ch. Mayem v roce 1927.

Katecholaminy hrají za fyziologických podmínek zásadní roli ve všeobecném adaptačním syndromu. Aktivace sympatického nervového systému a vyplavení katecholaminů z dřeně nadledvin je součástí první (poplachové) reakce na stresový faktor. Katecholaminy jsou během ní uvolňovány jednak cestou vláken vegetativního nervového systému (z gangliových neuronů na periférii), jednak vyplavením z dřeně nadledvin (upraveno dle (Silbernagl 2016)). Účinek pak závisí na vazbě katecholaminů s cílovými receptory, které jsou α -adrenergní, β -adrenergní a dopaminergní. Výsledný efekt také závisí na množství a zastoupení jednotlivých receptorů, jejich afinitě a na množství a poměru jednotlivých uvolňovaných katecholaminů.

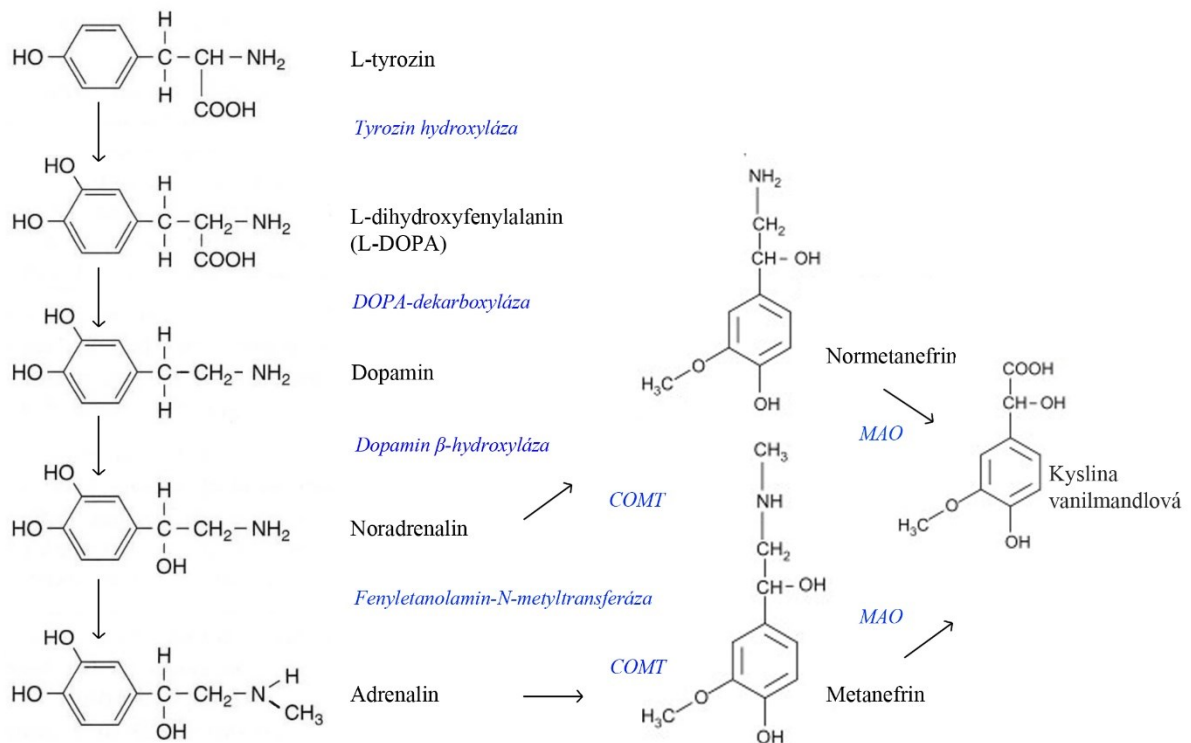
1.1. Katecholaminy – syntéza a degradace

Katecholaminy jsou biogenní aminy. Jejich jádro představuje 3,4-dihydroxyfenyl (katechol) – benzenový kruh s dvěma hydroxylovými skupinami, a postranní řetězec s aminovou skupinou. Syntéza se odehrává v postgangliových vláknech sympatického nervového

systemu, chromafinních buňkách dřeně nadledvin a ve specifických oblastech mozku (dále upraveno dle (Nagatsu 2007) a (Pacak 2011)). Syntéza začíná v cytosolu hydroxylací aminokyseliny tyrozinu enzymem tyrozinhydroxylázou na L-3,4-dihydroxyfenylalanin (L-DOPA). Dále probíhá dekarboxylace většiny L-DOPY na dopamin pomocí enzymu dekarboxylázy aromatických aminokyselin. Pokud buňka již dalšími enzymy řetězce nedisponuje, syntéza končí a výsledným produktem zůstává dopamin (dopaminergní dráhy v mozku, vegetativní vlákna směřující do ledvin). V dalším kroku dochází k hydroxylaci postranního řetězce dopaminu enzymem dopamin- β -hydroxylázou. Vzniká tak noradrenalin. Ten představuje neurotransmitter sympatiku a noradrenergních drah v centrálním nervovém systému. Ve dřeni nadledvin (a v některých skupinách neuronů v mozkovém kmeni) za pomoci enzymu fenyletanolamin N-metyltransferázy probíhá methylace noradrenalinu za vzniku adrenalinu. V dřeni nadledvin je zhruba 75 % vzniklého noradrenalinu konvertováno na adrenalin. Katecholaminy jsou ukládány do sekrečních váčků. Tyto váčky obsahují také chromogranin, který se využívá jako marker neuroendokrinních tumorů, dále ATP a biologicky aktivní peptidy. Váčky se uvolňují procesem exocytózy.

Katecholaminy mají biologický poločas několik minut (dále upraveno dle (Nagatsu 2007) a (Pacak 2011)). Degradaci mají na starosti především dva enzymy – monoaminoxidáza (MAO) a katechol-O-methyl transferáza (COMT). MAO působí deaminaci noradrenalinu a adrenalinu na 3,4-dihydroxyfenyl-glykolaldehyd (DOPEGAL). Aldehydová dehydrogenáza přeměňuje DOPEGAL na 3,4-dihydroxymetamfetamin (DHMA). Aldehydová reduktáza mění DOPEGAL na 3,4-dihydroxy fenyl glykol (DHPG). Enzym aldózová reduktáza přeměňuje DOPEGAL taktéž na DHPG. DHPG je pak enzymem COMT konvertován na vanylglykol (MHPG) a ten na vanilmandlovou kyselinu (VMA) – konečný produkt degradace adrenalinu a noradrenalinu. Enzym COMT také katalyzuje přeměnu noradrenalinu na normetanefrin a adrenalinu na metanefrin, které jsou pak MAO přeměněny na VMA. Enzymy MAO i COMT se nachází uvnitř chromafinních buněk, přičemž aktivita COMT je dominantní. VMA je eliminována ledvinami.

Obrázek 1: Katecholaminy – syntéza a degradace



Zkratky: COMT, katechol-O-methyl transferáza; MAO, monoaminoxidáza

1.2. Katecholaminy a jejich receptory

Katecholaminy jsou neurotransmitery a zároveň typické hormony s endokrinní aktivitou. Účinky noradrenalinu, adrenalinu a dopaminu jsou zprostředkované vazbou na adrenergní receptory. Adrenergní receptory patří mezi transmembránové receptory spřažené s G-proteiny, regulačními proteiny lokalizovanými na vnitřní straně cytoplazmatické membrány schopnými vázat guanosinové nukleotidy. Adrenergní receptory se dělí na α -adrenergní (α_1 , α_2), β -adrenergní (β_1 , β_2 , β_3) a dopaminergní (D1-5). Dále byly identifikovány subtypy – α_1A , α_1B , α_1C , α_1D a α_2A , α_2B , α_2C (Akinaga, Garcia-Sainz et al. 2019).

G-proteiny jsou tvořeny třemi podjednotkami (α , β , γ). Pokud váže α -podjednotka GTP je v aktivním stavu, pokud GDP, je v neaktivním stavu. Výměna GDP za GTP aktivuje další signální cestu. Existuje několik typů G-proteinů (dále upraveno dle (Silbernagl 2016)). Receptory α_1 jsou spřaženy s Gq-proteinem, který aktivuje s fosfolipázu C a tím tvorbu druhých poslů inozitoltrifosfátu (IP3) a diacylglycerolu (DAG). Receptory α_2 jsou spřažené s inhibičním Gi-proteinem, který inhibuje aktivitu adenylátcyklázy a tím druhého posla cAMP. Receptory β jsou spřaženy se stimulačními Gs-receptory, které zvyšují aktivitu adenylátcyklázy a tím koncentraci cAMP.

Takřka všechny tkáně a buňky mají receptory pro katecholaminy. Jejich lokalizace a účinky jsou shrnuty v Tabulce 1. α_1 -receptory jsou postsynaptické, jejich stimulace vyvolává především vazokonstrikci a zvýšení krevního tlaku. Část α_2 -receptorů je umístěna presynapticky a inhibují sekreci noradrenalinu, část α_2 -receptorů je umístěna postsynapticky a způsobují vazokonstrikci (Pacak 2011). Stimulace β_1 -receptorů zvyšuje srdeční frekvenci a srdeční výdej. Stimulace β_2 -receptorů vyvolává bronchodilataci a vazodilataci např. v kosterním svalstvu (Pacak 2011). Adrenalin stimuluje obecně více β_2 -receptory a α -receptory než noradrenalin. Noradrenalin zase stimuluje výrazněji β_1 -receptory.

Tabulka 1: Adrenergí receptory, lokalizace, účinky

Umístění	Efektor	Typ receptoru	Efekt
Duhovka	M. dilatator pupillae	α_1	Kontrakce
	M. constrictor pupillae	β_2	Relaxace
Srdce	SA uzel	β_1, β_2	↑ Srdeční frekvence
	AV uzel	β_1, β_2	↑ Rychlost vedení, automacie
	Síně	β_1, β_2	↑ Kontrakce a rychlost vedení
	Komory	β_1, β_2	↑ Kontrakce, rychlost vedení
Arterioly	Koronární	$\alpha_1, \alpha_2, \beta_2$	Konstrikce i dilatace
	Kůže a sliznice	α_1, α_2	Konstrikce
	Kosterní sval	α, β_2	Konstrikce i dilatace
	CNS	α_1	Mírná konstrikce
	Plíce	α_1, β_2	Konstrikce i dilatace
	Abdominální	α_1, β_2	Především konstrikce
	Slinné	α_1, α_2	Konstrikce
	Ledvinné	$\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$	Především konstrikce
	Cévy	$\alpha_1, \alpha_2, \beta_2$	Konstrikce i dilatace
Plíce	Svalovina	β_2	Relaxace
	Žlázy	α_1, β_2	Zvýšená a snížená sekrece
Žaludek	Motilita	$\alpha_1, \alpha_2, \beta_2$	↓
	Sfinktery	α_1	Kontrakce
	Sekrece	$\alpha_2?$	Inhibice
Střevo	Motilita	$\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$	↓
	Sfinktery	α_1	Kontrakce
	Sekrece	α_2	Inhibice
Žlučník		β_2	Relaxace
Ledviny	Sekrece reninu	α_1, β_1	především ↑
Močový měchýř	Detrusor	β_2	Relaxace

	Sfinkter	$\alpha 1$	Kontrakce
Děloha	Těhotenství	$\alpha 1$	Kontrakce
	Netěhotné	$\beta 2$	Relaxace
Reprodukce		$\alpha 1$	Ejakulace
Kůže	Svaly	$\alpha 1$	Kontrakce
	Potní žlázy	$\alpha 1$	↑ Lokalizovaná sekrece
Nadledviny			↑ Sekrece katecholaminů
Kosterní sval		$\beta 2$	↑ Kontraktilita
Játra		$\alpha 1, \beta 2$	↑ Glykogenolýza a glukoneogeneze
Pankreas	aciny	α	↓ Sekrece
	β -buňky	$\alpha 2$	↓ Sekrece
		$\beta 2$	↑ Sekrece

Upraveno dle (Pacak 2011)

1.3. Klinický obraz

Nadprodukce katecholaminů vede u pacientů s PPGL k široké škále obtíží, hemodynamických a metabolických odchylek. Klinický obraz se vyvíjí závisle na typu uvolňovaného katecholaminu, jeho množství a způsobu sekrece. Dle toho rozlišujeme tři typy biochemických fenotypů (adrenergní, noradrenergní a dopaminergní). Typ katecholaminu a jeho množství závisí na enzymové výbavě nádoru, a to i na vybavení degradačních enzymů. Trvalá sekrece katecholaminů na rozdíl od paroxysmální umožňuje down-regulaci adrenoreceptorů. Paroxysmální sekrece se proto projevuje výraznějšími, taktéž paroxysmálními obtížemi. Paroxysmy mohou být vyvolány stresovým podnětem, stejně tak farmakologicky. Jejich četnost je individuální, od několika paroxysmů denně do jedno za půl roku. Nejčastěji vyskytujícími se příznaky jsou bolesti hlavy, pocení a palpitace. Extra-adrenální PPGL produkují dominantně noradrenalin, zatímco u adrenálních převládá adrenalin. Hlavní příznaky PPGL jsou shrnuty v Tabulce 2. Metabolické důsledky nadprodukce katecholaminů budou probrány v dalších odstavcích. Arteriální hypertenze je u pacientů s PPGL spíše lehká, může být spojena s paroxysmálními výkyvy a často bez poklesu v nočních hodinách (tzv. non-dipping či reverzní dipping).

Tabulka 2: Příznaky pacientů s PPGL

Příznaky	Procento (%)	Znaky	Procento (%)
Bolesti hlavy	70-90	Hypertenze	
Palpitace	50-70	trvalá	50-60
Pocení	60-70	paroxysmální	50
Anxieta	20	Hypotenze	12
Nervozita	35-45	Zblednutí	30-60
Bolesti na hrudi/břicha	20-50	Návaly horka	18
Nauzea	26-43	Horečka	až 66
Únava	15-40	Hyperglykémie	42
Dyspnoe	11-19	Zvracení	26-43
Závratě	3-11	Křeče	3-5
Intolerance horka	13-15		
Parestezie	až 11		
Poruchy zraku	3-21		
Zácpa	10		
Průjem	6		

Upraveno dle (Lenders, Eisenhofer et al. 2005)

Jako první z metabolických abnormalit u pacientů s PPGL můžeme uvést ztrátu tělesné hmotnosti nezávisle na příjmu potravy či pohybové aktivitě. Nárůst tělesné hmotnosti u pacientů po úspěšném odstranění nádoru byl pozorován již v roce 1942 (McCullagh and Engel 1942). Zvětšení tukových zásob pooperačně bylo prokázáno jak v subkutánní, tak viscerální tukové tkáni (Okamura, Nakajima et al. 2015, Wang, Zhang et al. 2015). Y. An publikoval v roce 2018 studii, ve které zkoumal 210 pacientů s feochromocytomem. V této skupině pacientů koreloval odpad celkových katecholaminů do moči negativně s BMI a pozitivně s přírůstkem na váze, kterého pacienti dosáhli pooperačně (An, Reimann et al. 2019). A. Spyroglou našel podobnou korelaci mezi koncentracemi močového noradrenalinu a přírůstkem na váze pooperačně (Spyroglou, Adolf et al. 2017). Hubnutí nebo nepřibírání na váze při současné hyperfagii u pacientů s PPGL je způsobeno vyšším energetickým výdejem (Engelman, Mueller et al. 1964, Petrák, Haluzíková et al. 2013). Na něm se podílí jednak procesy glykogenolýzy a lipolýzy, dále pak prozánětlivý stav spojený s nadprodukcí interleukinu 1 (IL-1), interleukinu 6 (IL-6) a tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF- α) (Bošanská, Petrák et al. 2009). Aktivace hnědé tukové tkáně jako jeden z mechanismů hypermetabolismu zůstává diskutabilní a je náplní této práce.

Další z metabolických odchylek vyskytující se u pacientů s PPGL je porucha metabolismu glukózy. Výskyt poruch metabolismu glukózy u pacientů s PPGL je uváděn mezi 35 a 70 % v závislosti na studii (Stenstrom, Sjostrom et al. 1984, Ilias and Pacak 2009). Feochromocytom, jako sekundární příčina diabetes mellitus (DM), je zařazen ve WHO klasifikaci. Vymizení nebo zlepšení kompenzace DM je spojeno s úspěšným odstraněním nádoru. Katecholaminy, dominantně adrenalin, způsobují hyperglykémii působením na své specifické receptory v pankreatu a játrech (Mesmar, Poola-Kella et al. 2017):

- 1) Předpokládá se, že v pankreatu pomocí $\alpha 2$ -receptorů inhibují inzulínovou sekreci a přes β -receptory stimulují sekreci glukagonu.
- 2) V játrech adrenalin stimuluje glykogenolýzu a glukoneogenezi pomocí $\beta 2$ -receptorů. Tento proces je posílen nabídkou nesacharidových látek, které vznikají procesem glykolýzy ve svazech a lipolýzou v bílé tukové tkáni.
- 3) $\beta 2$ -adrenergní stimulace zvyšuje inzulínovou rezistenci v kosterních svazech.

Snížená sekrece inzulínu postprandiálně byla prokázána u pacientů s PPGL v několika studiích (Wilber, Turtle et al. 1966, Colwell 1969, Vance, Buchanan et al. 1969, Ishii, Inoue et al. 2001). V některých studiích bylo pozorováno zlepšení inzulínové sekrece po zahájení terapie alfa-blokátory, ale jen malý efekt byl pozorován po přidání beta-blokátorů (Colwell 1969, Turnbull, Johnston et al. 1980). Výsledky stran inzulínové rezistence u pacientů s PPGL při počítání ISI (insulin sensitivity index) byly u pacientů s PPGL různorodé. E. Diamanti-Kandarakis a T.D. Wiesner prokázali zlepšení inzulínové senzitivity po operaci u pacientů s PPGL (Diamanti-Kandarakis, Zapanti et al. 2003, Wiesner, Bluher et al. 2003), zatímco např. H. Komada při podobné metodice ke stejným výsledkům nedošel (Komada, Hirota et al. 2017).

Některé studie také pozorovaly snížené hladiny adiponektinu, hormonu, u kterého se předpokládá, že by mohl zvyšovat inzulínovou senzitivitu (Elenkova, Matrozova et al. 2010, Okauchi, Ishibashi et al. 2018). Opačné výsledky však byly publikovány jinými autory (Isobe, Fu et al. 2009). Podobně nejednoznačné výsledky byly publikovány s leptinem, dalším známým adipokinem s potenciálně inzulín senzitivizujícími účinky (Bottner, Eisenhofer et al. 1999, Bošanská, Petrák et al. 2009).

Na adipocytech najdeme všech 5 subtypů adrenoreceptorů. Nejznámějším efektem katecholaminů na adipocyty je spuštění procesu lipolýzy. Elevace volných mastných kyselin u pacientů s PPGL byla publikována (Spergel, Bleicher et al. 1968, Brooks, Guha et al. 1969), ale ne potvrzena všemi studiemi (Komada, Hirota et al. 2017). Změny v hladinách LDL nebo triglyceridů nebyly u pacientů s PPGL publikovány. Co se týče hladin HDL, opět protichůdné

výsledky byly publikovány s převahou vyšších hladin HDL předoperačně u této skupiny pacientů (Pedersen, Bak et al. 1999).

1.4. Diagnostika

Doporučení stran diagnostiky, terapie a dalšího sledování vycházejí z guidelines J.W.M. Lenderse s poslední aktualizací v roce 2020.

Zlatým standardem v diagnostice jsou stále volné metanefriny v plazmě nebo frakciované metanefriny ve sběru moči. Tímto způsobem měříme produkty metabolismu katecholaminů vznikajících v nádoru, nezávisle na jejich současném uvolňování do krevního oběhu. Volné metanefriny v plazmě měříme kapalinovou chromatografií s elektrochemickou detekcí. Krev je pacientům odebírána ze zavedené kanyly, vleže, po 20 minutách v klidu a po předchozích několikadenních dietních opatřeních. Z funkčních testů se nejvíce užívá supresní klonidinový test.

Zobrazovací metodou první volby zůstává CT břicha a pánve s podáním kontrastní látky. Pro feochromocytom je typická nativní denzita tumoru vyšší než 10 HU (Hounsfieldových jednotek). Na základě doporučení Evropské společnosti nukleární medicíny z roku 2019 (Taieb, Hicks et al. 2019) je v případě paragangliomu či feochromocytomu nad 4 cm doporučeno vyšetření PET/CT nejlépe s 18F-FDOPA (fluorodihydroxy-fenylalanine) či Ga-68 DOTATE s vysokou selektivitou k somatostatinovým receptorům 2. typu, bohužel zatím v ČR nedostupné. Dříve často využívaný SPECT s užitím 123I-MIBG (metaiodobenzylguanidine) dnes slouží již jen terapeuticky. Volba zobrazovací metody taktéž závisí na lokalizaci tumoru a genetickém pozadí.

1.5. Terapie

Léčebnou metodou zůstává chirurgické odstranění nádoru. Před operací je doporučeno podávání α -blokátorů minimálně 7 dní, s možným přidáním β -blokátorů k ovlivnění tachykardie. Laparoskopická adrenalektomie je preferována při malých neinvazivních tumorech nadledvin (do 6 cm). U některých paragangliomů bývá preferována otevřená operace. Pooperačně je důležitý monitoring krevního tlaku, srdeční frekvence, glykémie a event. hypokortikalismu při operaci nadledvin. V případě bilaterálního postižení nadledvin lze volit tzv. adrenal sparing surgery, tedy metodu zachovávající kůru nadledviny. Sledování ve specializovaných centrech je dále samozřejmostí s ročními, event. půlročními odstupy nejméně 10 let od operace. Při metastatickém postižením přichází v úvahu operační redukce nádorové masy, chemoterapie nebo paliativní terapie MIBG.

2. Energetický metabolismus a termoregulace

Řízení energetického metabolismu souvisí s regulací příjmu potravy, regulací tělesné váhy a regulací tělesné teploty (upraveno dle (Trojan 2003)). Energetická rovnováha je založena na principu, že spotřeba energie je rovna energii přijaté. Všechny buňky našeho těla spotřebovávají energii, avšak u některých je spotřeba velmi variabilní, např. práce kosterního svalstva při fyzické aktivitě. energii neumí organismus tvořit, jen přeměnit z jedné formy na jinou. Přijatá energie pochází jednak z potravy, jednak z našich energetických zásob, které představuje především tuková tkáň. Spotřeba energie je hrazena v přijímané stravě základními živinami (bílkovinami, cukry a tuky). Metabolismus pak převádí chemickou energii živin pomocí oxidace do makroergních vazeb. Teplo je pak vedlejším produktem metabolismu. Vyšší příjem energie, především ve formě tuků, než její výdej a následná expanze tukové tkáně, je etiopatogenetickým základem pro vznik obezity – onemocnění, které nyní dosahuje charakteru pandemie.

Bazální metabolismus (basal metabolic rate, BMR) je takové množství energie vydané v klidu a vleže, v teplotně neutrálním prostředí a při normální tělesné teplotě a po 12 hodinách lačnění. Výdej energie v tomto stavu je dán pouze fungováním životně důležitých orgánů. Tato hodnota se mění podle pohlaví, věku, tělesné hmotnosti a výšky. Nejčastěji k jejímu výpočtu využíváme Harris-Benedictovu rovnici (Frankenfield, Muth et al. 1998). Klidový energetický výdej (resting energy expenditure, REE) je veličina měřena nejčastěji v klinických studiích metodou nepřímé kalorimetrie. Za pomoci přístroje měříme spotřebu kyslíku a vydechovaného oxidu uhličitého po určitou dobu. REE je pak vypočítán za pomoci výpočtu respiračního kvocientu (RQ). Na metabolickém obratu se tedy uplatňuje bazální energetický výdej, energetický výdej kosterního svalstva při práci a přijímaná potrava (mluvíme o tzv. termogenním efektu potravy – nárocích, které mají jednotlivé živiny na jejich vstřebávání, trávení a ukládání) (upraveno dle (Silbernagl 2016)).

Člověk je tvor teplokrevný, schopný zajistit teplotu svého jádra na úkor metabolických dějů. Teplotu jádra zajišťuje udržováním rovnováhy mezi tvorbou a spotřebou tepla. V klidu je teplo v největší míře produkováno vnitřními orgány, při práci pak nastupuje kosterní svalstvo. V případě chladné periferie má tělo několik možností, jak zareagovat. Metabolické navýšení tepelné produkce je jednou z nich. Třesová termogeneze je založena na opakovaných svalových kontrakcích zprostředkovaných eferentními svalovými vlákny. Netřesová termogeneze je lokalizována do hnědé tukové tkáně, kde po lipolýze speciální proteiny lokalizované na vnitřní membráně mitochondrií odpojí dýchací řetězec od produkce ATP, místo toho dojde k produkci

tepla. Mezi stimuly k tomuto ději patří i vysoko-kalorická strava. Tento jev byl dlouho popisován jako výsada hibernujících zvířat a novorozenců (upraveno dle (Silbernagl 2016)).

Jedním z mechanismů, jak při obezitě indukované vyšším kalorickým příjmem dosáhnout opět rovnováhy, je zvýšení energetického výdeje. Toho lze nejlépe dosáhnout zvýšením tělesné aktivity. Zvýšení energetického výdeje cestou aktivace hnědé tukové tkáně je jedním z terapeutických cílů u obezity. Nejlákavější představou zůstává situace, kdy aktivovaná hnědá tuková tkáň bude schopna spálit všechny nadměrně přijaté kalorie ve formě tepla bez nutnosti zvýšení tělesné aktivity.

3. Tuková tkáň

Tuková tkáň patří mezi vazivové tkáně. Je tvořena adipocyty, endoteliálními buňkami, fibroblasty a buňkami imunitního systému. Dle lokalizace rozlišujeme subkutánní, viscerální a ektopickou tukovou tkáň. Další dělení se týká základního stavebního kamene tkáně – tukové buňky (adipocytu). Rozlišujeme tukovou tkáň bílou, béžovou a hnědou, dle některých zdrojů navíc růžovou a žlutou (Giordano, Smorlesi et al. 2014, Zwick, Guerrero-Juarez et al. 2018).

3.1. Subkutánní tuková tkáň

Subkutánní tuková tkáň (subcutaneous adipose tissue, SAT) tvoří zhruba 80 % celkové masy tuku v těle. Je lokalizovaná především ve femorogluteální oblasti, na zádech a na přední stěně břišní. Jejím hlavním úkolem je ukládání energie ve formě triglyceridů a slouží jako první štít při vysoko kalorické stravě spojené s nedostatečnou tělesnou aktivitou (Ibrahim 2010). Ve chvíli, kdy je kapacita této tkáně u daného jedince překročena, tuk se začíná hromadit v jiných orgánech. Adipocyty SAT jsou v průměru menší a více senzitivní k účinkům inzulínu (Ibrahim 2010). Inervace i krevní zásobením SAT je chudší než u viscerální tukové tkáně (Ibrahim 2010).

3.2. Viscerální tuková tkáň

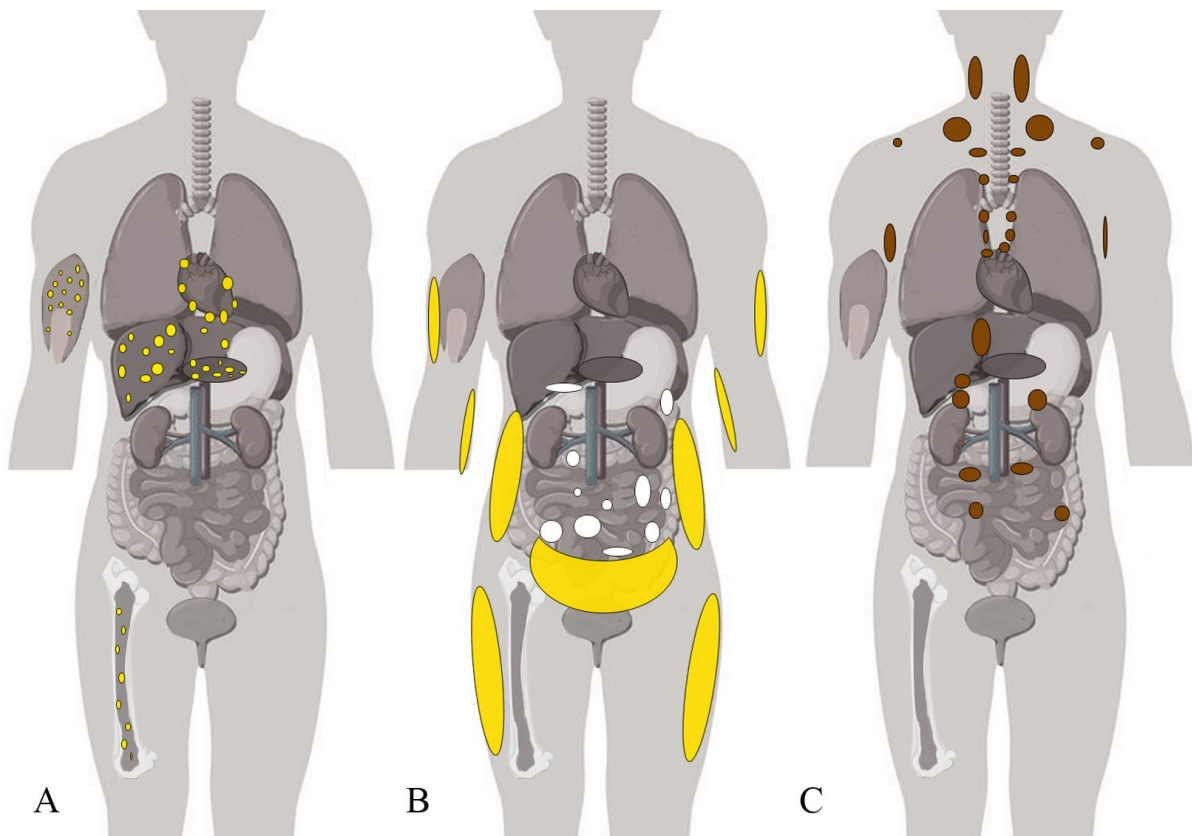
Viscerální tuková tkáň (visceral adipose tissue, VAT) obaluje vnitřní orgány, je metabolicky aktivnější a krev z ní je odváděna přímo do portální žíly a do jater. Játra jsou tak přímo vystavena látkám endokrinně uvolňovanými adipocyty, stejně tak jako objemné náloži volných mastných kyselin (VMK). Těmito mechanismy dochází k podpoře prozánětlivých imunitních reakcí v játrech (Ibrahim 2010). Adipocyty VAT jsou v průměru větší a mají sníženou senzitivitu k inzulínu. Expanze VAT je tak spojena s většími metabolickými komplikacemi a chronickým zánětlivým stavem (Shuster, Patlas et al. 2012). Je rozdílná i endokrinní funkce obou tkání – VAT produkuje více adiponektinu a méně leptinu. Adipocyty VAT mají také vyšší senzitivitu ke katecholaminy-indukované lipolýze. β 3-receptory a

α 2-receptory VAT mají také vyšší senzitivu ke katecholaminům než receptory adipocytů v SAT (Hellmer, Marcus et al. 1992). Hustota β 3-receptorů je vyšší ve VAT než SAT (Arner, Hellstrom et al. 1990, Krief, Lonnqvist et al. 1993).

3.3. Ektopická tuková tkáň

Ektopickou tukovou tkání rozumíme ukládání triglyceridů tam, kde žádné tukové buňky by být neměly nebo se fyziologicky nacházejí jen v minimálním množství. Nejčastěji se toto ektopické ukládání týká jater, perikardu, myokardu a kosterní svalové tkáně. Tyto procesy pak narušují funkce jednotlivých orgánů a ovlivňují i orgány vzdálené.

Obrázek 2: Lokalizace různých typů tukové tkáně



A: Ektopická tuková tkáň ve svalech, kostní dřeni, pankreatu, játrech a epikardu

B: Subkutánní (žlutě) a viscerální (bíle) tuková tkáň

C: Hnědá tuková tkáň cervikálně, supraklavikulárně, axilárně, paravertebrálně, paraaortálně, suprarenálně a intraabdominálně

3.4. Bílá tuková tkáň

Bílá tuková tkáň (white adipose tissue, WAT) je potenciálně široce expandibilní orgán a jeden z největších endokrinních orgánů v lidském těle (Zwick, Guerrero-Juarez et al. 2018). Jako endokrinní orgán zasahuje do celkového energetického a glukózového metabolismu,

reguluje příjem potravy a zasahuje do imunologických dějů. Je obecně známo, že její morfologie se mění při obezitě a s ní spojených onemocněních. Zdravý muž a žena mají v těle zhruba 10 až 15 kg bílé tukové tkáně, což tvoří 10 až 20 % celkové hmotnosti těla u mužů a 20 až 30 % u žen. Adipocyt WAT obsahuje velkou tukovou kapénku, která vytlačuje jádro na okraj a je chudý na mitochondrie (Wronska and Kmiec 2012).

3.5. Hnědá tuková tkáň

Hnědá tuková tkáň (brown adipose tissue, BAT) je metabolicky vysoce aktivní tkáň se schopností přeměnit chemickou energii získanou z lipolýzy na teplo v procesech nazývaných chladem a dietou indukovaná termogeneze. BAT byla poprvé popsána švýcarským lékařem K. Gessnerem v roce 1551 u hibernujících hlodavců (Cannon and Nedergaard 2008). Poprvé byla BAT u dospělých lidí popsána v roce 1670 (Kristensen 1985). Podobná tkáň byla následně popsána u lidského fétu a novorozenců s tendencí mizet v průběhu stárnutí (Aherne and Hull 1966). Až do roku 2002 převládal všeobecný názor, že u dospělého jedince se BAT v signifikantním množství nevyskytuje vůbec. Až rutinní rozšíření pozitronové emisní tomografie využívající fluorodeoxyglukózu spojené s počítačovou tomografií (18F-FDG-PET/CT) v onkologii umožnilo detekci BAT (Engel, Steinert et al. 1996). Nicméně už v 90. letech byly publikovány studie, které poukazyvaly na symetrické vychytávání FDG v oblasti krku a lopatek dospělých jedinců (Barrington and Maisey 1996). Následně byly buňky s histologickou skladbou BAT nalezeny u dospělých v oblasti krku, mediastina, axily, paravertebrální a retroperitoneálně (Heaton 1972, Paidisetty and Blodgett 2009).

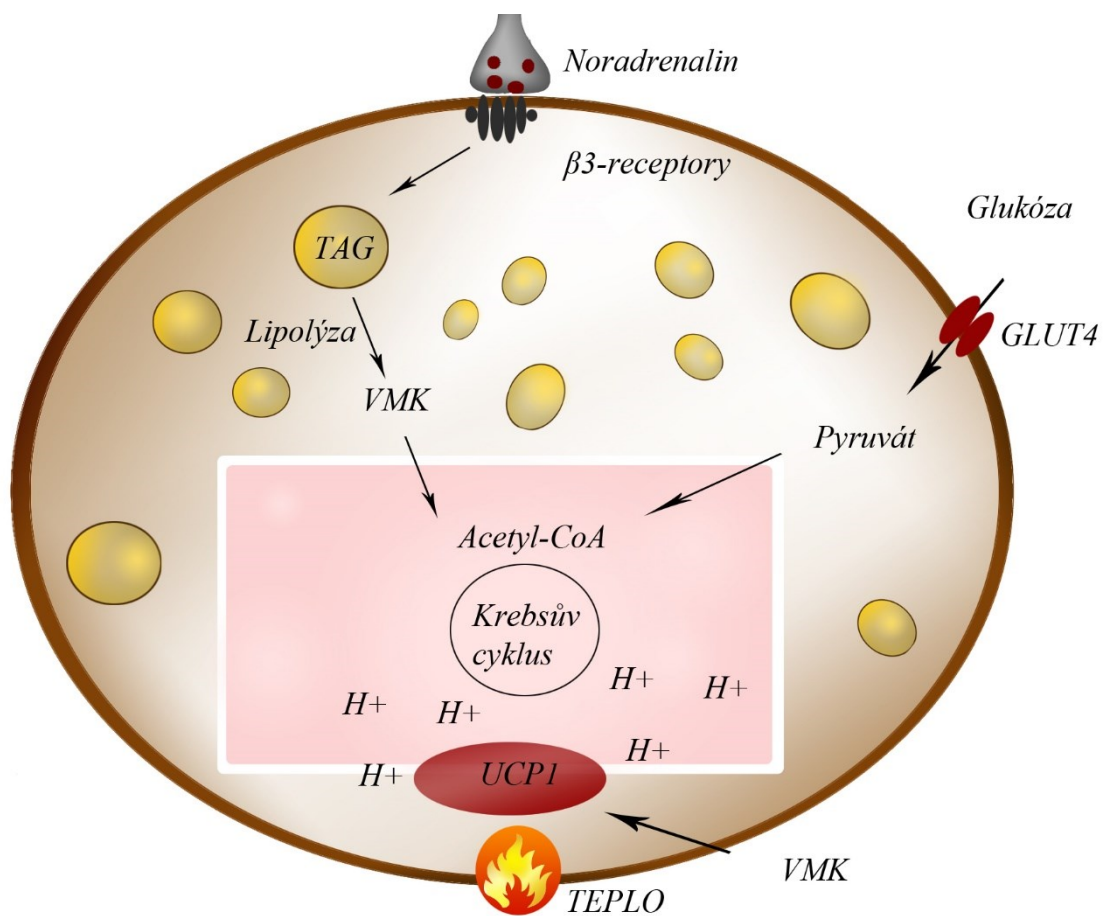
Na rozdíl od bílé tukové tkáně tvoří BAT adipocyty bohaté na mitochondrie a mnohočetné lipidové kapénky, jádro je lokalizováno do středu buňky (Ikeda, Maretich et al. 2018). BAT je hustě vaskularizována a inervována vlákny sympatického nervového systému. Na studiích s hlodavci bylo prokázáno, že tato tkáň vychází ze stejných progenitorů jako pruhované svalstvo a Myf-5 je specifickým markerem pro obě tyto linie (Ikeda, Maretich et al. 2018).

Pro BAT je charakteristická přítomnost mitochondriálního Uncoupling proteinu 1 (UCP1) proteinu, který slouží jako mediátor netřesové termogeneze. Na zvířecích modelech způsobuje ztráta UCP1 genu intoleranci chladu (Enerback, Jacobsson et al. 1997) a obezitu u myši (Feldmann, Golozoubova et al. 2009). Transgenní exprese UCP1 ve WAT naopak snižuje tělesnou hmotnost (Kopecky, Clarke et al. 1995), zatímco odstranění BAT nebo její inaktivace vede k rozvoji obezity a souvisejících onemocnění opět u myši populace (Lowell, V et al. 1993, Bachman, Dhillon et al. 2002). Uncoupling proteiny (UCPs) jsou transmembránové proteiny mitochondrií. Proces netřesové termogeneze začíná navázáním noradrenalinu, uvolněného z

nervových sympatických zakončení, na β 3-adrenoreceptory. To aktivuje reakce vedoucí k aktivaci protein kinázy A pomocí cyklického adenosinmonofosfátu a vedoucího k uvolnění volných mastných kyselin z triglyceridů pomocí lipázy. Volné mastné kyseliny poté aktivují UCP1. UCP1 zabrání mitochondriím v produkci ATP a místo toho energii získanou oxidací volných mastných kyselin uvolní jako teplo (Cannon and Nedergaard 2004). Teplo je pak cirkulací vedeno po těle. Kromě chladu a potravy zvyšuje expresi UCP1 mnoho jiných stimulů. Jejich seznam se stále rozšiřuje a nyní čítá několik desítek položek.

N. J. Rothwell a M. J. Stock před 3 dekádami učinili hypotézu, že 20 % celkového klidového energetického výdeje by mohlo být přičítáno 50 g maximálně stimulované BAT (Rothwell and Stock 1983). K. A. Virtanen hypotézoval, že 63 g plně aktivované BAT dokáže spálit přibližně 4,1 kg tukové tkáně za rok (Virtanen, Lidell et al. 2009). V. Ouellet spočítala, že průměrně bez stimulace chladem mohou muži a ženy aktivovat do 24 g resp. 42 g BAT (Ouellet, Routhier-Labadie et al. 2011).

Obrázek 3: Aktivace UCP1



Zkratky: GLUT4, glukózový transportér 4; TAG, triacylglyceroly; Acetyl-CoA, acetylkoenzym A; UCP1, uncoupling protein 1

3.6. Běžová tuková tkáň

Dalším typem tukové tkáně, kterou najdeme u dospělých v podobě ostrůvků ve WAT je tzv. běžová tuková tkáň (breite, beige, inducible adipose tissue, BeAT), která také exprimuje UCP1 a může být indukována chladem nebo stimulací agonisty β 3-adrenoreceptorů. Adipocyt BeAT obsahuje menší množství mitochondrií než adipocyt BAT, ale více než adipocyt WAT (Ikeda, Maretich et al. 2018). Stejně tak obsahuje více malých tukových kapének, ale jejich množství nedosahuje charakteru adipocytu BAT. Bílá tuková tkáň je derivována z Myf-5 negativních prekursorů, které se na základě různých stimulů mohou diferencovat v běžový fenotyp (Lee, Swarbrick et al. 2013). Oproti tomu Cinti s kolegy vyjádřili hypotézu, že specifický stimulus může vyvolat transdiferenciaci adipocytu WAT i ve funkčně zralou BAT (Lee, Swarbrick et al. 2013). Q. A. Wang naopak demonstroval, že běžové adipocyty objevující se ve WAT jsou derivovány s větší pravděpodobností z jiných specifických prekursorů než z bílých adipocytů (Wang, Tao et al. 2013).

4. Výskyt hnědé tukové tkáně u dospělých

V roce 2011 publikovala V. Ouellet z Kanadského institutu pro výzkum zdraví a obezity v Qubecku retrospektivní studii zaměřenou na faktory ovlivňující prevalenci BAT, její celkovou hmotu a vychytávání glukózy na 18F-FDG PET/CT (Ouellet, Routhier-Labadie et al. 2011). Zaměřili se na cervikální, mediastinální, paravertebrální a perirenální oblasti. Zkoumala vliv mj. venkovní teploty, pohlaví, věku, BMI, glykémie, DM, délky dne a výskytu rakoviny. Pacienti lačnili 4 hodiny, po injekci 18F-FDG seděli v pokoji o teplotě 24°C. Indikace k vyšetření byla většinou onkologická. Bylo prozkoumáno 6652 snímků od 4842 pacientů, u kterých byla BAT zobrazena v 328 případech (tzv. 6,8 %). Pokud měli pacienti 2 snímky, do studie byl zahrnut jen jeden.

Prevalence BAT byla negativně asociovaná s venkovní teplotou, věkem, BMI a výskytem DM. Hmotu BAT a vychytávání glukózy se také lišila v závislosti na venkovní teplotě, věku a BMI. Byla menší u mužů než u žen a u pacientů s DM než u nediabetiků. Zhruba polovina pacientů měla aktivní nádorovou chorobu – jejich zastoupení se však nelišilo mezi BAT+/- pacienty. Největší pravděpodobnost pozorovat BAT byla v únoru, nejmenší v červnu. Studie naznačovala, že je důležitější teplota v den, kdy bylo vyšetření prováděno než dlouhodobá teplota v dané sezóně. BAT byla aktivní více u žen, ale s věkem tento rozdíl mizel. Data dále ukázala, že oblasti cervikální, supracervikální a paravertebrální jsou nejvíce frekventované ve výskytu BAT. Dále studie ukázala, že pokud je BAT prokázána v perirenální nebo mediastinální oblasti, jistě je přítomna i v cervikální, supracervikální či paravertebrální oblasti.

Retroperitoneálním výskytem BAT se zabýval i Y. Tanuma. Ten v roce 1975 uveřejnil výsledky pitev obecné populace, kdy prokázal BAT u 92 % resp. 72 subjektů (Tanuma, Tamamoto et al. 1975). V roce 1985 publikoval S. Cunningham studii se zaměřením na prevalenci BAT u dospělých (Cunningham, Leslie et al. 1985). Jako vzorek byla použita biopsie z perirenální oblasti 22 subjektů ve věku 3 až 74 let. Patnáct osob byli živí dárci operovaní pro různé patologie, u zbylých sedmi byly odebrány vzorky post mortem do 18 hodin od smrti. Nikdo z nich nebyl obézní. Mezi vyšetřovanými byl také pacient s feochromocytomem. BAT byla prokázána u většiny dospělých pod, méně pak u těch nad 50 let (Cunningham, Leslie et al. 1985).

Jiná studie převážně s 18F-FDG PET/CT sledovala 33 žen s rakovinou prsu, které byly 5x vyšetřeny během léčby (Rousseau, Bourbouloux et al. 2006). U 6 žen ani jednou nebyla BAT zobrazena, ale jen u jedné ženy se BAT zobrazila pokaždé z pěti vyšetření. Z této studie by vyplývalo, že prevalence BAT je 80 % (Rousseau, Bourbouloux et al. 2006). Tato studie ukazuje také zajímavost, že nemůžeme jediné zobrazovací měření považovat za plně dostatečné ke stanovení prevalence BAT.

5. Výskyt hnědé tukové tkáně u pacientů s PPGL

Do roku 2002 patřily PPGL k jednomu ze tří patologických stavů společně s hibernomem a nádorovou kachexií (Leiphart and Nudelman 1970) spojených s výskytem metabolicky signifikantního množství BAT u dospělých. Poprvé publikoval popis tukové tkáně odpovídající BAT u pacienta s PPGL rakouský patolog F. Feyrter v roce 1947. Nejdříve zkoumal vzorek z lumbální oblasti získaný biopsií od pacienta suspektního pro PPGL. Při pitvě, která následovala několik měsíců později, byl histologicky potvrzený jak feochromocytom, tak "multilokulární tuková tkáň". Feyrter přišel také s hypotézou, že katecholaminy hrají důležitou roli v metabolismu a přeměně hnědé tukové tkáně.

M. Melicow, expert na malignity urologického traktu, publikoval v roce 1957 studii, kde zkoumal vztah mezi feochromocytomem a incidencí hnědého tuku, který tehdy nazýval "hibernujícím tukem" (Melicow 1957). Prokázal hnědou tukovou tkáň v perikapsulární oblasti tumoru ale ne nikde jinde u 16 z 18 pacientů s feochromocytomem. U ostatních tumorů vycházející z nadledviny podobné změny v tukové tkáni nezaznamenal. Tkáň popisoval jako "zpeněnou" a jádra buněk popsal jako malá s centrálním postavením.

V roce 1964 publikoval kanadský patolog G. Rona kazuistiku dvou žen, které zemřely časně po adrenalectomii pro feochromocytom (Rona 1964). Při pitvě první pacientky byla nalezena čtyři tělíška o velikosti 2,0 až 5,0 cm, verifikována jako feochromocytomy a dále dvě podlouhlé

mahagonově zbarvené masy tkáně přiléhající na epikard. Pouzdro ledviny bylo tvořeno hnědou tkání připomínající tkáň v epikardu. Podobné nálezy byly učiněny v pojivové tkáni v oblasti nadledvin a paraaortálně. Celková hmotnost této hnědé tukové tkáně v břišní dutině tvořila 1500 g. V jiných lokacích, jako např. v subkutánní tukové tkáni nebo v kostní dřeni, byla nalezena pouze bílá tuková tkáň klasického vzhledu. Při pitvě druhé ženy byla objevena dvě hnědě zbarvená ložiska, první těsně naléhající na abdominální aortu a další na dolním pólu levé nadledviny vážící 18 g. V jiné lokalizaci podobná abnormalita nalezena nebyla.

V roce 1982 zkoumali D. Ricquier, M. Nechad a G. Mory v Paříži neurohormonální determinanty buněčného růstu, diferenciaci a mitochondriálního vývoje BAT. Reagovali tak na článek P. Huttunena a kolegů, kteří detekovali aktivity mitochondriálních enzymů v multilokulární tukové tkáni mužů pracujících venku v severním Finsku. Francouzští autoři použili dvě populace myší, z nichž jedné byly vpraveny buňky feochromocytomu a za 3-8 týdnů byly odebrány vzorky z interskapulární oblasti. Druhá skupina myší byla vystavena chladové stimulaci a vzorky byly odebrány ze stejného místa. U obou skupin bylo pozorováno zvětšení objemu BAT, ačkoliv menší u skupiny vystavené chladu. U myší s buňkami feochromocytomu byla pozorována silná vazodilatace, zvýšené procento bílkovin a fosfolipidů, alterace lipidů, zvýšení mitochondriálních proteinů a nárůst tzv. 32,000-dalton uncoupling proteinu (Ricquier, Mory et al. 1983).

Na základě tohoto pozorování publikovali autoři v roce 1982 studii, kde stanovili biochemická a morfologická kritéria pro BAT. O nejzajímavější molekule, 32000-Mr uncoupling proteinu, zveřejnili F. Bouillaud, M. Combes-George a D. Ricquier článek v roce 1983 v *Bioscience Reports* (Bouillaud, Combes-George et al. 1983). Prokázali, že mitochondriální membrány BAT dospělých jedinců obsahují 32000-Mr uncoupling protein, který odpovídá uncoupling proteinu BAT hlodavců. Došli tak ke stejnému výsledku jako J.M. Heaton a kolegové. Obě skupiny vycházely z premisy, že "uncoupling – odpražení" (jakožto základní akt netřesové termogeneze) může být indukováno přidáním purinových nukleotidů jako GDP, ADP, GTP a ATP a tím kvantifikováno. Vytvořili tak marker BAT u dospělých. Dalším krokem byla izolování DNA sondy k lidskému UCP. To se povedlo skupině vědců v roce 1988 (Bouillaud, Villarroya et al. 1988). Sonda byla poprvé použita k detekci mRNA lidského UCP u pacientů s PPGL a hibernomem. Byla tak potvrzena specificita UCP1 pro BAT a objeven nástroj pro detekci BAT v lidském těle.

Prevalence BAT u pacientů s PPGL se liší v závislosti na studii. V roce 1985 publikoval L. J. Medeiros s kolegy v časopise *Human Pathology* studii zahrnující 60 pacientů s feochromocytomem, ve které srovnávali prevalenci BAT u těchto pacientů a kontrolní skupiny.

Výsledná prevalence byla 53,4, resp. 50,9 % (Medeiros, Katsas et al. 1985). Studii uzavřeli s tím, že přítomnost BAT v periadrenální oblasti u pacientů s PPGL je běžná, ale neliší se od zdravých lidí a dá se tedy považovat za koincidence. V roce 1986 publikoval M. E. Lean s kolegy výsledky studie, kde přítomnost UCP1 proteinu byla zvýšena u pacientů s PPGL ve srovnání s případy náhlého úmrtí, novorozenci, dětmi a to nejen v blízkosti tumoru, ale i ve vzdálených oblastech (Lean, James et al. 1986). V roce 2007 publikoval M. Hadi s kolegy v *Journal of the Nuclear Medicine* retrospektivní studii 96 pacientů s PPGL, kteří podstoupili 18F-F-DA či 18F-FDG PET/CT, příp. 123I-MIBG. BAT byla nalezena u 17,9 %. Z 83 pacientů, kteří podstoupili vyšetření s 18F-FDG, 19,2% mělo nález odpovídající BAT. Celkem u 26 pacientů (27,0 %) z 96 pacientů zahrnutých do studie byla prokázána BAT minimálně jednou ze tří modalit (Hadi, Chen et al. 2007). Podobný výsledek prokázal T. Puar, který u 21 ze 73 (28,8 %) pacientů s PPGL popsal aktivní BAT pomocí 18F-FDG PET/CT bez ohledu na typ mutace (Puar, van Berkel et al. 2016).

V roce 2013 publikoval M. Betz s kolegy studii jejímž cílem bylo stanovit prevalenci BAT retroperitoneálně u dospělých jedinců. Vzorky retroperitoneální tukové tkáně byly odebrány 57 pacientům, kteří podstoupili adrenalectomii pro benigní tumor. Jednalo se o nefunkční adenomy, 32 aldosteron-produkujících adenomů, 9 kortizol-produkujících adenomů a 8 feochromocytomů. UCP1 byl prokázán metodou Western blot PCR analýzou u 26 vzorků (tedy 45,6 %). Rozdíly u jednotlivých typů nádorů signifikantní nebyly, pravděpodobně kvůli malému počtu vzorků v jednotlivých skupinách. U feochromocytomu byla BAT prokázána u 5 vzorků z 8 (tzv. 62,5 %). Dále byla prokázána signifikantně vyšší koncentrace dalších "hnědých" genů u UCP1 pozitivních vzorků. Prevalence BAT mírně korelovala s věkem a venkovní teplotou. Prevalence BAT se nelišila signifikantně dle pohlaví, BMI, přítomnosti DM nebo hormonu, který byl produkovaný tumorem (Betz, Slawik et al. 2013).

S rozvojem 18F-FDG PET obecně přibývá kazuistik výskytu BAT u pacientů s PPGL. Například v roce 2008 publikoval Revathy B. Iyer kazuistiku 62leté pacientky s převážně noradrenalin produkujícím feochromocytomem, u které byla na CT břicha zobrazena 35 mm rozsáhlá expanze pravé nadledviny s výraznou akumulací v okolním tuku a dále v mediastinu. Kontrolní CT po přípravě α - a β -blokátory zobrazilo zmenšení masy dříve popisované tkáně (Iyer, Guo et al. 2009). Další kazuistiky byly publikované např. C. Ramacciottim v roce 2006 (Ramacciotti, Schneegans et al. 2006), S. K. Dundamadappou v roce 2007 (Dundamadappa, Shankar et al. 2007), J. Banzem v roce 2013 (Banzo, Ubieto et al. 2013), E. Søndergaardem v roce 2014 (Søndergaard, Gormsen et al. 2015) nebo M-S. Llansem v roce 2015 (Martinez-Sapina Llanas, Romeu Vilar et al. 2015).

Uvedené kazuistiky ukazují několik zajímavostí. Zaprvé, že výrazně zvýšená aktivita BAT u pacientů s PPGL nezabrání negativnímu efektu katecholaminů na glukózový metabolismus. Zadruhé, že diferenciaci viscerální tukové tkáně v BeAT může až zdvojnásobit REE. Za třetí, ani zdvojnásobení REE se nemusí projevit změnou váhy při často díky hyperfagickým sklonům pacientů. A za čtvrté, alfa-adrenergní blokáda redukuje aktivitu BAT na FDG PET/CT takřka na normální hodnotu, ale nezabrání průkazu UCP1 a dalších genů termogeneze v periadrenální biopsii při adenalektomii. Což může značit nutnost určitého času na transdiferenciaci a dediferenciaci BeAT, zároveň také ukazuje na možný efekt alfa-adrenergních receptorů na regulaci lidské BAT.

6. Adipogeneze, transkripční faktory a specifické markery

Adipogeneze, vývoj zralého adipocytu, je odlišná v průběhu embryogeneze a postnatálně, přičemž průběh obou procesů je stále nejasný. Adipocyty vznikají v průběhu embryogeneze v procesu determinace a diferenciaci z mezenchymálních kmenových buněk. Tukové polštáře vznikají nejdříve v druhém trimestru, a to nejdříve v oblasti hlavy a krku, poté v trupu a dále na končetinách. Studie ukázaly, že rozdělení na subkutánní a viscerální tukovou tkáň dle lokalizace je nedostačující. Bylo dokázáno, že jak SAT i VAT se liší dále dle lokalizace a jednotlivá tuková depa vznikají z různých buněčných linií, a to nejen v rámci druhu, ale i jedince (Sanchez-Gurmaches and Guertin 2014). Další studie ukázaly, že tato anatomicky odlišná depa jsou i funkčně odlišná a jejich genová exprese je jiná (Lee, Wu et al. 2013). Proces adipogeneze je dvoustupňový. Nejdříve vzniká preadipocyt, nediferencovaný fibroblast, ten se dále diferencuje na zralý adipocyt. Dlouho se předpokládalo, že adipocyty WAT i BAT vznikají ze stejných prekurzorů. Nyní se předpokládá, že se hnědé adipocyty vyvíjí z progenitorů pozitivních na gen *Myf5*, které dávají vznik i myocytům. Adipocyty BeAT i WAT se vyvíjí z odlišných prekurzorů, *Myf5* negativních a *Pdgfra* pozitivních (Ikeda, Maretich et al. 2018). BAT vzniká u hlodavců mnohem dříve než WAT.

V prvních letech života dochází k expanzi tukové tkáně v procesu hypertrofie a hyperplázie buněk (Knittle, Timmers et al. 1979). V dospělosti dochází k obnově 10 % adipocytů. U hlodavců je toto číslo větší a závisí na lokalizaci tukové tkáně. Tuková tkáň má v průběhu života schopnost expandovat (může tvořit až 60 % hmotnosti u morbidně obézních) i smrštít se (např. v průběhu laktace). Obecně je považována expanze SAT za metabolicky prospěšnější než expanze VAT, stejně tak jako proces hyperplázie je považován za metabolicky prospěšnější než hypertrofie adipocytů. Hyperplázií rozumíme aktivaci prekurzorů adipocytů a jejich diferenciaci ve zralé adipocyty. Lokalizace prekurzorů adipocytů postnatálně je stále nejasná.

Převládá názor, že adipocyty postnatálně vznikají z prekursorů lokalizovaných v blízkosti endotelu cév zásobující již vzniklá tuková depa. Dalším názorem je, že skupina prekursorů je uvolňována do cirkulace z tukové tkáně kostní dřeně a dává vznik zhruba 10 % adipocytů. Dalším typem prekursorů mohou být myocyty hladkého svalstva. Důležitou otázkou zůstává, zdali jsou prekursorové v průběhu embryogeneze totožné s těmi uplatňující se v postnatální adipogenezi. Odpověď je opět spíše kladná – obě tyto buněčné linie jsou považovány za odlišné. Stejně jsou regulační mechanismy v průběhu embryogeneze považovány za odlišné od těch v průběhu postnatální adipogeneze.

K odlišení BeAT a BAT může pomoci genový profil. Ze studií především *in vitro* a méně pak *in vivo* pochází seznam genů spojených buď s jedním či druhým typem tukové tkáně. Tyto geny z větší části exprimují transkripční faktory či povrchové molekuly. V průběhu determinace a diferenciaci BeAT a BAT hraje roli několik proteinů, z nichž k nejzákladnějším patří C/EBP, PPAR- γ s koaktivátorem PGC-1 α a PRDM16.

6.1. PRDM16

PR domain containing 16 (Prdm16), kódovaný genem *PRDM16*, je protein obsahující zinkový prst a fungující jako transkripční faktor. V určité míře je exprimován v mnoha tkáních, ale jeho funkce v adipogenezi je klíčová a nejlépe popsána. PRDM16 se uplatňuje především na začátku adipogeneze a určuje osud Myf5 pozitivního prekursoru – zdali se vyvine v adipocyt BAT nebo myocyt (Seale, Bjork et al. 2008). Jeho exprese ve zralých adipocytech BAT je nízká (Di Franco, Guasti et al. 2014). Dlouho se předpokládalo, že je PRDM16 znakem ryze BAT. Později se však ukázalo, že PRDM16 je esenciální i pro proces hnědnutí a tedy vytváření BeAT. Ve studiích na myších PRDM16 zvyšuje diferenciaci BeAT v SAT při stimulaci PPAR γ nebo β 3-agonisty a jeho inaktivací ztratí WAT schopnost přeměny na BeAT při působení výše zmíněných stimulů (Ohno, Shinoda et al. 2012). Obecně lze konstatovat, že v myší populaci je PRDM16 výrazně více exprimován v BAT než viscerální WAT (Seale, Kajimura et al. 2007). U lidí byl PRDM16 prokázán výrazně více v BAT ve srovnání se subkutánní WAT (Virtanen, Lidell et al. 2009). Ve studiích bylo prokázáno že inaktivace PRDM16 výrazně snižuje termogenní charakteristiky BAT i BeAT a zvyšuje expresi genů spojených s diferenciací myocytů (Virtanen, Lidell et al. 2009). Další studie ukázala, že ektopická produkce PRDM16 v myoblastech vede k jejich diferenciaci v adipocyt s termogenními funkcemi (Seale, Bjork et al. 2008).

Účinek PRDM16 je zprostředkován vazbou a vzájemnou modulací s dalšími transkripčními faktory – c/EBP β , PPAR- γ , PPAR- α a PGC-1 α (Seale, Bjork et al. 2008, Kajimura, Seale et al.

2009). Mezi další faktory, které pozitivně modulují vývoj BAT i BeAT skrz modulaci PRDM16, patří bone morphogenetic protein 7 (BMP7) (Tseng, Kokkotou et al. 2008) a thiazolidindiony agonizující receptory PPAR- γ (Ohno, Shinoda et al. 2012). K faktorům, které negativně modulují vývoj BAT i BeAT skrz modulaci PRDM16 patří microRNA miR-133 (Trajkovski, Ahmed et al. 2012).

6.2. PPAR γ

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma kódovaný genem *PPARG* patří do rodiny jaderných receptorů fungujících jako ligandem aktivované transkripční faktory. PPAR γ je považován za klíčový regulátor adipogeneze, protože žádný jiný faktor sám o sobě nedokáže bez přítomnosti PPAR γ adipogenezi indukovat. PPAR γ hrají klíčovou úlohu v adipogenezi všech tří typů adipocytů. Ektopická exprese samotných PPAR γ dokáže spustit ve fibroblastech proces adipogeneze (Rosen and MacDougald 2006). Studie ukázaly, že PPAR γ jsou nutné i pro funkci zralých adipocytů a jejich inaktivace vede k jejich zániku (Imai, Takakuwa et al. 2004). Pacienti s heterozygotní mutací pro PPAR γ trpí lipodystrofií a mají zvýšenou inzulínovou rezistenci (Semple, Chatterjee et al. 2006). V procesu vývoje hnědého a béžového adipocytu hraje roli především komplex PPAR γ s PRDM16, histone-lysine N-methyltransferázou a early B-cell faktorem 2. Za klíčový transkripční komplex v plně funkční BAT a BeAT jsou tedy považovány PPAR γ , PRDM16 a Pgc-1 α (Lasar, Rosenwald et al. 2018). Knockout genu pro PPAR γ vedl k úplné ztrátě bílé a hnědé tukové tkáně (Barak, Nelson et al. 1999). Aktivace PPAR γ vede k expresi termogenních genů v BAT i BeAT. PPAR γ hrají důležitou roli v obou krocích adipogeneze, ale předpokládá se, že PPAR γ společně s c/EBP α jsou aktivní především v druhém kroku.

Další známá funkce PPAR γ představuje účinky na glukózový metabolismus. Thiazolidindiony jsou syntetické ligandy PPAR γ . Patří mezi perorální antidiabetika, zvyšují senzitivitu cílových tkání k inzulinu a užívají se v léčbě diabetes mellitus druhého typu. Na myších modelech zvyšují thiazolidindiony expresi GLUT4 přenašečů.

6.3. Pgc-1 α

Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC-1 α) kódovaný genem *PPARGC1A* je považován za klíčový regulátor mitochondriální biogeneze a oxidativního metabolismu. Poprvé byl popsán jako partner PPAR γ v BAT u myši (Puigserver, Wu et al. 1998). V adipocytech Pgc-1 α indukuje expresi UCP1 a dalších termogenních genů (Puigserver, Wu et al. 1998). U myši není esenciální v průběhu embryogeneze a BAT se vyvíjí i bez něj

(Lin, Wu et al. 2004), avšak tato BAT neexprimuje v signifikantní míře UCP1 ani jiné geny termogeneze. Přítomnost PGC-1 α je klíčová jednak v chladem a agonisty β 3-receptorů indukované termogenezi BAT, dále pak ve vývoji BeAT v průběhu života (Leone, Lehman et al. 2005, Kleiner, Mepani et al. 2012). Pgc-1 α je považován za hlavního zprostředkovatele adrenergní aktivace adipocytů s termogenní kapacitou. Toho dosahuje interakcí s receptory PPAR- γ , PPAR- α a thyroidálními.

6.4. c/EBP β

CCAAT-enhancer-binding protein beta (c/EBP β) kódovaný genem *CEBPB* je více exprimován v BAT než WAT a tento rozdíl je ještě markantnější po stimulaci chladem nebo agonisty β -receptorů (Kajimura, Seale et al. 2009). Ztráta c/EBP β je asociována s defektní termogenezi (Carmona, Hondares et al. 2005), naopak zvýšená exprese c/EBP β vede k vývoji BeAT ve WAT (Kajimura, Seale et al. 2009). Fyziologicky ke zvýšené expresi c/EBP β (a c/EBP δ) dochází v prvním kroku adipogeneze. c/EBP β společně s PRDM16 určuje osud Myf5 pozitivního prekursoru na jeho vývojové dráze ke zralému adipocytu BAT. Ve druhém kroku adipogeneze dochází k expresi jiných členů rodiny a to c/EBP α .

6.5. DIO2

Dejodináza typu II (DIO2) je kódována genem *DIO2*. DIO2 mění prohormon tyroxin na aktivní trijodtyronin. DIO2 je exprimována ve zralých adipocytech BAT, které obsahují tisíce thyroidálních receptorů a navázáním trijodtyroninu vede k lokálnímu stavu hypertyreózy. Ve studiích na myši populaci je DIO2 zásadní v noradrenalinem indukované UCP1 dependentní termogenezi a diferenciaci BAT v embryích (de Jesus, Carvalho et al. 2001, Bianco and McAninch 2013).

6.6. CIDEA

Cell Death Inducing DFFA Like Effector A (CIDEA) je protein kódovaný genem *CIDEA*. Umožňuje tukovým kapénkám růst tím, že jedna může uvolnit svůj obsah do druhé. CIDEA se u myši nachází výhradně v BeAT a BAT, proto je u nich používána jako marker obou tkání. Je známo, že exprese CIDEA stoupá společně s procesem diferenciaci BeAT v myši populaci, avšak její role na expresi UCP1 se považuje za supresivní (Fischer, Shabalina et al. 2017). U lidí bývá popisována situace odlišná. CIDEA u lidí se nachází i ve WAT a koreluje s inzulinovou senzitivitou a s tzv. "zdravou" obezitou (Puri, Ranjit et al. 2008). Jedno z vysvětlení rozdílných výsledků ve studiích na myších a lidech je, že CIDEA u obou druhů

plní jinou funkci. S. Jash publikoval studii, ve které ukázal, že i u lidí CIDEA reguluje expresi UCP1 a diferenciaci BeAT (Jash, Banerjee et al. 2019).

6.7. Genové markery

Seznam specifických genových markerů BAT a BeAT pochází z několika studií. Ke známým pracím patří např. analýza na myších a buněčných liniích, kterou publikoval J. Wu (Wu, Bostrom et al. 2012), dále pak studie N. Petrovice taktéž provedena především na myších a buněčných liniích (Petrovic, Walden et al. 2010) a dále pak práce N. J. Jespersena, který izoloval tukovou tkáň ze supraklavikulární oblasti 21 dospělých operovaných z důvodu malignity v oblasti krku, a který prokázal zvýšenou expresi myších markerů BAT i BeAT v této oblasti (Jespersen, Larsen et al. 2013).

Za klasické markery myší BAT je považovaný gen F-box only protein 31 (*FBXO31*), LIM homeobox 8 (*LHX8*) a Zic family member 1 (*ZIC1*). Funkce těchto genů v adipogenezi je však nejasná a jedinečnost *ZIC1* v BAT byla již zpochybněna (Perugini, Bordoni et al. 2019). Za klasické markery BeAT jsou považovány Tumor necrosis factor receptor superfamily member 9 (*TNFRSF9*), Transmembrane protein 26 (*TMEM26*) a Short stature homeobox 2 (*SHOX2*). Tmem26 a TNFRSF9 jsou povrchové markery nativních adipocytů BeAT. Funkce samotných genů v adipogenezi také není objasněna. Využití a specifčnost těchto genů zpochybnilo více autorů, např. M.J. de Jong (de Jong, Larsson et al. 2015).

Obrázek 4: Shrnutí rozdílů mezi běžovou a hnědou tukovou tkání stran morfologie, výskytu u lidí a hlodavců, genové exprese a transkripčních faktorů (upraveno dle (Harms and Seale 2013))

Typ tkáně	Adipocyt	Výskyt u lidí	Výskyt u myší	Genové markery	Transkripční faktory
BAT		Krk, mezi lopatkami Paravertebrálně Perirenálně Para-aortálně ↑?	Krk, mezi lopatkami Axily Medistinum Perirenálně	<i>ZIC1</i> <i>LHX8</i> <i>FBXO31</i> <i>EVA1</i> <i>PDK4</i> , <i>EPSTI1</i>	C/EBPβ PRDM16 PPARγ, PGC-1α PPARα EBF2
BeAT		Supraklavikulárně Para-aortálně Perirenálně Intraabdominálně Axilárně	Třísla Krk, mezi lopatkami	<i>CD137</i> <i>TBX1</i> <i>TMEM26</i> <i>SHOX1</i> <i>CITED1</i>	C/EBPβ PRDM16 PPARγ, PGC-1α ?

7. Endokrinní funkce tukové tkáně

Zralé adipocyty produkují působky s parakrinními a endokrinními vlastnostmi nazývané souhrnně adipokiny. Ty zasahují do regulace příjmu potravy, informují o zásobách energie v těle, ovlivňují imunitní reakce a inzulínovou senzitivitu, krevní tlak, proces angiogeneze a celkový lipidový a glukózový metabolismus. Adipokinů bylo popsáno již několik desítek, jejich klasifikace je však svízelná, protože se do nich často počítají i látky uvolňované jinými buňkami přítomnými v tukové tkáni než samotnými adipocyty.

7.1. Leptin

Objev leptinu v roce 1994 spustil vlnu zájmu o endokrinní funkci tukové tkáně. Y. Zhang tehdy definoval gen zodpovědný za těžkou obezitu a hyperfagii ve specifickém kmenu myši (Zhang, Proenca et al. 1994). Produkt tohoto *OB* genu, lokalizovaném na chromozomu 7 a skládajícího se ze 166 aminokyselin, nazval leptin, z řeckého leptos (hubený). Leptin je především produktem bílé tukové tkáně, avšak jeho exprese byla v menším množství nalezena i v jiných tkáních (žaludek, srdce, placenta) (Kelesidis, Kelesidis et al. 2010). Receptory pro leptin jsou bohatě exprimované v mozku, hlavně hypotalamu, méně pak v žaludku, placentě a cévním systému (Kelesidis, Kelesidis et al. 2010).

Leptin je produkován adipocyty, vstupuje do krevní cirkulace a překračuje hematoencefalickou bariéru. Jeho hladiny v mozkomíšním moku korelují s BMI a hodnotami procentuálního zastoupení tuku v lidském těle (Schwartz, Peskind et al. 1996). Leptin se váže na své specifické receptory v mozku a tím informuje o zásobách energie v těle. Tato informace vyústí ve snížení kalorického příjmu a zvýšení energetického výdeje s cílem udržení konstantní váhy (Jorgensen, Vahl et al. 1998). Leptin snižuje příjem potravy zvýšením exprese anorexigenních peptidů, např. α -melanocyty-stimulujícího hormonu, a snížením exprese orexigenních peptidů, např. ghrelinu (Klok, Jakobsdottir et al. 2007, Kelesidis, Kelesidis et al. 2010).

Myši s nedostatkem leptinu vykazují ve studiích těžkou obezitu, hyperfagii, snížení energetického výdeje a také hyperinzulinémií (Farooqi, Matarese et al. 2002). Podobné výsledky byly publikovány i u lidí (de Luis, Perez Castrillon et al. 2009) avšak frekvence výskytu zmíněných mutací u lidí je nižší. Studie ukázaly, že prostá obezita je naopak spojená s vyššími plazmatickými hladinami leptinu u lidí i hlodavců a často se mluví v souvislosti s obezitou o leptinové rezistenci při downregulaci receptorů (Gruzdeva, Borodkina et al. 2019). U těchto pacientů podávání leptinu nevede k úpravě stavu. Co se týče korelace hladin leptinu a energetického vývoje u lidí, protichůdné výsledky byly publikovány. Další oblasti, ve kterých

se předpokládá funkce leptinu je ateroskleróza, vývoj neurodegenerativních onemocnění nebo modulace imunologické odpovědi (Klok, Jakobsdottir et al. 2007).

7.2. Adiponektin

Adiponektin, kódovaný genem *ADIPOQ* a skládající se z 244 aminokyselin, byl popsán souběžně několika výzkumnými skupinami v letech 1995 a 1996 (Scherer, Williams et al. 1995, Maeda, Okubo et al. 1996). Adiponektin je produkován především adipocyty bílé tukové tkáně, v menší míře i osteoblasty, hepatocyty, myocyty a buňkami placenty (Robinson, Prins et al. 2011). Adiponektin je multimerický protein, který je produkován ve čtyřech formách – jako trimer, hexamer, multimer o vysoké molekulové hmotnosti a v globulární formě (Robinson, Prins et al. 2011). Předposledně jmenovaný představuje hlavní biologicky aktivní izoformu. Byly objeveny dva hlavní typy receptorů pro adiponektin, označované jako AdipoR1 a AdipoR2. AdipoR1 má vysokou afinitu ke globulární formě a je exprimován nejvíce v kosterním svalstvu. AdipoR2 má naopak vysokou afinitu k multimerům a je exprimován převážně v játrech (Robinson, Prins et al. 2011).

Sérové hladiny adiponektinu klesají s BMI a pozitivně korelují s inzulinovou senzitivitou (Arita, Kihara et al. 1999, Hotta, Funahashi et al. 2000). Adiponektin po vazbě na své receptory v kosterním svalstvu zvyšuje vychytávání glukózy a oxidaci volných mastných kyselin (Yamauchi, Kamon et al. 2002). Dále se předpokládá, že snižuje hladiny glykémie snížením glukoneogeneze a glykogenolýzy. Další účinek, který bývá adiponektinu přisuzován je vazoprotektivita. Ve studiích bylo prokázáno, že nadměrná exprese adiponektinu vede k nižší tvorbě aterosklerotických plátů, a naopak jeho deficience vede k vyššímu výskytu aterosklerózy (Okamoto, Folco et al. 2008). Předpokládá se, že těchto účinků dosahuje svými protizánětlivými vlastnostmi (Robinson, Prins et al. 2011).

7.3. Visfatin

Visfatin je adipokin popsáný roku 2004 (Fukuhara, Matsuda et al. 2005). Ukázalo se, že je strukturálně identický s dříve popsáným pre-B cell colony-enhancing faktorem a nikotinamide fosforibosyltransferázou (NAMPT) (Saddi-Rosa, Oliveira et al. 2010). Dlouho se věřilo, že jeho hlavním místem produkce je bílá tuková tkáň VAT, později se ale ukázalo, že je produkován spíše makrofágy infiltrujícími tukovou tkáň než vlastními adipocyty. Na zvířecích modelech visfatin zvyšuje vychytávání glukózy adipocyty a myocyty a inhibuje glykogenolýzu – mimikuje tedy účinky inzulinu (Saddi-Rosa, Oliveira et al. 2010). Zvýšené hodnoty visfatinu

byly nalezeny např. u aterosklerózy, při přítomnosti nestabilních plátů (Dahl, Yndestad et al. 2007) nebo u obézních (Haider, Schindler et al. 2006).

7.4. Rezistin

Rezistin byl poprvé popsán u myši v roce 2001 (Steppan, Bailey et al. 2001, Jamaluddin, Weakley et al. 2012) a své jméno dostal pro svoji schopnost interferovat s účinky inzulínu. Hlavním místem produkce rezistinu je u myši bílá tuková tkáň. U lidí je produkován především makrofágy a dalšími buňkami imunitního systému, dále pak buňkami kostní dřeně. Zda je rezistin produkován i lidskými adipocyty, je kontroverzní téma. U lidí se vyskytuje v několika nízko a vysokomolekulárních izoformách.

Zvýšené hladiny rezistinu byly nalezeny u obézních pacientů a dále pacientů s DM 2 typu (Steppan, Bailey et al. 2001). Hladiny rezistinu korelovaly s dalšími prozánětlivými markery, výskytem koronární aterosklerózy a metabolického syndromu (Ohmori, Momiyama et al. 2005). U myši rezistin snižuje inzulínovou senzitivitu cílových tkání, avšak u lidí nejsou výsledky tak jednoznačné (Jamaluddin, Weakley et al. 2012).

7.5. FGF21

Fibroblastový růstový faktor 21 (FGF21) byl objeven v roce 2000 T. Nishimurou jako 21. člen superrodiny fibroblastových růstových faktorů (Nishimura, Nakatake et al. 2000). Lidský FGF21, skládající se z 209 aminokyselin, má nejbližší k FGF19 (Nishimura, Nakatake et al. 2000) a produkují ho převážně játra (Nishimura, Nakatake et al. 2000). Dále je produkován např. kosterním svalem a adipocyty. Funkce FGF21 a jeho klinický dopad poprvé popsal A. Kharitonov v roce 2005. Ukázal, že lidský rekombinantní FGF21 stimuluje vychytávání glukózy v diferencovaných myších a lidských adipocytech nezávisle na inzulínu pomocí upregulace GLUT1 receptorů (Kharitonov, Shiyanova et al. 2005). Podávání FGF21 obézním myším a myším s DM vedlo ke snížení glykémie a hodnot triglyceridů (Kharitonov, Shiyanova et al. 2005). Nadměrná exprese FGF21 u myši vedla ke štíhlejší populaci s nižšími hodnotami glykémie, s větším objemem BAT a rezistencí k dietou-indukované obezitě (Kharitonov, Shiyanova et al. 2005). Naopak, knockout tohoto genu vedl k obezitě a poruchám metabolismu glukózy (Kharitonov, Shiyanova et al. 2005). Podobných výsledků bylo dosaženo u makaků (Kharitonov, Wroblewski et al. 2007, Adams, Halstead et al. 2013). Další studie ukázaly, že FGF21 stimuluje lipolýzu (Arner, Pettersson et al. 2008), zvyšuje energetický výdej (Adams, Yang et al. 2012), zlepšuje funkci β -buněk pankreatu (Wente, Efanov et al. 2006), snižuje steatózu jater (Fisher, Estall et al. 2011)

a systolický krevní tlak (Sa-Nguanmoo, Chattipakorn et al. 2016). FGF21 překračuje hematoencefalickou bariéru a je detekovatelný v lidském i hlodavčím mozkomíšním moku (Hsuchou, Pan et al. 2007, Tan, Hallschmid et al. 2011). Kontinuální intracerebrální podávání FGF21 vedlo ke zvýšenému energetickému výdeji a inzulinové senzitivě (Sarruf, Thaler et al. 2010). FGF21 působí skrz CNS zvýšení hladin glukokortikoidů, potlačuje fyzickou aktivitu a ovlivňuje cirkadiánní chování (Bookout, de Groot et al. 2013, Liang, Zhong et al. 2014).

Další studie ukázaly, že v lidské populaci nacházíme zvýšené hodnoty FGF21 u diabetiků 2. typu, obézních a pacientů s dyslipidemií. Začalo se tedy, podobně jako u leptinu, u lidí hovořit o rezistenci. Avšak podávání analogu FGF21 dosud nevedlo u dospělých k poklesu glykémie (Gaich, Chien et al. 2013, Dong, Rossulek et al. 2015, Talukdar, Zhou et al. 2016).

7.6. Další adipokiny – NGAL, Adipsin, PAI-1

Neutrofilní s gelatinózou asociovaný lipokalin 2 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)) neboli lipokalin 2 je protein akutní fáze důležitý pro bakteriální imunitní odpověď. Lipokalin 2 je také považován za jeden z možných regulátorů glukózové, lipidové a energetické homeostázy s vlivem na termogenní funkce BAT (Zhang, Guo et al. 2014). Bohužel studie u lidí přinášejí protichůdné výsledky (Ishii, Katsuura et al. 2017).

Adipsin byl jakožto adipokin poprvé popsán v roce 1987, ale později byl identifikován jako faktor komplementu D. Knockout genu pro adipsin vedl u myši k horší glukózové toleranci při vysokokalorické stravě nebo při stresu. To bylo způsobeno sníženou sekrecí inzulinu z pankreatických β -buněk (Lo, Ljubicic et al. 2014). Nedostatek adipsinu hrál též roli v několika modelech těžké myši obezity (Lowell, Napolitano et al. 1990).

Inhibitor aktivátoru plasminogenu typu 1 (PAI-1) je serinová proteáza hrající roli ve fibrinolýze. Je produkována především endotelovými buňkami, ale také tukovou tkání. Její hladiny jsou zvýšené při obezitě a metabolickém syndromu a považuje se za důvod zvýšeného rizika trombózy u těchto onemocnění (Bilgili, Celebiler et al. 2008).

Cíle práce a hypotézy

V první části práce jsme se zaměřili na viscerální a subkutánní tukovou tkáň u pacientů s PPGL ve srovnání s kontrolní skupinou. Nejdříve jsme se zabývali funkčním markerem termogeneze (UCP1), poté specifickými markery pro hnědou a béžovou tukovou tkáň a dále nespecifickými ukazateli metabolismu netřesové termogeneze. Dále jsme se zabývali transkripčními faktory, které provázejí diferenciaci hnědé a béžové tukové tkáně. V neposlední řadě jsme srovnali nálezy v tukové tkáni se základními biochemickými nálezy v periferní krvi a metabolickými charakteristikami vyšetřované skupiny. V tukové tkáni jsme taktéž stanovili mRNA expresi především adipokinů a jejich receptorů. Naše hypotézy pro tuto část práce byly následující:

1. Profil genové exprese tukové tkáně nemocných s PPGL bude odlišný od kontrolní skupiny bez feochromocytomu/paragangliomu. Tento výsledek předpokládáme především ve viscerální tukové tkáni.
2. Genový profil u pacientů s feochromocytomem bude charakterizován zvýšeným zastoupením UCP1 a dalších genů typických pro netřesovou termogenezi.
3. Zároveň bude tento genový profil obsahovat zvýšenou expresi specifických markerů pro hnědou nebo béžovou tukovou tkáň, případně obojí.
4. Expresie genů pro adipokiny a jejich receptory bude změněná ve viscerální tukové tkáni.

Cíle práce pro tuto část studie byly následující:

1. Porovnat mRNA expresi genů asociovaných s výskytem a aktivitou hnědé a béžové tukové tkáně v subkutánní a viscerální tukové tkáni pacientů s feochromocytomem ve srovnání s kontrolní skupinou.
2. Zjistit, zda v tukové tkáni pacientů s feochromocytomem probíhá netřesová termogeneze a zdali je za ní zodpovědná spíše hnědá, či béžová tuková tkáň.
3. Analyzovat mRNA expresi genů asociovaných s endokrinní funkcí tukové tkáně.
4. Posoudit, zdali se ve zkoumaných parametrech liší pacienti s noradrenergním a adrenergním biochemickým fenotypem.
5. Zjistit, zdali se ve zkoumaných parametrech liší pacienti s hypermetabolismem kvantifikovaným metodou nepřímé kalorimetrie.

V druhé části práce jsme se zabývali periferními hladinami vybraných adipokinů. Především jsme se zaměřili na FGF21. Využili jsme jednak skupiny zdravých dobrovolníků a jednak skupinu obézních pacientů. Naše hypotéza byla pro tuto část následující:

1. Hladiny adipokinů zasahujících do glukoregulačních a energetických dějů budou odlišné u pacientů s feochromocytomem ve srovnání se zdravými dobrovolníky. Tyto hladiny se mohou lišit v závislosti na dalších metabolických ukazatelích.

Naše cíle práce byly následující:

1. Porovnat hladiny adipokinů u pacientů s feochromocytomem před operací a rok po ní a dále s hladinami adipokinů u skupiny zdravých dobrovolníků, event. navíc se skupinou obézních.
2. Srovnat hladiny vybraných adipokinů se základními biochemickými ukazateli.
3. Zjistit, zdali se ve vybraných hladinách adipokinů liší pacienti s noradrenergním a adrenergním fenotypem.
4. Zjistit, zdali se ve vybraných hladinách adipokinů liší pacienti s hypermetabolismem kvantifikovaným metodou nepřímé kalorimetrie.
5. Zjistit, zdali se ve vybraných hladinách adipokinů liší pacienti s a bez diabetes mellitus.

Metodika

1. Design studie

Do studie byli zahrnuti pacienti s PPGL, obézní jedinci a zdravé kontroly. Do části studie s odběrem tukové tkáně bylo zahrnuto 25 pacientů s PPGL (24 pacientů s feochromocytomem a 1 pacient s abdominálním funkčním paragangliomem) a 14 kontrol. Do části studie s FGF21 bylo zahrnuto 40 pacientů s PPGL (38 pacientů s feochromocytomem a 2 pacienti s abdominálním funkčním paragangliomem), 26 zdravých dobrovolníků a 21 obézních. Všichni pacienti s PPGL byli vyšetřeni během krátké hospitalizace na našem oddělení (oddělení C III. interní kliniky VFN a 1.LF UK v Praze) před operací a rok po ní. Operace byly provedeny na 1. chirurgické klinice VFN a 1.LF UK v Praze nebo na Urologické klinice VFN a 1.LF UK v Praze. Obézní pacienti byli vyšetřeni na naší klinice na začátku hospitalizace z důvodu redukce váhy. Cholecystektomii podstoupili pacienti na 1. chirurgické klinice VFN a 1.LF UK v Praze. Vyšetřeni byli během této hospitalizace a dále během ambulantní kontroly s odstupem 3 měsíců od operace.

Diagnóza PPGL byla stanovena na základě hladin volných metanefrinů v plazmě, zobrazení primárního tumoru majoritně pomocí PET/CT a na základě histologického potvrzení pooperačně. Ostatní příčiny sekundární hypertenze byly vyloučeny. Hyperkortizolismus byl u skupiny obézních vyloučen. Kontrolní skupina se skládala jednak ze zdravých dobrovolníků a dále z pacientů podstupujících elektivní cholecystektomii. Nikdo z pacientů podstupujících cholecystektomii nebyl operován v době akutní exacerbace. Vzorky SAT i VAT byly získány během otevřené či laparoskopické adrenalectomie u pacientů s PPGL a během laparoskopické cholecystektomie u kontrol. Vzorky VAT byly získány z oblasti retroperitonea u pacientů s PPGL a z omenta u kontrol. Vzorky SAT byly získány z přední břišní stěny. Vzorky byly odebrány ihned po odstranění nádoru.

Informovaný souhlas byl obdržen od všech pacientů. Etická komise naší instituce schválila studii (21. 4. 2015, etický kód: 20/15). Naše studie byla provedena v souladu s Helsinskou deklarací.

2. Antropometrická měření, laboratorní metody a odběry vzorků tukové tkáně

Krevní vzorky byly odebrány nalačno během 6. a 7. hodiny ranní. Základní laboratorní vyšetření, včetně glykémie na lačno (FBG), glykovaného hemoglobinu (HbA1c), lipidogramu a C-reaktivního proteinu (CRP) byly měřeny standardními metodami naší laboratoře s mezinárodní akreditací. Inzulin byl analyzován RIA kitem (Luminex). HOMA-IR

(Homeostasis model assessment index-insulin resistance) byl spočítán jako glykémie na lačno násobená hodnotou lačného inzulinu a dělena 22,5. Podskupina pacientů s diabetem mellitem byla definována 1) již diagnostikovaným diabetem mellitem, 2) hladinami lačné glykémie $\geq 7,0$ mmol/l, 3) hladinami glykémie $\geq 11,1$ mmol/l po dvou hodinách po zátěži 75 g glukózy v orálním glukózovém tolerančním testu dle definice WHO z roku 2006. Váha byla změřena v kilogramech (kg), výška v centimetrech (cm) a BMI bylo vypočítáno vydělením hmotnosti pacienta druhou mocninou jeho výšky. Dále byl měřen obvod pasu v cm. Obezita byla definována jako BMI ≥ 30 kg/m² a nadváha jako BMI ≥ 25 kg/m². Krevní tlak byl měřen oscilometrickým sfygmomanometrem dle doporučení Evropské společnosti pro hypertenzi. Arteriální hypertenze byla definována taktéž v souladu s doporučeními Evropské společnosti pro hypertenzi. Metabolický syndrom byl definován na základě doporučení Mezinárodní diabetické federace jako přítomnost centrální obezity (BMI >30 kg/m² nebo obvod pasu ≥ 102 cm u mužů a ≥ 88 cm u žen), a jakékoliv ze dvou následujících abnormalit: triglyceridy $\geq 1,7$ mmol/l nebo specifická léčba k jejich snížení; HDL cholesterol $<1,03$ mmol/l u mužů a $<1,29$ mmol/l u žen nebo specifická léčba k jejich zvýšení; systolický krevní tlak ≥ 135 mm Hg nebo diastolický tlak ≥ 85 mm Hg nebo léčba dříve diagnostikované hypertenze; lačná glykémie $\geq 5,6$ mmol/l nebo dříve diagnostikovaný DM.

Volné metanefriny v plazmě (normetanefrin a metanefrin) byly kvantifikovány kapalinovou chromatografií s elektrochemickou detekcí (HLPC-ED, Agilent 1100, Agilent Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA). Noradrenergní biochemický fenotyp byl definován jako dominující zvýšení normetanefrinu doprovázené buď normální hladinou metanefrinu nebo jeho zvýšením, které odpovídá méně jak 5 % z celkové hodnoty obou látek. Adrenergní biochemický fenotyp byl definován jako dominantní zvýšení metanefrinu nad horní hranici normy nebo zvýšení více jak 5 % z celkové sumy obou metabolitů (Eisenhofer, Lenders et al. 2005).

Sérové hodnoty FGF21 byly měřeny komerčním ELISA kitem (BioVendor, Modřice, Czech Republic), který je založen na polyklonálních protilátkách proti lidskému FGF21.

Vzorky tkání VAT i SAT byly odebrány do RNA stabilizátoru a uchovány v -80 °C před dalším zpracováním.

Části pacientům zahrnutým do studie s FGF21 jsme stanovili periferní hladiny dalších vybraných adipokinů. Jejich hladiny byly měřeny komerčními RIA či ELISA kity.

3. Nepřímá kalorimetrie

Energetický metabolismus byl kvantifikován metodou nepřímé kalorimetrie s užitím ventilované kanopy (Vmax Encore 29 N system, VIASYS Healthcare Inc; SensorMedics,

Yorba Linda, California). Pomocí ní byla v průběhu 30 minut měřena klidová produkce kyslíku (O₂) a oxidu uhličitého (CO₂) a automaticky byl vypočítán respirační kvocient (RQ) a klidový energetický výdej (REE). Vyšetření probíhalo v klidu, za termoneutrálních podmínek (teplota ve vyšetřovně 22–24 °C) a nalačno. Průměrný REE byl vyjádřen v kilokaloriích za 24 hodin. Pro výpočet bazálního metabolického výdeje (BEE) byla použita Harris-Benediktova rovnice. K vyjádření rychlosti metabolismu byla hodnota REE dělena BEE a vynásobena 100. Hypermetabolismus byl definován jako poměr REE/BEE více jak 110 %.

Současné s měřením nepřímé kalorimetrie probíhalo měření celkového množství tuku v těle (BFP). To bylo měřeno přístrojem Bodystat 1500 (Bodystat Ltd, Isle of Man, United Kingdom) na základě měření bioelektrické impedance. Přístroj měl rozsah impedance 20–2000 Ω, přesnost na 6 Ω, a frekvenci 50 KHz. Byly použity 4 elektrody.

4. Stanovení mRNA exprese kvantitativní polymerázovou řetězovou reakcí

F-box only protein 31 (*FBXO31*), LIM homeobox 8 (*LHX8*) a Zic family member 1 (*ZIC1*) byly vybrány jako markery BAT. Cluster of differentiation-137 (*CD137*) neboli TNF receptor superfamily member 9 (*TNFSRF9*), Transmembrane protein 26 (*TMEM26*) a Short stature homeobox 2 (*SHOX2*) byly vybrány jako markery BeAT (Petrovic, Walden et al. 2010, Sharp, Shinoda et al. 2012, Wu, Bostrom et al. 2012, Harms and Seale 2013, Jespersen, Larsen et al. 2013). Cell death inducing DFFA like effector (*CIDEA*) a Iodothyronine deiodinase 2 (*DIO2*) byly vybrány jako markery obou zmíněných tkání (Fischer, Shabalina et al. 2017). PR/SET domain 16 (*PRDM16*), CCAAT Enhancer Binding Protein Beta (*CEBPB*), Peroxisome proliferator activated receptor delta (*PPRD*), Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (*PPARG*) a PPARG coactivator 1-alpha (*PPARGC1A*) byly vybrány jako klíčové transkripční faktory během adipogeneze hnědé a béžové tukové tkáně. Uncoupling protein 1 (*UCPI*) byl vybrán jako funkční marker netřesové termogeneze.

Celková RNA byla izolována ze vzorků SAT a VAT. Vzorek (70 mg) byl homogenizovaný v MagNa Lyser Instrumentu (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo) za pomoci Magna Pure Compact RNA Izolujícího kitu (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo). Čistota a kvantita RNA byla stanovena NanoFotometrem (Implen, Mnichov, Německo). Reverzní transkripce 250 ug celkové RNA byla provedena za pomoci primerů podle protokolu výrobce vysoko-kapacitních cDNA kitů reverzní transkripce (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Stanovení genové exprese bylo provedeno na 7500 Real-Time PCR Systému (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Pro reakci byl použit mix TaqMan® Universal PCR Master Mix II, NO AmpErase® UNG (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), voda

neobsahující nukleázy (Fermentas Life Science, Vilnius, Lithuania) a specifické TaqMan® Gene Expression Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Katalogová čísla jsou pro jednotlivé TaqMan® Gene Expression Assays následující: ADIPOR1 (Hs00360422_m1), ADIPOQ (Hs00605917_m1), ADRB3 (Hs00609046_m1), CEBPB (Hs00270923_s1), CIDEA (Hs00154455_m1), DIO 2 (Hs00255341_m1), FBXO 31 (Hs00375554_m1), INSR (Hs00961557_m1), IRS1 (Hs00178563_m1), IRS2 (Hs00275843_s1), LHX8 (Hs00418293_m1), LEP (Hs00174877_m1), NAMPT (Hs00237184_m1), PPARD (Hs00602622_m1), PPARG (Hs00234592_m1), PPARGC1A (Hs00173304_m1), PRDM16 (Hs00223161_m1), RETN (Hs00220767_m1), SHOX2 (Hs00243203_m1), TMEM26 (Hs00415619_m1), TNFRSF9 (Hs00155512_m1), UCP1 (Hs01084773_m1), ZIC1 (Hs00602749_m1), B2M (Hs99999907_m1).

Beta-2-mikroglobulin (B2M) byl použit jako validní house-keeping gen pro tuto studii. LDL receptor related protein 10 (LRP10) a T-box 1 (TBX1) byly taktéž testovány jako vhodné endogenní geny. Vzorec 2^{-ddCt} byl použit ke kalkulaci relativní genové exprese. Zkratky genů jsou v textu psané *kurzívou*, jejich produkty bez ní.

5. Statistická analýza

K statistické analýze jsme zvolili program Statistica pro Windows verze 9.1 (StaSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Všechna data prošla testem normality (Shapiro-Wilk testem). Parametry bez normálního rozložení jsme logaritmičtě převedli a opět zkontrolovali před použitím parametrického testu. V případě normálního rozdělení uvádíme hodnoty jako průměr ± standardní odchylka (standard deviation, SD), zatímco neparametrická data vyjadřujeme jako medián a mezikvartilové rozpětí [Interquartile range, IQR]. Kategorické proměnné jsou uvedeny jako frekvence výskytu (%). Ke srovnání dvou nezávislých skupin jsme použili Studentův t-test nebo test Mann-Whitney. Závislé skupiny testujeme Studentovým párovým t-testem nebo Wilcoxonovým testem. Data tří a více skupin testujeme modelem ANOVA. Korelace mezi proměnnými zkoumáme Pearsonovým korelačním koeficientem. Kategorické proměnné hodnotíme Chí-kvadrátovým testem nebo Fisherovým testem. Hodnoty $p < 0.05$ jsou považovány za signifikantní.

Výsledky

Tuková tkáň

1. Základní charakteristiky skupin

Klinické a metabolické charakteristiky jednotlivých vyšetřovaných skupin jsou shrnuty v Tabulce 3. Obě skupiny se signifikantně nelišily ve věku, BMI, hladinách CRP, hodnotách krevního tlaku nebo v poměru žen k mužům. Obě skupiny zahrnovaly jedince s normální váhou, nadváhou i obezitou. 36 % pacientů s PPGL splnilo definici diabetes mellitus. Tři pacienti užívali předoperačně inzulin. PAD u všech pacientů představoval metformin. Všichni pacienti s PPGL užívali minimálně tři týdny před operací alfa-blokátory. Tři čtvrtiny pacientů s PPGL užívaly beta-blokátory (72 %). Všichni pacienti byli eutyrozní. Nikdo ze skupiny kontrol nebyl operován během akutní exacerbace cholecystitidy.

Jak jsme očekávali, skupina s PPGL vykazovala signifikantně vyšší hodnoty FBG ($p=0,005$), HbA1C ($p<0,001$) a hladiny volných metanefrinů v plazmě ($p<0,001$). Zároveň tato skupina vykazovala vyšší energetický výdej (REE/BEE) ($p=0,008$). Srovnání hladin HDL se nacházelo na hranici významnosti ($p=0,055$). Patnáct pacientů s PPGL (60 %) splňovalo kritéria pro hypermetabolismus a 8 pacientů s PPGL (32 %) splňovalo kritéria pro noradrenergní fenotyp.

Tabulka 3: Klinické a metabolické charakteristiky skupin

Faktor	PPGL	Kontroly	<i>p</i>
	n = 25	n = 14	
Ženy (n, %)	13 (52)	9 (64)	0,872
Věk (roky)	54,3 ± 14	55,7 ± 15	0,775
Body mass index (kg·m ⁻²)	26,3 ± 4,7	27,0 ± 3,3	0,628
P-metanefrin (nmol/l)	3,1 [7,4]	0,2 [0,1]	0,001
P-normetanefrin (nmol/l)	5,5 [18,6]	0,3 [0,2]	0,000
FBG (mmol/l)	5,8 [1,7]	4,9 [0,3]	0,005
HbA1c (mmol/mol)	44,0 [18]	35,0 [4]	0,000
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,8 ± 1,1	5,2 ± 0,9	0,363
HDLc (mmol/l)	1,5 ± 0,5	1,4 ± 0,5	0,055
LDLc (mmol/l)	2,8 ± 0,9	2,9 ± 0,7	0,983
Triglyceridy (mmol/l)	1,3 ± 1,0	2,1 ± 1,6	0,618
CRP (mg/l)	2,5 ± 2,4	2,3 ± 1,3	0,273
Systolický TK (mm Hg)	132 ± 18	125 ± 16	0,273
Diastolický TK (mm Hg)	82 ± 12	79 ± 13	0,392
REE (Kcal/den)	1690 ± 313	1462 ± 313	0,087
BEE (Kcal/den)	1508 ± 234	1511 ± 192	0,974
REE/BEE (%)	111,8 ± 14	96,1 ± 11	0,008
Diabetes mellitus (n, %)	9 (36)	0 (0)	-
Obezita (n, %)	3 (12)	3 (21)	-
Alfa blokátory (n, %)	25 (100)	0 (0)	-
Beta blokátory (n, %)	18 (72)	1 (8)	-
Statiny (n, %)	10 (40)	2 (15)	-
Perorální antidiabetika (n, %)	7 (28)	0 (0)	-
Inzulin (n, %)	3 (12)	0 (0)	-

Statistická významnost je $p \leq 0,05$. Zkratky: P-, v plasmě; FBG, glykémie na lačno; HbA1c; glykovaný hemoglobin; HDLc, high-density lipoprotein cholesterol; LDLc, low-density lipoprotein cholesterol; CRP, C-reaktivní protein; TK, krevní tlak; REE, klidový energetický výdej; BEE, bazální metabolický výdej

2. Rozdíl v expresi genů VAT a SAT pacientů s PPGL ve srovnání s kontrolami

mRNA exprese všech genů SAT a VAT u pacientů s PPGL ve srovnání s kontrolami je shrnuta v Tabulce 4. Ve VAT pacientů s PPGL jsme našli zvýšenou mRNA expresi genů *CEBPB* ($<0,001$), *DIO2* ($p=0,005$), *PPARGCIA* ($<0,001$) a *UCPI* ($<0,001$). Rozdíl v expresi genu *PRDMI6* se nacházel na hranici hladiny významnosti ($p=0,069$). Naopak jsme našli snížené hladiny exprese genu *TMEM26* ve VAT pacientů s PPGL ve srovnání s kontrolami ($p=0,007$). Zbytek genů nevykazoval významné rozdíly v expresi. V SAT pacientů s PPGL jsme našli zvýšenou mRNA expresi genu pro adrenoceptor beta 3 (*ADRB3*) ($p=0,046$), *CIDEA* ($p=0,048$) a *PPARGCIA* ($p=0,001$). Exprese genu *FBXO 31* byla vyšší v SAT kontrol ($p=0,035$). mRNA exprese genů *ZIC1* a *LHX8* se ve SAT i VAT nacházela pod detekční schopností metody u obou vyšetřovaných skupin. mRNA exprese genu *UCPI* se nacházela pod detekční schopností metody v SAT obou skupin.

Tabulka 4: mRNA exprese genů potenciálně spojených s BAT a BeAT ve vzorcích SAT a VAT pacientů PPGL ve srovnání s kontrolami

Symbol genu	Jméno genu	SAT			VAT		
		PPGL n = 25	Kontroly n = 14	<i>p</i>	PPGL n = 25	Kontroly n = 14	<i>p</i>
<i>ADRB3</i>	Adrenoceptor Beta 3	1,5 [2,3]	0,4 [0,4]	0,046	2,4 [4,4]	1,2 [1,9]	0,156
<i>CEBPB</i>	CCAAT Enhancer Binding Protein Beta	0,9 [0,7]	0,9 [0,6]	0,255	1,3 [0,8]	0,7 [0,5]	<0,001
<i>CIDEA</i>	Cell death inducing DFFA like effector	1,4 [1,3]	0,8 [0,7]	0,048	1,2 [1,4]	0,9 [0,9]	0,532
<i>DIO 2</i>	Iodothyronine Deiodinase 2	1,1 [0,8]	0,76 [1,3]	0,554	1,09 [2,3]	0,47 [0,4]	0,005
<i>FBXO 31</i>	F-Box Protein 31	0,91 [0,4]	1,2 [0,3]	0,035	1,0 [0,3]	0,89 [0,3]	0,378
<i>LHX8</i>	LIM Homeobox 8	Undet.	Undet.	-	Undet.	Undet.	-
<i>PPARD</i>	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Delta	0,7 [0,6]	0,9 [0,4]	0,971	1,0 [0,5]	1,0 [0,6]	0,320
<i>PPARG</i>	PPAR Gamma	1,0 [0,4]	0,9 [0,5]	0,144	1,3 [0,6]	0,9 [0,7]	0,248
<i>PPARGCIA</i>	PPARG Coactivator 1- Alpha	1,5 [1,0]	0,6 [0,7]	0,001	1,7 [2,0]	0,5 [0,3]	<0,001
<i>PRDM16</i>	PR/SET domain 16	1,1 [0,6]	0,9 [0,4]	0,224	1,0 [0,8]	0,7 [0,5]	0,069
<i>SHOX2</i>	Short Stature Homeobox 2	0,9 [1,0]	0,9 [0,6]	0,624	1,1 [1,2]	0,8 [0,8]	0,609
<i>TMEM26</i>	Transmembrane Protein 26	1,1 [1,5]	1,1 [1,5]	0,892	0,8 [0,6]	1,1 [1,7]	0,007
<i>TNFRSF9</i>	TNF Receptor Superfamily Member 9	0,8 [1,4]	1,5 [1,2]	0,126	0,8 [0,8]	1,2 [0,9]	0,075
<i>UCP1</i>	Uncoupling Protein 1	Undet.	Undet.	-	3,5 [25,0]	0,1 [0,7]	<0,001
<i>ZIC1</i>	Zic Family Member 1	Undet.	Undet.	-	Undet.	Undet.	-

Statistická významnost je $p \leq 0,05$. Zkratky: Undet., Nestanoveno

3. Analýza genové exprese u pacientů s PPGL

Korelační analýza mezi mRNA expresí vybraných genů ve VAT a SAT pacientů s PPGL je shrnuta v Tabulce 5 a Grafu 1. Korelační analýza mezi mRNA expresí *UCPI* a vybraných genů je shrnuta v Tabulce 6. Expresie genu *UCPI* korelovala pozitivně ve VAT pacientů s PPGL s expresí genů *ADRB3*, *CIDEA*, *DIO2*, *PPARGC1A*, *PPARG*, *PRDM16* (vše $p < 0,001$) a *TMEM26* ($p = 0,033$), *CEBPB* (0,003), *PPARD* (0,044). Expresie termogenních genů ve VAT pacientů s PPGL klesala s věkem a BMI. Expresie genů *UCPI* a *DIO2* pozitivně korelovala s hladinami normetanefrinu v plazmě ($p < 0,001$ a $p = 0,019$). V SAT pacientů s PPGL se taktéž negativně projevil vliv věku a BMI.

Tabulka 5: Korelační analýza mezi mRNA expresí vybraných genů ve vzorcích VAT a SAT a metabolických parametrů pacientů s PPGL

Symbol genu	Faktor	VAT		Symbol genu	Faktor	SAT	
		R	<i>p</i>			R	<i>p</i>
<i>ADRB3</i>	Age	-0,398	0,049	<i>ADRB3</i>	Age	-0,507	0,016
<i>CIDEA</i>	Age	-0,354	0,082	<i>CIDEA</i>	BMI	-0,624	<0,001
<i>PPARG</i>	Age	-0,418	0,037	<i>PPARGC1A</i>	BMI	-0,596	0,002
<i>UCPI</i>	Age	-0,347	0,096	<i>PPARG</i>	BMI	-0,477	0,016
<i>ADRB3</i>	BMI	-0,427	0,033	<i>PRDM16</i>	BMI	-0,568	0,003
<i>CIDEA</i>	BMI	-0,349	0,087				
<i>PPARGC1A</i>	BMI	-0,457	0,021				
<i>UCPI</i>	BMI	-0,365	0,079				
<i>TMEM26</i>	P-Nor	0,360	0,077				
<i>UCPI</i>	P-Nor	0,474	0,019				
<i>DIO 2</i>	P-Nor	0,530	<0,001				
<i>SHOX2</i>	BEE/REE	-0,561	0,005				

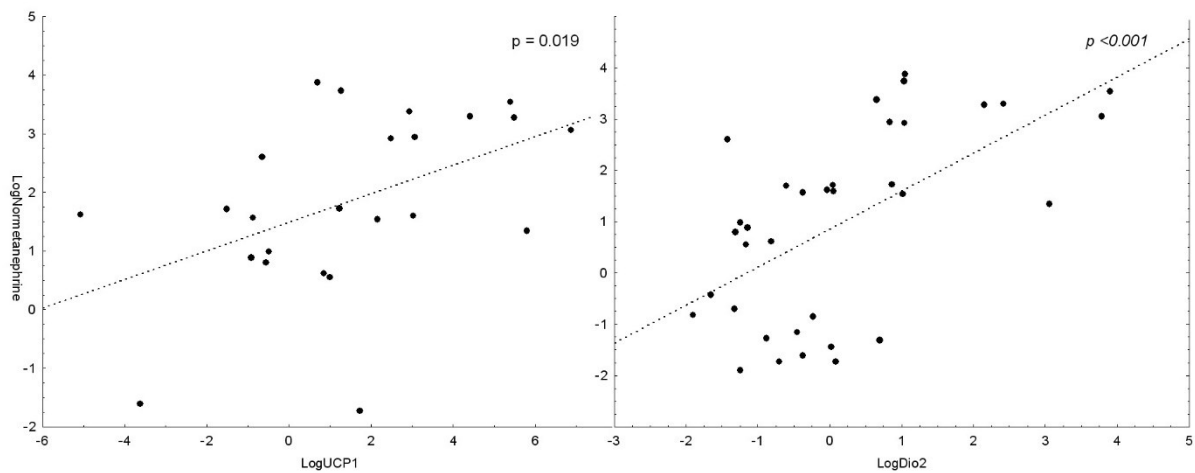
Statistická významnost je $p \leq 0,05$. Zkratky: BMI, body mass index; P-Met, metanefrin v plasmě; P-Nor, normetanefrin v plazmě; FBG, glykémie na lačno; REE, klidový energetický výdej; BEE, bazální metabolický výdej

Tabulka 6: Korelační analýza mezi mRNA expresí *UCP1* a vybraných genů ve vzorcích VAT pacientů s PPGL

Symbol genu	R	<i>p</i>
<i>ADRB3</i>	0,711	<0,001
<i>CEBPB</i>	0,466	0,003
<i>CIDEA</i>	0,741	<0,001
<i>DIO 2</i>	0,782	<0,001
<i>FBXO 31</i>	-0,410	0,047
<i>PPARD</i>	0,329	0,044
<i>PPARGCIA</i>	0,832	<0,001
<i>PPARG</i>	0,667	<0,001
<i>PRDM16</i>	0,688	<0,001
<i>SHOX2</i>	0,011	0,949
<i>TMEM26</i>	0,434	0,033
<i>TNFRSF9</i>	-0.176	0,290

Statistická významnost je $p \leq 0,05$

Graf 1: Korelační analýza mezi hladinami volného normetanefrinu v plazmě a mRNA expresí *UCP1* a *DIO2*



Statistická významnost je $p \leq 0,05$; Zkratky: \log_{10} , dekadický logaritmus, UCP1, Uncoupling protein 1; Dio2, dejodáza typu 2

4. Endokrinní funkce tukové tkáně

mRNA exprese genů především adipokinů a jejich receptorů ve VAT a SAT pacientů s PPGL ve srovnání s kontrolami je shrnuta v Tabulce 7. Korelační analýza mezi mRNA expresí těchto genů a vybraných metabolických faktorů je shrnuta v Tabulce 8. Ve VAT pacientů s PPGL byla přítomna signifikantně vyšší mRNA exprese genů *ADIPORI* ($p < 0,001$), *INSR* ($p = 0,040$) a *NAMPT* ($p < 0,001$). V SAT pacientů s PPGL byla taktéž přítomna vyšší mRNA exprese genů *ADIPORI* ($p = 0,033$) a *NAMPT* ($p = 0,012$).

Ve VAT pacientů s PPGL korelovala negativně s BMI mRNA exprese genu pro inzulínový receptor a genu pro substrát inzulínového receptoru 1. Naopak s vyššími hodnotami BMI se zvyšovala i mRNA exprese genů pro adipokiny visfatin a leptin. V SAT pacientů s PPGL taktéž s BMI negativně korelovala mRNA exprese genů pro adiponektin, inzulín a substráty inzulínového receptoru 1 a 2. mRNA exprese těchto genů zároveň negativně korelovala i s FBG. Pozitivní korelace byla nalezena mezi BMI a mRNA expresí genu pro leptin. mRNA exprese genu pro leptin taktéž vykazovala negativní korelaci s volným normetanefrinem a metanferinem v plazmě.

Tabulka 7: mRNA exprese především genů adipokinů a jejich receptorů ve VAT a SAT pacientů s PPGL ve srovnání s kontrolami

Gene symbol	Gene name	SAT			VAT		
		PPGL n = 25	Kontroly n = 14	<i>p</i>	PPGL n = 25	Kontroly n = 14	<i>p</i>
<i>ADIPOQ</i>	Adiponectin, C1Q and collagen domain containing	1,1 [0,6]	0,9 [0,6]	0,569	1,1 [0,7]	0,9 [0,8]	0,640
<i>ADIPOR1</i>	Adiponectin Receptor 1	1,1 [0,6]	0,8 [0,3]	0,003	1,1 [0,3]	0,8 [0,4]	<0,001
<i>INSR</i>	Insulin receptor	1,1 [0,6]	0,9 [0,3]	0,099	1,2 [0,4]	1,0 [0,7]	0,040
<i>IRS1</i>	Insulin receptor substrate 1	1,1 [0,7]	1,0 [0,5]	0,790	1,0 [0,5]	1,1 [1,2]	0,579
<i>IRS2</i>	Insulin receptor substrate 2	1,1 [0,8]	0,9 [0,4]	0,351	1,0 [0,3]	1,0 [0,9]	0,513
<i>LEP</i>	Leptin	1,2 [0,9]	0,7 [0,8]	0,348	1,1 [1,2]	1,4 [1,0]	0,425
<i>NAMPT</i>	Nicotinamide Phosphoribosyltransferase	1,2 [1,0]	0,6 [0,9]	0,012	1,2 [1,2]	0,5 [0,3]	<0,001
<i>RETN</i>	Rezistin	1,3 [1,0]	1,0 [0,9]	0,250	1,1 [1,1]	0,8 [2,2]	0,738

Statistická významnost je $p \leq 0,05$

Tabulka 8: Korelační analýza mezi mRNA expresí vybraných genů ve vzorcích VAT a SAT a metabolických parametrů pacientů s PPGL

Symbol genu	Faktor	VAT		Symbol genu	Faktor	SAT	
		R	<i>p</i>			R	<i>p</i>
<i>INSR</i>	BMI	-0,385	0,057	<i>ADIPOQ</i>	BMI	-0,520	0,007
<i>IRS1</i>	BMI	-0,451	0,023	<i>INSR</i>	BMI	-0,611	0,001
<i>LEP</i>	BMI	0,467	0,019	<i>IRS1</i>	BMI	-0,566	0,003
<i>NAMPT</i>	BMI	0,417	0,038	<i>IRS2</i>	BMI	-0,626	<0,001
<i>ADIPOR1</i>	P-Nor	0,398	0,048	<i>LEP</i>	BMI	0,463	0,019
<i>LEP</i>	P-Nor	-0,348	0,088	<i>ADIPOQ</i>	FBG	-0,432	0,031
				<i>INSR</i>	FBG	-0,405	0,044
				<i>IRS1</i>	FBG	-0,435	0,029
				<i>IRS2</i>	FBG	-0,498	0,013
				<i>LEP</i>	P-Met	-0,475	0,016
				<i>LEP</i>	P-Nor	-0,377	0,063

Statistická významnost je $p \leq 0,05$ Zkratky: BMI, body mass index; P-Met, volný metanefrin v plazmě; P-Nor, volný normetanefrin v plazmě; FBG, glykémie na lačno

Diskuse

Tuková tkáň

Do roku 2002 se předpokládalo, že se hnědá tuková tkáň u zdravého dospělého člověka nevyskytuje. Feochromocytom/paragangliom byl považován za jeden ze tří patologických stavů (společně s hibernomem a nádorovou kachexií), při kterých BAT dosahuje významného množství nutného k účinkům na metabolismus (Hany, Gharehpapagh et al. 2002, Cohade, Mourtzikos et al. 2003, Cohade, Osman et al. 2003, Yeung, Grewal et al. 2003). Od rozšíření pozitronové emisní tomografie s užitím ¹⁸F-FDG PET/CT se BAT stala obecně akceptovanou jako orgán s potenciálním terapeutickým využitím při léčbě obezity a DM druhého typu (Betz and Enerback 2015, Poher, Altirriba et al. 2015). S přibývajícími studiiemi BAT i BeAT vyvstalo mnoho otázek, a to i u pacientů s PPGL. Někteří autoři popřeli zvýšený výskyt BAT u PPGL, jiní autoři dále popsali u pacientů s PPGL spíše BeAT než BAT (Di Franco, Guasti et al. 2014). Další autoři zase zcela popírají existenci dietou-indukované termogeneze BAT (Kozak 2010).

Z našich vlastních zkušeností, dostupných studií a kazuistik víme, že hubnutí při zachovalém apetitu, stravovacích návycích i fyzické aktivitě, je charakteristické pro pacienty s PPGL. Tento zvýšený energetický výdej jsme kvantifikovali pomocí nepřímé kalorimetrie v naší minulé studii na 17 pacientech s PPGL, kteří byli vyšetřováni před operací a rok po ní (Petrák, Haluzíková et al. 2013). Měřený REE výrazně pooperačně poklesl, a to i při vztahování k váze a tělesnému povrchu. K procesům, které k hypermetabolismu vedou, obecně bývají řazeny katabolické účinky katecholaminů a výskyt chronického prozánětlivého stavu, který jsme taktéž prokázali v našich minulých studiích (Zelinka, Petrák et al. 2007, Bošanská, Petrák et al. 2009, Petrák, Haluzíková et al. 2013). Aktivace BAT či BeAT se nabízí jako další z mechanismů hypermetabolismu u pacientů s PPGL vzhledem k dominantní roli, kterou hraje sympatický systém v její funkci. Naším cílem bylo popsat tukovou tkáň u pacientů s PPGL na úrovni mRNA exprese a zaměřit se na geny spojené jednak se samotnou adipogenezí a dále aktivací BAT a BeAT. Dále jsme se chtěli vyjádřit k otázce, zdali ve VAT u pacientů s PPGL převládá BAT či BeAT s využitím specifických markerů, které známe ze zvířecích modelů. V neposlední řadě jsme se zaměřili na expresi genů spojených s endokrinní funkcí tukové tkáně.

V naší studii jsme prokázali u pacientů s PPGL ve vzorcích retroperitoneální VAT vyšší expresi genu *UCPI*, funkčního markeru BAT i BeAT. Hodnota mediánu u pacientů s PPGL převýšila 35x hodnotu mediánu kontrol. Hodnoty mRNA exprese *UCPI* se obecně nacházely u pacientů s PPGL (na rozdíl od kontrol) v širokém rozmezí. Hodnoty mRNA exprese genu

UCPI pozitivně korelovaly s hladinami normetanefrinu v plazmě a mRNA expresí genu *ADBR3*, genů odpovědného za syntézu β 3-receptorů. mRNA exprese genu *UCPI* v naší skupině klesala s věkem a BMI, což je nález v souladu s obecným nálezem ve zdravé populaci (Pfannenberg, Werner et al. 2010, Wang, Zhang et al. 2015). Vliv pohlaví na expresi *UCPI* jsme naopak v naší skupině nezaznamenali (ve zdravé populaci vychází v některých studiích větší podíl BAT u ženského pohlaví (Wang, Zhang et al. 2015)). Hodnoty mRNA exprese genu *UCPI* ve VAT pacientů s PPGL pozitivně korelovaly dále s mRNA expresí genů *CIDEA* a *DIO2*, které jsou považovány za markery obou tkání – BeAT i BAT. Dále Hodnoty mRNA exprese genu *UCPI* pozitivně korelovaly s mRNA expresí genů pro klíčové transkripční faktory adipogeneze BAT i BeAT a to *PPARGCIA*, *PPRG* a *PRDM16*. Další korelace byla nalezena mezi expresí genu pro marker běžové tukové tkáně *TMEM26* a mRNA expresí *UCPI*. Na tomto místě ještě nelze opomenout zmínit celkově vyšší mRNA expresi ve VAT genu *DIO2*, kódujícím dejodinázu typu II, která je považována za známku zralé BAT. Z výsledků výše zmíněných usuzujeme na přítomnost probíhající noradrenalinem-indukované *UCPI* dependentní termogeneze ve VAT pacientů s PPGL.

Dle dostupných výsledků se považuje BAT i BeAT za kapacitně velmi podobné tkáni stran aktivity netřesové termogeneze. Vývojově se však jedná pravděpodobně o dvě rozdílné tkáni s odlišnou schopností aktivace, obnovy a expanze a s tím spojených odlišných cest regulace. Za jednu z možností k odlišení BeAT a BAT se nyní využívá průkaz exprese sady genů. Seznam těchto genů se v různých publikacích odlišuje, ale několik genů zůstává stejných. V naší práci jsme těchto genů využili. Nenašli jsem však signifikantní rozdíl v expresi klíčových genových markerů pro BAT či BeAT ve vzorcích VAT pacientů s PPGL. Prokázali jsme nízké nebo nezměněné hladiny klíčových markerů BeAT (*TMEM26*, *TNFSRF9* a *SHOX2*) i BAT (*ZIC1*, *FBXO31* a *LHX8*). Je nutné zmínit, že funkce těchto genů není známa nebo je nejednoznačná. Seznam těchto genů je založen především na in vitro a zvířecích modelech (s hlodavci). Rozdílné výsledky byly publikovány i u pacientů s PPGL. Di Franco s kolegy našli v retroperitoneální BAT a z ní odvozených kmenových buněk osmi pacientů s PPGL jak klasické známky BAT, tak i BeAT. V této studii retroperitoneální BAT a nediferencované hnědé kmenové buňky exprimovali vyšší hladiny *ZIC1* a *TNFSRF9*, ale ne *LHX8* (Di Franco, Guasti et al. 2014). Nagano s kolegy prokázali na 11 pacientech s PPGL, že adipocyty retroperitoneální BAT exprimovaly molekulární charakteristiky klasické hnědé spíše než běžové tukové tkáně (Nagano, Ohno et al. 2015). Konkrétně stanovili v retroperitoneální oblasti pacientů s PPGL vyšší expresi genů *UCPI*, *CIDEA*, *ELOVL3*, *EBF3*, *FBXO31* a *LHX8*, ale ne *TNFSRF9*, *TBX1* nebo *TMEM26* ve srovnání se 7 pacienty afunkčním tumorem nadledviny

(Nagano, Ohno et al. 2015). Betz a kol. zkoumali 57 pacientů s tumorem nadledviny (včetně PPGL). Prokázali, že skupina, kde se nachází BAT vykazuje vyšší expresi *UCPI*, *PPARGCIA*, *DIO2*, *ADRB3* ale ne *PRDM16* (Betz, Slawik et al. 2013). V jiné studii prokázal Frontini v omentálním tuku v 12 pacientů s PPGL vyšší expresi *UCPI*, *ADRB3* a *PRDM16*, ale ne *PPARGCIA* a *DIO2*. Naše a výše zmíněné výsledky ukazují, že specificita a funkce těchto klasických genových markerů je stále nejasná (Giralt and Villarroya 2013, Di Franco, Guasti et al. 2014). Na otázku, zdali se ve VAT našich pacientů převažuje BAT či BeAT, proto nedokážeme jednoznačně odpovědět. Na základě našich výsledků je pravděpodobné, že noradrenalin indukuje transformaci obou tukových tkání, tedy jak BAT, tak BeAT.

Ve VAT pacientů s PPGL jsme zaznamenali signifikantně vyšší expresi genů pro transkripční faktory *PPARGCIA* a *CEBPB*. Expresí genu pro další transkripční faktor a to *PRDM16*, se nacházela na hranici významnosti. Expresí genu *PPARGCIA* korelovala ve VAT pacientů s PPGL s expresí genů *UCPI* ($p < 0,001$), *TMEM26* ($p = 0,009$), *CIDEA*, *DIO2* (oba $p < 0,001$) a *ADRB3* ($p < 0,001$). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha ($PGC-1\alpha$), kódovaný genem *PPARGCIA*, je považován za hlavní regulátor mitochondriální biogeneze a esenciální látku pro chladem a agonisty β_3 -receptorů indukovanou termogenezi (Uldry, Yang et al. 2006). *CEBPB* kóduje CCAAT/enhancer-binding protein beta (C/EBP- β), další transkripční faktor v adipogenezi. Ztráta C/EBP- β vede ke snížené termogenezi myši (Carmona, Hondares et al. 2005) a jeho zvýšená funkce vede ke zvýšení aktivity BAT (Karamanlidis, Karamitri et al. 2007). *PRDM16* je transkripční faktor, který indukuje vývoj hnědé tukové tkáně namísto myoblastů z MYf5-pozitivních prekurzorů u myši (Seale, Bjork et al. 2008) a zvyšuje transformaci WAT do BeAT za přítomnosti PPAR γ agonistů nebo agonistů β_3 -receptorů u myši (Ohno, Shinoda et al. 2012). Nenalezli jsme žádný rozdíl v expresi *PPARG* či *PPARD*, skupinu genů pro jaderné receptory. Domníváme se však, že zvýšená aktivita transkripčních faktorů zmíněných výše odráží zvýšenou diferenciaci termogenní tkáně ve zkoumaných vzorcích, ať už se jedná o BAT či BeAT. Tyto transkripční faktory se nachází jednak na začátku diferenciaci a jednak odráží aktivitu i zralější tkáně. Zmíněné transkripční faktory však nejsou 100 % specifické pro BAT či BeAT.

V SAT pacientů s PPGL jsme prokázali vyšší mRNA expresi genů *PPARGCIA* a *ADRB3* společně s vyššími mRNA hladinami genu *CIDEA*. mRNA exprese genu *CIDEA* korelovala pozitivně s expresí genů pro transkripční faktory a to *PPARGCIA* a *PRDM16* (oba $p < 0,05$). mRNA expresi funkčního genu termogeneze *UCPI* jsme však v SAT pacientů s PPGL nezaznamenali (ani v SAT kontrol). O tom, že i v SAT dochází ke změně u pacientů s PPGL informoval např. T. Okamura s kolegy (Okamura, Nakajima et al. 2015). Jasný průkaz

v hnědnutí SAT u pacientů s PPGL však zatím k dispozici není (Vergnes, Davies et al. 2016). Naproti tomu k hnědnutí SAT dochází jasně u myši. Naše výsledky nemůžeme považovat za jasný důkaz zvýšené diferenciaci tkáně, a tady naše hypotéza o transformaci SAT nebyla potvrzena. Na druhou stranu naše výsledky nevyvrací možnost existence UCP1-nezávislé termogeneze, který je v literatuře také hojně diskutován.

Dle hodnoty REE/BEE jsme rozdělili pacienty s PPGL na podskupinu s hypermetabolismem a podskupinu s normálním metabolismem. Dále jsme pacienty s PPGL rozdělili na podskupinu s adrenergním a noradrenergním fenotypem. Nenalezli jsme rozdíl v genové expresi mezi pacienty s PPGL a normometabolismem ve srovnání s hypermetabolismem nebo pacienty s adrenergním fenotypem ve srovnání s noradrenergním fenotypem. Nicméně limitací naší práce v podrobnějších subanalýzách byl nízký počet pacientů s feochromocytomem, neboť se jedná o vzácné onemocnění. Dále musíme brát v úvahu různorodé rozpětí katecholaminů u pacientů s PPGL nebo vliv sezónních teplot.

Stran endokrinní funkce tukové tkáně jsme došli k následujícím výsledkům. Našli jsme pozitivní korelaci mezi mRNA expresí genu *UCP1* a expresí genu kódujícím hormon adiponektin (*ADIPOQ*) a receptor pro adiponektin 1 (*ADIPOR1*) (oba $p < 0,001$). Zároveň jsme prokázali vyšší mRNA expresi genu *ADIPOR1* ve VAT i SAT pacientů s PPGL. Adiponektin je znám širokou škálou pozitivních účinků na metabolismus, ale jeho vliv na BAT je nejasný. Q. Wei s kolegy ukázali, že kmen myši s ablací genu pro adiponektin (*Adipoq*^{-/-}) po vystavení chladu nedokáže dobře udržet teplotu těla a exprese termogenních genů ve VAT i SAT je snižená. Také ukázal že počet mitochondrií v BAT je u těchto myši snižen, stejně tak jako exprese mitochondriálních genů. Dále ukázal že delece genu pro adiponektin vede ke snížené sympatické stimulaci a down-regulaci β 3-receptorů v BAT u těchto myši (Wei, Lee et al. 2017).

Zcela opačné výsledky publikoval L. Qiao s kolegy, kteří označili efekt adiponektinu za výrazně anti-termogenní a jejich kmen myši *Adipoq*^{-/-} se choval v chladu zcela jinak než kmen myši ve studii Q. Weia (Qiao, Yoo et al. 2014). Pozoruhodné je, že efekt na termogenezi v této studii nebyl zprostředkovaný vazbou adiponektinu na receptory pro adiponektin 1 ani 2 (Qiao, Yoo et al. 2014). G. Iacobellis měřil mRNA expresi adiponektinu a jeho receptorů 1 a 2 v tkáni feochromocytomu u 49 pacientů (Iacobellis, Di Gioia et al. 2013). Zároveň měřil hladiny v plazmě celkového a HMW adiponektinu u 10 pacientů s feochromocytomem a u 33 zdravých dobrovolníků. Prokázal vyšší mRNA expresi hlavně pro *ADIPOR1* u pacientů s PPGL a adrenergním fenotypem. U pacientů s noradrenergním fenotypem prokázal vyšší hladiny celkového i HMW adiponektinu (Iacobellis, Di Gioia et al. 2013). V jedné z našich minulých studií jsme změny adiponektinu v jeho cirkulující frakci u 18 pacientů s PPGL před operací ve

srovnání se stavem po operaci, nezaznamenali (Bošanská, Petrák et al. 2009). Naše současná práce s tukovou tkání hovoří spíše pro pozitivní vazbu mezi adiponektinem a termogenezí, který se může projevovat na parakrinní úrovni.

Adipocyty BAT obsahují velké množství inzulinových receptorů a tkáň BAT je obecně považována za vysoce inzulin-senzitivní tkáň. Ve VAT pacientů s PPGL jsme našli vyšší mRNA expresi genu pro inzulinový receptor (*INSR*), ale ne substrátů pro inzulinový receptor 1 a 2. mRNA exprese UCP1 avšak pozitivně korelovala s mRNA expresí jak inzulinového receptoru, tak *IRS1* (oba $p < 0,05$). Nemůžeme vyloučit, že se jedná o up-regulaci receptorů při celkově snížených cirkulujících hladinách inzulinu.

V SAT i VAT pacientů s PPGL jsme prokázali vyšší mRNA expresi genu *NAMPT*, který kóduje hormon visfatin. Předpokládá se, že visfatin je produkován makrofágy infiltrujícími tukovou tkáň spíše než adipocyty samotnými a jeho hladiny korelují se stupněm zánětu (Saddi-Rosa, Oliveira et al. 2010). Visfatin mimikuje účinky inzulinu a snižuje hladinu glukózy v krvi (Adeghate 2008). Rozdíl v mRNA expresi genů pro leptin a rezistin jsme ve VAT či SAT u pacientů s PPGL nenašli.

Výsledky

FGF21

1. Základní charakteristiky skupin

Biochemické, antropometrické a klinické charakteristiky jednotlivých skupin jsou shrnuté v tabulce 9. Skupina obézních a kontrol obsahovala více žen ($p=0,008$). Ve věku se jednotlivé skupiny nelišily. Ve skupině pacientů s PPGL se nacházeli i obézní jedinci (15 %), stejně tak se nacházeli pacienti s arteriální hypertenzí ve skupině obézních (86 %). Obézní pacienti užívali větší počet antihypertenziv ($p=0,038$). V době vyšetření 70 % pacientů s PPGL užívalo alfa-blokátory a 35 % beta-blokátory. Inzulin užívali jak pacienti s PPGL (8 %), tak obézní (19 %). Všichni pacienti (obézní i pacienti s PPGL) užívající PAD užívali metformin. Užívání statinů bylo v obou skupinách takřka vyrovnané. Definicí metabolického syndromu splnila většina obézních pacientů.

Laboratorně obézní skupina vykazovala vyšší BMI a BFP ve srovnání s PPGL i kontrolami ($p<0,001$). Jejich lipidogram se taktéž lišil v hladině triglyceridů a HDL ($p<0,001$). Vyšší energetický metabolismus byl přítomen jak u skupiny s PPGL, tak u obézních ($p=0,007$). Definicí hypermetabolismu splňovalo 49 % pacientů s PPGL. Jak obézní, tak pacienti s PPGL vykazovali vyšší hodnoty systolického krevního tlaku než kontroly ($p=0,002$). Hladiny FBG a HbA1c byly u skupiny PPGL i obézních podobné, ale vyšší než u kontrol ($p<0,001$). Hladiny inzulinu byly nižší u pacientů s PPGL než u kontrol a očekávaně vyšší u obézních ($p=0,037$) společně s HOMA-IR ($p<0,001$) ve srovnání s kontrolami. Adrenergní fenotyp byl přítomen u 61 % pacientů s PPGL a noradrenergní u 39 % pacientů s PPGL.

Tabulka 9: Základní charakteristiky skupin

	Kontroly	Obézní	PPGL	<i>p</i>
	n = 26	n = 21	n = 40	
Ženy (n, %)	21 (81)	18 (86)	21 (53)	0,008
Věk (roky)	48,5 ± 10	54,6 ± 14	52,4 ± 14	0,262
Body mass index (kg/m ²)	23,9 ± 3	44,9 ± 9*†	25,1 ± 4	<0,001
Procento tělesného tuku (%)	27,5 ± 11	51,4 ± 11*†	29,5 ± 8	<0,001
Klidový energetický výdej (Kcal/den)	1467 ± 165	1943 ± 398* ⁺	1691 ± 327	<0,001
REE/BEE (%)	98,7 ± 8	101,9 ± 18‡	110,3 ± 12•	0,007
Systolický krevní tlak (mm Hg)	115 ± 15	133 ± 17‡	132 ± 18•	0,002
Diastolický krevní tlak (mm Hg)	71 ± 15	79 ± 10	76 ± 11	0,106
Střední arteriální tlak (mm Hg)	86 ± 12	97 ± 11‡	95 ± 13•	0,013
Pulzní tlak (mm Hg)	50 ± 9	54 ± 10	56 ± 12	0,439
Glykémie (mmol/l)	4,2 [0,9]	6,0 [3]*	5,8 [2,1] [°]	<0,001
HbA1c (mmol/mol)	34,0 [6]	44,0 [25]*	42,0 [16]•	<0,001
Inzulin (mIU/l)	6,1 [4]	16,3 [9]‡	3,7 [3]•†	<0,001
HOMA-IR	1,2 [1]	4,9 [7]†* ⁺	0,95 [1]	<0,001
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,1 ± 0,8	4,9 ± 1	4,6 ± 1	0,180
HDL cholesterol (mmol/l)	1,6 ± 0,4	1,1 ± 0,3* ⁺	1,5 ± 0,5	<0,001
LDL cholesterol (mmol/l)	3 ± 0,7	2,9 ± 0,9	2,6 ± 1	0,144
Triglyceridy (mmol/l)	1,0 [0,4]	1,7 [0,4]*†	0,9 [0,7]	<0,001
FGF21 (pg/ml)	107,9 [116]	160,4 [180]*	174,2 [283] [°]	<0,001
Hypertenze (n, %)	-	18 (86)	26 (65)	0,185
Diabetes Mellitus (n, %)	-	11 (52)	13 (33)	0,757
Obezita (n, %)	-	21 (100)	6 (15)	-
Dyslipidemie (n, %)	-	18 (86)	23 (58)	0,718
Metabolický syndrom (n, %)	-	19 (90)	20 (50)	0,118
Užívání PAD (n, %)	-	10 (48)	10 (26)	0,025
Užívání inzulínu (n, %)	-	4 (19)	3 (8)	-
Užívání statinu (n, %)	-	10 (48)	16 (40)	0,863
Počet antihypertenziv (n)	-	2,38 ± 1,5	1,85 ± 1,1	0,038
Užívání alfa blokátorů (n, %)	-	4 (19)	28 (70)	-
Užívání beta blokátorů (n, %)	-	12 (57)	14 (35)	0,017

* <0,001 Obézní vs. Kontroly; † <0,001 Obézní vs. PPGL; ⁺ <0,05 Obézní vs. PPGL; ‡ <0,05 Obézní vs. Kontroly; • <0,05 PPGL vs. Kontroly; [°] <0,001 PPGL vs. Kontroly; Statistická významnost je p ≤ 0,05; Zkratky: REE, klidový energetický výdej; BEE, bazální metabolický výdej; HbA1c, glykovaný hemoglobin; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; PAD, perorální antidiabetika

2. Efekt adrenalectomie u pacientů s PPGL

Podskupina 27 pacientů byla vyšetřena 1 rok po provedení unilaterální adrenalectomie. Základní charakteristiky obou skupin před a po operaci jsou shrnuty v Tabulce 10. Pokles v hladině volných metanefrinů v plazmě a chromograninu A odráží úspěšnost operace ($p < 0,001$). Váhový přírůstek byl signifikantní ve všech sledovaných parametrech. Žádný pacient po operaci nesplnil kritéria pro hypermetabolismus. Arteriální hypertenze zůstala přítomna u 22 % pacientů, ale celkový počet užívaných antihypertenziv se snížil. Hladiny FBG a HbA1c významně poklesly ($p < 0,001$ a $p = 0,018$). Překvapivě nedošlo k normalizaci hladin inzulínu, ale normoglykémie byla pooperačně přítomna u většiny pacientů (93 %). Inzulín rok po operaci neužíval žádný pacient.

Tabulka 10: Pacienti s PPGL před a rok po operaci

	Před	Po	p
	n = 27	n = 27	
Ženy (n, %)	15 (56)	15 (56)	-
Věk (roky)	51,9 ± 13	53,0 ± 13	<0,001
Body mass index (kg/m ²)	24,7 ± 3	26,2 ± 4	<0,001
Procento tělesného tuku (%)	29,3 ± 9	32,3 ± 9	0,034
BEE (Kcal/den)	1509 ± 252	1543 ± 266	0,001
REE (Kcal/den)	1655 ± 311	1477 ± 216	<0,001
REE/BEE (%)	110,8 ± 12	96,5 ± 7	<0,001
Systolický TK (mm Hg)	132 ± 19	125 ± 17	0,084
Diastolický TK (mm Hg)	76 ± 11	75 ± 11	0,598
MAP (mm Hg)	94 ± 13	91 ± 12	0,253
Pulzní tlak (mm Hg)	56 ± 13	56 ± 19	0,888
FBG (mmol/l)	5,7 [1,7]	4,8 [0,8]	<0,001
HbA1c (mmol/mol)	42,0 [17]	40,0 [6]	0,018
Inzulin (mIU/l)	3,3 ± 3	2,8 ± 3	<0,001
HOMA-IR	0,9 ± 0,9	0,6 ± 0,7	<0,001
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,8 ± 1	4,6 ± 1,1	0,436
HDLc (mmol/l)	1,5 ± 0,5	1,4 ± 0,8	0,237
LDLc (mmol/l)	2,7 ± 1	2,7 ± 0,8	0,771
Triglyceridy (mmol/l)	0,8 [0,6]	1,2 [0,7]	0,017
FGF21 (pg/ml)	176,4 [284]	131,3 [225]	<0,001
P-Metanefrin (nmol/l)	3,1 [9]	0,17 [0,2]	<0,001
P-Normetanefrin (nmol/l)	11,6 [14]	0,33 [0,4]	<0,001
Chromogranin (ng/ml)	334,8 [489]	39,6 [38]	<0,001
Art. hypertenze (%)	19 (70)	6 (22)	0,071
Diabetes mellitus (%)	9 (33)	2 (7)	0,037
Obezita (n, %)	2 (7)	2 (7)	-
Dyslipidemie (n, %)	17 (63)	18 (67)	0,775
MS (n, %)	14 (52)	6 (22)	0,241
Užívání PAD (n, %)	5 (19)	2 (7)	0,203
Užívání inzulinu (n, %)	3 (11)	0 (0)	0,074
Užívání statinů (n, %)	11 (41)	13 (48)	0,583
Užívání antihypertenziv (n)	1,93 ± 1	0,37 ± 0,7	<0,001

Statistická významnost je $p \leq 0,05$; Zkratky: REE, klidový energetický výdej; BEE, bazální metabolický výdej; TK, krevní tlak; MAP, střední arteriální tlak; FBG, glykémie na lačno; HbA1c; glykovaný hemoglobin; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance; HDLc, high-density lipoprotein cholesterol; LDLc, low-density lipoprotein cholesterol; FGF21, fibroblastový růstový faktor 21; P-, v plazmě; MS; metabolický syndrom; PAD, perorální antidiabetika

3. Hladiny FGF21 a jeho korelace

Hladiny FGF21 se nacházely u všech skupin v širokém rozpětí. Korelace mezi FGF21 a vybranými faktory jsou uvedeny v Tabulce 11 a Grafu 2. Hladiny FGF21 byly signifikantně vyšší u PPGL než u kontrol ($p < 0,001$) a srovnatelné s obézními. Pacienti s PPGL a diabetem vykazovali vyšší hladiny FGF21 než ti s normální glukózovou tolerancí (438,2 [337] pg/ml vs. 154,5 [97] pg/ml; $p = 0,007$). Pacienti s PPGL a diabetem taktéž vykazovali vyšší hladiny FGF21 než ti s prediabetem (438,2 [337] pg/ml vs. 154,5 [97] pg/ml; $p = 0,022$). Obézní diabetici taktéž vykazovali vyšší hladiny FGF21 než obézní s normální glukózovou tolerancí (314,1 [300] pg/ml vs. 140,5 [7] pg/ml; $p = 0,049$). Obézní s diabetem vykazovali vyšší hladiny FGF21 než obézní s prediabetem (314,1 [300] pg/ml vs. 113,1 [54] pg/ml; $p = 0,024$). Hladiny FGF21 u pacientů s PPGL a noradrenergním fenotypem se lišily od těch s adrenergním fenotypem lehce nad úroveň významnosti ($p = 0,062$). Rozdíl mezi pacienty s PPGL a hypermetabolismem či normálním metabolismem nebyl zachycen.

Hladiny FGF21 korelovaly pozitivně u pacientů s PPGL s věkem ($p = 0,005$), BMI ($p = 0,028$), pulzním tlakem ($p = 0,032$), glykemií na lačno ($p = 0,002$) a HbA1c ($p = 0,014$). Pacienti s PPGL a s metabolickým syndromem nebo dyslipidemií vykazovali vyšší hladiny FGF21 než jedinci bez těchto onemocnění ($p < 0,001$). Hladiny FGF21 u hlavních komponent metabolického syndromu jsou shrnuty v Tabulce 12.

Tabulka 11: Korelace mezi hladinami FGF21 a vybranými faktory

	PPGL (n = 40)	
	R	<i>p</i>
Věk (roky)	0,435	0,005
Váha (kg)	0,267	0,095
Body mass index (kg.m-2)	0,348	0,028
P-Metanefrin (nmol/l)	0,212	0,194
P-Normetanefrin (nmol/l)	0,086	0,602
Respirační kvocient	-0,121	0,474
BEE (Kcal/den)	0,169	0,316
REE (Kcal/den)	0,163	0,336
REE/BEE (%)	0,018	0,915
Systolický krevní tlak (mm Hg)	0,194	0,231
Diastolický krevní tlak (mm Hg)	-0,047	0,755
Střední arteriální tlak (mm Hg)	0,058	0,721
Pulzní tlak (mm Hg)	0,338	0,032
Glykémie na lačno (mmol/l)	0,459	0,002
HbA1c (mmol/mol)	0,426	0,014
Inzulin (mIU/l)	0,097	0,551
HOMA-IR	0,248	0,121
Celkový cholesterol (mmol/l)	-0,045	0,785
HDL cholesterol (mmol/l)	0,009	0,593
LDL cholesterol (mmol/l)	-0,211	0,196
Triglyceridy (mmol/l)	0,255	0,113

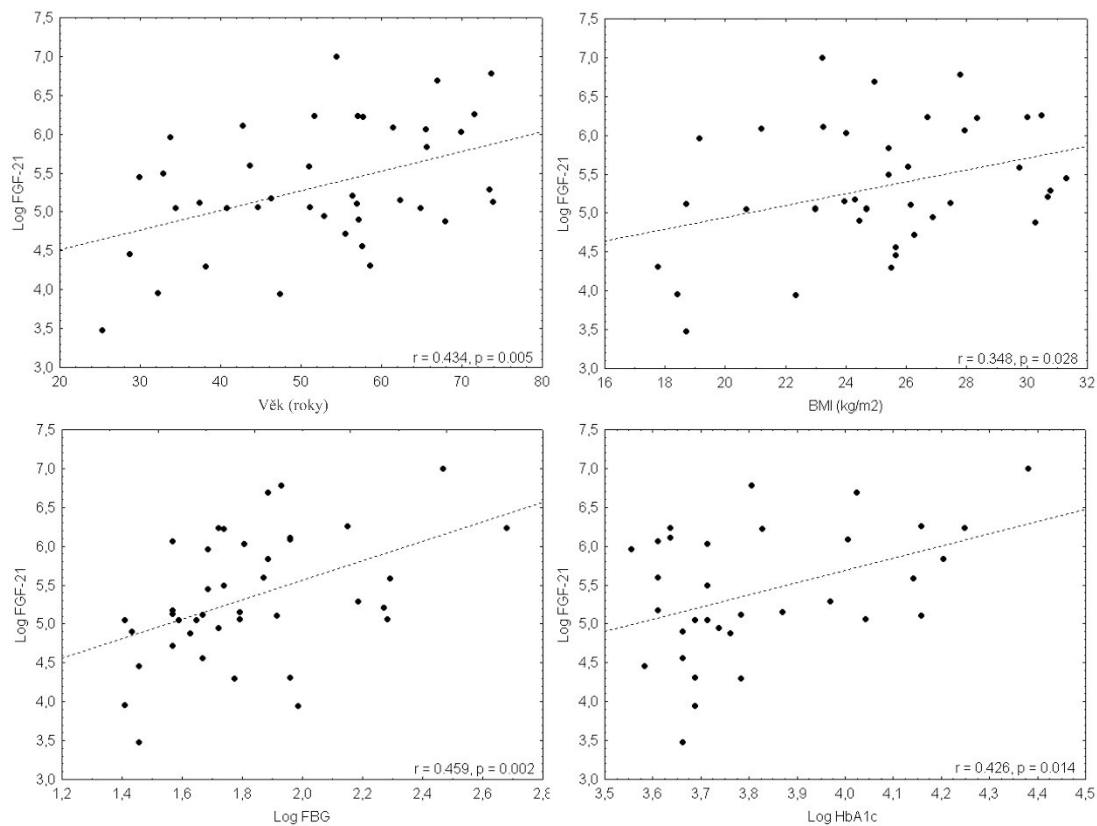
Statistická významnost je $p \leq 0,05$; Zkratky: P-, v plazmě; REE, klidový energetický výdej; HbA1c, glykovaný hemoglobin; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein

Tabulka 12: Hladiny FGF21 u jednotlivých komponent metabolické syndromu u pacientů s PPGL

		n	FGF21	p
Dyslipidemie	Ano	23	264,9 [343]	<0,001
	Ne	17	133,7 [102]	
Diabetes mellitus	Ano	13	438,2 [337]	0,001
	Ne	27	158,0 [170]	
Centrální obezita	Ano	6	214,2 [326]	0,486
	Ne	34	167,1 [280]	
Metabolický syndrom	Ano	20	377,9 [333]	<0,001
	Ne	20	147,8 [94]	
Hypertenze	Ano	26	214,2 [348]	0,085
	No	14	160,4 [131]	

Statistická významnost je od $p \leq 0,05$

Graf 2: Korelace hladin FGF21 a vybraných faktorů u pacientů s PPGL



Zkratky: Log10, dekadický logaritmus; BMI, Body mass index; FBG, glykémie na lačno; HbA1c, Glykovaný hemoglobin; FGF21, Fibroblastový růstový faktor 21

4. Hladiny dalších vybraných adipokinů

Hladiny vybraných adipokinů u pacientů před operací ve srovnání se stavem po operaci a s kontrolami, jsou shrnuty v tabulce 13. Nenašli jsme signifikantní rozdíl v žádném ze stanovených hormonů. Z technických důvodů neinterpretujeme hladiny adiponektinu.

Tabulka 13: Sérové hladiny dalších adipokinů u pacientů s PPGL před operací, po operaci a u zdravých kontrol

Faktor	PPGL před	PPGL po	Kontroly	
	n = 40	n = 34	n = 23	<i>p</i>
Adiponektin (pg/ml)	-	-	-	-
Lipokalin 2/NGAL (ng/ml)	182,2 [112]	157,6 [107]	169,7 [61]	0,418
Rezistin (ng/ml)	65,3 [30]	70,6 [27]	81,1 [38]	0,249
Adipsin (ug/ml)	4,1 [1,5]	4,3 [1,7]	3,9 [1,5]	0,365
PAI 1 (pg/ml)	92,6 [47]	87,5 [37]	81,7 [38]	0,106

Statistická významnost je $p \leq 0,05$; Zkratky: PAI-1, Inhibitor aktivátoru plasminogenu typu 1

Diskuse

FGF21

V této části studie jsme se zabývali FGF21 – peptidem u kterého se předpokládá vliv na energetický, glukózový a lipidový metabolismus, stejně tak jako vliv na BAT, event. BeAT. Naše studie ukázala, že pacienti s PPGL mají vyšší hladiny FGF21 ve srovnání s kontrolami a tyto hladiny se neliší od hladin FGF21 obézních jedinců. Dále jsme zaznamenali signifikantní pokles v hladinách FGF21 po odstranění nádoru. Zvýšené hladiny FGF21 byly zvláště evidentní u pacientů s PPGL a DM a pozitivně korelovaly s hladinami glykémie na lačno a BMI. Nenašli jsme spojení mezi FGF21 a hypermetabolismem u pacientů s PPGL.

Ze zvířecích modelů víme, že FGF21 stimuluje výdej energie a zvyšuje metabolický obrat a fyzickou aktivitu (Xu, Lloyd et al. 2009). U lidí byly publikovány protichůdné výsledky v závislosti na studované populaci. U zdravých dobrovolníků s váhou v mezích normy korelovaly pozitivně hladiny FGF21 s celkovým energetickým výdejem během vystavení chladu (Straczkowski, Karczewska-Kupczewska et al. 2013). V jiné studii korelovaly hladiny FGF21 pozitivně s glykemií na lačno a REE, zvláště u obézních pacientů (Straczkowski, Karczewska-Kupczewska et al. 2013). Na druhou stranu, nebyla nalezena žádná asociace mezi FGF21 a REE u pacientů s hyperkortisolismem či u zdravé populace s nízkou porodní váhou (Ďurovcová, Marek et al. 2010, Vienberg, Brons et al. 2012).

Nadprodukce katecholaminů u pacientů s PPGL vede ke zvýšenému energetickému výdeji (Petrák, Haluzíková et al. 2013). Ačkoliv jsme prokázali zvýšené hladiny FGF21, nenašli jsme spojení s hypermetabolismem. V biopsiích tuku u pacientů s PPGL byla prokázána vyšší exprese mRNA FGF21 ve srovnání s kontrolami podstupujícími elektivní cholecystektomii (Hondares, Gallego-Escuredo et al. 2014). Tato studie však neobsahovala hladiny FGF21 v periferní krvi. Můžeme se tedy domnívat, že sérové hladiny neodráží parakrinní aktivitu FGF21 v tukové tkáni.

Experimentální studie ukázaly, že to je noradrenalin, který stimuluje produkci FGF21 v hnědé tukové tkáni přes aktivaci β -receptorů (Hondares, Iglesias et al. 2011) a tento jev není ovlivněn současným podáváním alfa-blokátorů (Hondares, Iglesias et al. 2011). Překvapivě jsme nenašli spojení mezi sérovými hladinami FGF21 a volnými metanefriny v plazmě či jednotlivými fenotypy. V naší studii jsme využili volné metanefriny v plazmě, které jsou zlatým standardem při diagnostice PPGL. Jsou kontinuálně produkovány nádorovými buňkami PPGL nezávisle na sekreci katecholaminů, a proto nereflektují biochemickou aktivitu nádorů.

Domníváme se, že tento jev by mohl vysvětlit slabou spojitost mezi FGF21 a noradrenergním fenotypem v této části studie.

Mráz se spolupracovníky ukázali, že exprese FGF21 v lidských játrech byla více než 100násobná ve srovnání s bílou tukovou tkání, což naznačuje, že játra jsou primárním zdrojem FGF21 u člověka (Mráz, Bártlová et al. 2009). Zvýšená produkce FGF21 játry byla spojena s obezitou, DM2T nebo metabolickým syndromem (Zhang, Yeung et al. 2008, Mráz, Bártlová et al. 2009, Semba, Sun et al. 2012). Naše studie ukazuje podobné spojitosti. Obézní pacienti s metabolickým syndromem měli vyšší sérové hladiny FGF21, které zároveň korelovaly s BMI a hladinou glykémie na lačno. U našich pacientů s PPGL byly výsledky podobné, ačkoliv jejich hodnoty BMI byly nižší. Otázkou zůstává, zdali je to hyperglykémie, kdo vyvolává nadprodukcí FGF21 u pacientů s PPGL. Podle dostupných studií je možné lidské sérové hladiny FGF21 zvýšit infúzí glukózy (Lin, Gong et al. 2012, Dushay, Toschi et al. 2015, Vienberg, Jacobsen et al. 2017) a 24hodinovou hyperglykemií udržovanou intravenózní infúzí glukózy (von Holstein-Rathlou, BonDurant et al. 2016). Na druhou stranu R.J. Samms se spolupracovníky ukázali, že inzulin více než glukóza zvyšuje celkový a bioaktivní FGF21 v postprandiálně období u dospělých s i bez DM během funkčních testů (Samms, Lewis et al. 2017). V naší skupině pacientů s PPGL byly naměřeny hodnoty inzulinu signifikantně nižší než u obézních a hubených kontrol. U pacientů s PPGL je inzulinová sekrece ovlivněna inhibičním efektem katecholaminové nadprodukce pomocí α -adrenergních receptorů v β -buňkách pankreatu (Colwell 1969, Isles and Johnson 1983, Cryer 1993). H. Komada s kolegy prokázali u pacientů s PPGL poruchu inzulinové sekrece především v časně fázi (Komada, Hirota et al. 2017). Naše práce ukazují, že metabolické změny u PPGL jsou částečně reverzibilní. Rok po odstranění tumoru jsme prokázali zlepšení v metabolismu glukózu a inzulinové rezistence doprovázející pokles v sérových hladinách FGF21 i přes signifikantní nárůst na váze u našich pacientů.

Další adipokiny

Nenašli jsme u pacientů s PPGL rozdíl v sekreci NGAL či adiposinu, adipokinů hrajícími roli v imunitní odpovědi. Stejně tak jsme nezaznamenali u naší skupiny pacientů změny v sekreci PAI-1, faktoru působícím v procesu fibrinolýzy či hormonu rezistinu. Všechny tyto hormony byly měřeny v séru. Eventuální rozdíly v jejich tkáňové koncentraci s potenciálním parakrinním účinkem nemůžeme vyloučit. Obdobně v naší minulé práci jsme nenašli rozdíly v periferních hodnotách adiponektinu a leptinu (Bošanská, Petrák et al. 2009).

Limitace

Naše studie s tukovou tkání má následující limitace. Zaprvé, obě vyšetřované skupiny obsahovaly jedince s obezitou i nadváhou, což jsou stavy, které jsou samy o sobě spojené s přestavbou tukové tkáně. Zadruhé, vzorky VAT nebyly odebrány ze stejných oblastí. Retroperitoneální tuková tkáň obsahuje fyziologicky více hnědé tukové tkáně, zatímco omentální ji obsahuje minimálně nebo vůbec, a to jak ve zdraví, tak nemoci. Jsme si tohoto faktu vědomi a snažili jsme se vyhnout nepřesným srovnáním. Nemůžeme taktéž vyloučit vliv užívané medikace, procesu odběru tukové tkáně a odlišné teploty v daném období. Dále musíme brát také v úvahu, že genová exprese neodpovídá striktně výsledné proteosyntéze.

Rozsah koncentrace FGF21 v séru dospělých jedinců je široký, což dělá jeho interpretaci složitou. Taktéž nemůžeme vyloučit v této části práce vliv užívané medikace. V naší studii jsme měřili celkový FGF21, a ne jeho bioaktivní formu. Feochromocytom je onemocnění vzácné a počet pacientů limituje interpretaci statistických testů nebo jejich provedení. Tato obtíž nastává především při analýzách podskupin.

Závěr

Naše práce přináší nové poznatky ohledně tukové tkáně a cirkulujících adipokinů, především FGF21, u pacientů s feochromocytomem. Zároveň rozšiřujeme znalosti ohledně dlouhodobého působení katecholaminů na metabolismus.

Ve vzorcích retroperitoneální VAT pacientů s PPGL ve srovnání s omentální VAT kontrol jsme prokázali známky UCP1-mediované noradrenalinem indukované termogeneze s vyšší expresí genu *DIO2*. Zároveň jsme prokázali v této tkáni pacientů s PPGL vyšší mRNA expresi klíčových transkripčních faktorů adipogeneze BAT/BeAT a to *PPARGC1A*, *CEBPB* a *PRDM16*. Překvapivě jsme neprokázali klasický zvířecí model genové exprese BAT ani BeAT ve vzorcích VAT pacientů s PPGL. Na otázku, zdali u pacientů s PPGL převládá výskyt BAT nebo BeAT proto nedokážeme jednoznačně odpovědět. V VAT pacientů s PPGL jsme našli známky možné transformace v BeAT, ale bez známek současně probíhající UCP1-mediované termogeneze. Současně rozšiřujeme endokrinní funkce termogenní tukové tkáně o možné působení adiponektinu a visfatinu. Nenašli jsme jasnou korelaci mezi zmíněnou genovou expresí a hypermetabolismem či jedním ze sledovaných katecholaminových fenotypů.

Dále jsme prokázali, že pacienti s PPGL mají vyšší cirkulující hladiny FGF21 ve srovnání s kontrolami a po adrenalectomii dochází k jejich poklesu. Zvýšené hladiny FGF21 byly zvláště evidentní u pacientů s DM a byly pozitivně spojené s hladinami glykémie na lačno a BMI u těchto pacientů. Důsledky elevace FGF21 u pacientů s PPGL jsou nejasné. Nemůžeme z naší práce říct, zdali jsou zvýšené hodnoty důsledkem kontroverzní "FGF21 rezistence" jak bývá popisováno u obézních pacientů nebo pacientů s DM 2. typu nebo zdali má FGF21 specifický metabolický efekt. Domníváme se, že hladiny FGF21 u pacientů s PPGL jsou biologicky signifikantní a odráží metabolické abnormality asociované s diabetem mellitus a metabolickým syndromem. Spojení mezi sérovými hladinami FGF21 s hypermetabolismem jsme nenašli.

Nenašli jsme u pacientů s PPGL rozdíl v cirkulujících hladinách rezistinu, NGAL, adiposinu nebo PAI-1. Možné změny tkáňových koncentrací s převládajícími parakrinními účinky vyloučit ale nemůžeme, což dokládá první část práce, která zahrnovala mj. adiponektin.

Souhrn

PPGL jsou vzácné neuroendokrinní nádory vycházející z chromafinních buněk dřeně nadledvin nebo sympatických ganglií. Je pro ně typická nadprodukce katecholaminů, která může vést k široké škále obtíží a metabolických odchylek zahrnujících mj. poruchu glukózového, lipidového a energetického metabolismu. Tyto nádory nám tak umožňují studovat účinky dlouhodobé nadprodukce stresových hormonů na organismus.

Z našich vlastních zkušeností, dostupných studií a kazuistik víme, že hubnutí při zachovalém apetitu, stravovacích návycích i fyzické aktivitě, je charakteristické pro pacienty s PPGL a naplno se projeví až po odstranění tumoru. Zvýšený energetický výdej jsme kvantifikovali pomocí nepřímé kalorimetrie v jedné z předcházejících studiích. K procesům, které k hypermetabolismu vedou, bývají řazeny katabolické účinky katecholaminů a výskyt chronického prozánětlivého stavu, který jsme taktéž prokázali v minulých studiích. Aktivace hnědé či béžové tukové tkáně se nabízí jako další z mechanismů hypermetabolismu u pacientů s PPGL vzhledem k dominantní roli, kterou hraje sympatický systém v její aktivaci. BAT je nyní považována za metabolickou tkáň s potenciálním terapeutickým využitím při léčbě obezity a DM druhého typu, onemocněních, které dosáhly charakteru pandemie.

Naším cílem bylo popsat tukovou tkáň u pacientů s PPGL na úrovni mRNA exprese a zaměřit se na geny spojené jednak se samotnou adipogenezí a dále aktivací BAT a BeAT. Dále jsme se chtěli vyjádřit k otázce, zdali u pacientů s PPGL převládá BAT či BeAT s využitím specifických markerů, které známe ze zvířecích modelů. V neposlední řadě jsme se zaměřili na expresi genů spojených s endokrinní funkcí tukové tkáně. V druhé části práce jsme se věnovali cirkulujícím hormonům tukové tkáně, adipokinům, a to především FGF21. Naším cílem bylo dále srovnat hodnocené parametry s metabolickými charakteristikami skupin.

Ve studii jsme měli zařazené pacienty s PPGL, vyšetřené před operací a rok po ní, pacienty absolvující elektivní cholecystektomii, obézní a dále skupinu zdravých dobrovolníků. Vzorky SAT i VAT byly získány během otevřené či laparoskopické adrenalektomie u pacientů s PPGL a během laparoskopické cholecystektomie u kontrol. mRNA exprese genů byla měřena metodou real-time PCR. Energetický metabolismus byl kvantifikován metodou nepřímé kalorimetrie s užitím ventilované kanopy.

Ve vzorcích retroperitoneální VAT pacientů s PPGL ve srovnání s omentální VAT kontrol jsme prokázali známky UCP1-mediované noradrenalinem indukované termogeneze s vyšší expresí *DIO2*. Zároveň jsme prokázali v této tkáni pacientů s PPGL vyšší mRNA expresi klíčových transkripčních faktorů adipogeneze BAT/BeAT a to *PPARGC1A*, *CEBPB* a

PRDM16. Překvapivě jsme neprokázali klasický zvířecí model genové exprese BAT ani BeAT ve vzorcích VAT pacientů s PPGL. Na otázku, zdali u pacientů s PPGL převládá výskyt BAT nebo BAT proto nedokážeme odpovědět. V SAT pacientů s PPGL jsme našli známky možné transformace v BeAT, ale bez známek současně probíhající UCP1-mediované termogeneze. Současně rozšiřujeme možné endokrinní funkce tukové tkáně o působení adiponektinu a visfatinu. Nenašli jsme jasnou korelaci mezi zmíněnou genovou expresí a hypermetabolismem či jedním ze sledovaných katecholaminových fenotypů.

Dále jsme prokázali, že pacienti s PPGL mají vyšší cirkulující hladiny FGF21 ve srovnání s kontrolami a po adrenalectomii dochází k jejich poklesu. Zvýšené hladiny FGF21 byly zvláště evidentní u pacientů s DM a byly pozitivně spojené s hladinami glykémie na lačno a BMI u těchto pacientů. Důsledky elevace FGF21 u pacientů s PPGL jsou nejasné. Nemůžeme z naší práce říct, zdali jsou zvýšené hodnoty důsledkem kontroverzní "FGF21 rezistence" jak bývá popisováno u obézních pacientů nebo pacientů s DM 2. typu nebo zdali má FGF21 specifický metabolický efekt. Domníváme se, že hladiny FGF21 u pacientů s PPGL jsou biologicky významné a odráží metabolické abnormality asociované s diabetem mellitus a metabolickým syndromem. Spojení mezi sérovými hladinami FGF21 s hypermetabolismem jsme nenašli.

Nenašli jsme u pacientů s PPGL rozdíl v cirkulujících hladinách rezistinu, NGAL, adiposinu nebo PAI-1. Navazujeme tím na naši starší práci, kdy jsme nenašli rozdíl v cirkulujících hladinách adiponektinu a leptinu. Možné změny tkáňových koncentrací s převládajícími parakrinními účinky vyloučit ale nemůžeme.

S naší prací tak přinášíme nové poznatky ohledně tukové tkáně a cirkulujících adipokinů, především FGF21, u pacientů s feochromocytomem. Zároveň tímto rozšiřujeme znalosti ohledně dlouhodobého působení katecholaminů na metabolismus.

Summary

PPGL are rare neuroendocrine tumors arising from chromaffin cells of adrenal medulla or sympathetic ganglia. They are characterized by catecholamines overproduction, which give a rise to wide scale of signs and symptoms including disorders of glucose, lipid and energy metabolism. PPGL allow us to study impact of long-time overproduction of stress hormones on human body.

Based on our own experience, accessible studies and case histories, weight loss despite normal food intake and physical activity accompanies PPGL and manifests itself fully after adrenalectomy. We quantified the increased energy expenditure by indirect calorimetry in one of our previous studies. Processes leading to hypermetabolism in patients with PPGL include catabolic actions of catecholamines and long-lasting chronic proinflammatory state, which was also demonstrated in one of our previous studies.

Activation of brown or beige adipose tissue is another possible mechanism of hypermetabolism due to crucial role of sympathetic system in activation of those tissues. BAT is nowadays considered as potential therapeutic target in curing obesity and DM type 2, the wide-spread chronic diseases.

Our aim was to characterize the adipose tissue of patients with PPGL by using mRNA expression of genes potentially connected with differentiation and activation of BAT/BeAT. Our aim was also to determine the type of thermogenic adipose tissue in patients with PPGL based on specific set of core murine genes connected with BeAT or BAT. Finally, we wanted to determine the mRNA expression of genes related with endocrine functions of adipose tissue. In the second part of our study, we determined the circulating levels of adipokines, mainly the FGF21. We also compared all measured values with metabolic characteristics of our patients.

Patients with PPGL were examined before and one year after surgery. Patients undergoing elective cholecystectomy, obese patients and healthy volunteers were enrolled. Samples of VAT and SAT were obtained during laparoscopic or open adrenalectomy and laparoscopic cholecystectomy. mRNA expression of selected genes in SAT and VAT was measured via real-time PCR. Energy expenditure was quantified via indirect calorimetry using a canopy.

We demonstrate signs of UCP1-dependent norepinephrine induced thermogenesis connected with overexpression of *DIO2* in retroperitoneal VAT of PPGL in comparison with omental VAT of controls. We also demonstrate in VAT of patients with PPGL higher expression of key transcriptional factors of brown/beige adipogenesis, namely *PPARGC1 α* ,

CEBPB and *PRDM16*. However, classic murine BAT or BeAT gene signature in VAT of PPGL was not detected. The question whether BAT or BeAT dominate in VAT of PPGL remains unanswered. In SAT of PPGL we found signs of possible BeAT transformation, however without simultaneously undergoing UCP1-dependent thermogenesis. We also extend possible endocrine functions of BAT/BeAT of hormone adiponectin and visfatin. We did not find clear relation between mRNA expression of selected genes and hypermetabolism or one of catecholamine phenotypes.

We also demonstrate that patients with PPGL have higher serum levels of FGF21 compared to healthy controls and these levels do not differ from obese patients. Furthermore, successful tumor removal decreased significantly FGF21 levels. Elevated FGF21 levels were more evident in patients with secondary diabetes mellitus and were related positively to fasting glucose levels and BMI in PPGL. The consequences of the elevation of FGF21 in PPGL are unclear. We cannot identify from our work whether the elevation of FGF21 is the result of a controversial FGF21 resistance as is known in obese and diabetic patients, or whether FGF21 has some biological effect. We assume, that elevated levels of FGF21 in patients with PPGL are biologically significant and reflect metabolic abnormalities associated with diabetes mellitus and obesity. We did not find a relationship between FGF21 and hypermetabolic state in PPGL.

We did not find difference in circulating levels of following hormones in patients with PPGL: resistin, lipocalin 2, adiponectin and PAI-1. In our previous work, we did not detect difference in circulating levels of adiponectin and leptin in patients with PPGL.

With our study we bring new findings of adipose tissue and circulating adipokines, primarily FGF21, in patients with PPGL. Simultaneously, we extend our knowledge of long-lasting actions of catecholamines on human metabolism.

Seznam použitých zkratek

1.LF UK	1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy
ADIPOQ	Adiponektin
ADIPOR1, 2	Receptor pro adiponektin 1 a 2
ADRB3	β 3-adrenoreceptory
ATP/ADP	Adenosintrifosfát/Adenosindifosfát
BAT	Hnědá tuková tkáň
BeAT	Běžová tuková tkáň
BFP	Procento tělesného tuku
BMI	Body mass index
Bmp7	Bone morphogenetic protein 7
BMR	Bazální metabolický výdej
C/EBP β/α	CCAAT-enhancer-binding protein beta/alfa
CIDEA	Cell Death Inducing DFFA Like Effector A
COMPT	Katechol-O-methyltransferáza
CRP	C-reaktivní protein
DAG	Diacylglycerol
DHMA	3,4-Dihydroxymandelová kyselina
DHPG	Dihydroxyfenylglykol
DIO2	Deiodinázá typu II
DM	Diabetes mellitus
DNA/RNA/mRNA	Deoxyribonukleová kyselina /Ribonukleová kyselina/messenger RNA
DOPEGAL	3,4-Dihydroxyfenylglykolaldehyd
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay
FBG	Glykémie na lačno
FBXO31	F-box only protein 31
FDG	Fludeoxyglukóza
FGF21	Fibroblastový růstový faktor 21
GLUT4	Glukózový transportér typu 4
GTP/GDP	Guanosintrifosfát/Guanosindifosfát
Hba1c	Glykovaný hemoglobin
HDL	Lipoproteiny s vysokou hustotou
HOMA-IR	Homeostatický index inzulínové rezistence

HU	Housfieldovy jednotky
DM	Diabetes mellitus
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
INSR	Inzulínový receptor
IP3	Inositol trifosfát
IQR	Mezikvartilové rozpětí
IRS1	Substrát pro inzulínový receptor 1
IRS2	Substrát pro inzulínový receptor 2
ISI	Insulin sensitivity index
L-DOPA	L-3,4-dihydroxyfenylalanin
LDL	Lipoproteiny o nízké hustotě
LEP	Leptin
LHX8	LIM homeobox 8
MAO	Monoaminoxidáza
MIBG	Metaiodobenzylguanidin
MYF5	Myogenic factor 5
NAMPT	Visfatin
NGAL	Neutrofilní s gelatinázou asociovaný lipokalin
PAD	Perorální antidiabetika
PAI-1	Inhibitor aktivátoru plazminogenu typ 1
PCR	Polymerázová řetězová reakce
Pdgfra	Platelet Derived Growth Factor Receptor
PET/CT	Pozitronová emisní tomografie / Počítačová tomografie
PGC-1 α	Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator
PPAR γ/α	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma/alfa
PPGL	Fechromocytomy a funkční paragangliomy
PRDM16	PR domain containing 16
REE	Klidový energetický výdej
RETN	Rezistin
RQ	Respirační kvocient
SAT	Subkutánní tuková tkáň
SD	Standardní odchylka

SHOX2	Short stature homeobox 2
SUV	Standardized uptake value
TMEM26	Transmembrane protein 26
TNF- α	Tumor nekrotizující faktor alfa
TNFSRF9	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 9
UCPs	Uncoupling proteiny
UCP1	Uncoupling protein 1
VAT	Viscerální tuková tkáň
VMA	Kyselina vanilmadlová
VMK	Volné mastné kyseliny
WAT	Bílá tuková tkáň
WHO	Světová zdravotnická organizace
ZIC1	Zic Family Member 1

Seznam použité literatury

- Adams, A. C., C. A. Halstead, B. C. Hansen, A. R. Irizarry, J. A. Martin, S. R. Myers, V. L. Reynolds, H. W. Smith, V. J. Wroblewski and A. Kharitonov (2013). "LY2405319, an Engineered FGF21 Variant, Improves the Metabolic Status of Diabetic Monkeys." PLoS One **8**(6): e65763.
- Adams, A. C., C. Yang, T. Coskun, C. C. Cheng, R. E. Gimeno, Y. Luo and A. Kharitonov (2012). "The breadth of FGF21's metabolic actions are governed by FGFR1 in adipose tissue." Mol Metab **2**(1): 31-37.
- Adeghate, E. (2008). "Visfatin: structure, function and relation to diabetes mellitus and other dysfunctions." Curr Med Chem **15**(18): 1851-1862.
- Aherne, W. and D. Hull (1966). "Brown adipose tissue and heat production in the newborn infant." J Pathol Bacteriol **91**(1): 223-234.
- Akinaga, J., J. A. Garcia-Sainz and S. P. A (2019). "Updates in the function and regulation of alpha1 -adrenoceptors." Br J Pharmacol **176**(14): 2343-2357.
- An, Y., M. Reimann, J. Masjkur, K. Langton, M. Peitzsch, T. Deutschbein, M. Fassnacht, N. Rogowski-Lehmann, F. Beuschlein, S. Fliedner, A. Stell, A. Prejbisz, A. Januszewicz, J. Lenders, S. R. Bornstein and G. Eisenhofer (2019). "Adrenomedullary function, obesity and permissive influences of catecholamines on body mass in patients with chromaffin cell tumours." Int J Obes (Lond) **43**(2): 263-275.
- Arita, Y., S. Kihara, N. Ouchi, M. Takahashi, K. Maeda, J. Miyagawa, K. Hotta, I. Shimomura, T. Nakamura, K. Miyaoka, H. Kuriyama, M. Nishida, S. Yamashita, K. Okubo, K. Matsubara, M. Muraguchi, Y. Ohmoto, T. Funahashi and Y. Matsuzawa (1999). "Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity." Biochem Biophys Res Commun **257**(1): 79-83.
- Arner, P., L. Hellstrom, H. Wahrenberg and M. Bronnegard (1990). "Beta-adrenoceptor expression in human fat cells from different regions." J Clin Invest **86**(5): 1595-1600.
- Arner, P., A. Pettersson, P. J. Mitchell, J. D. Dunbar, A. Kharitonov and M. Ryden (2008). "FGF21 attenuates lipolysis in human adipocytes - a possible link to improved insulin sensitivity." FEBS Lett **582**(12): 1725-1730.
- Bachman, E. S., H. Dhillon, C. Y. Zhang, S. Cinti, A. C. Bianco, B. K. Kobilka and B. B. Lowell (2002). "betaAR signaling required for diet-induced thermogenesis and obesity resistance." Science **297**(5582): 843-845.
- Banzo, J., M. A. Ubieto, M. F. Berisa, A. Andres, M. L. Mateo, L. Tardin, A. Parra, P. Razola and E. Prats (2013). "Extensive hypermetabolic pattern of brown adipose tissue activation on 18F-FDG PET/CT in a patient diagnosed of catecholamine-secreting para-vesical paraganglioma." Rev Esp Med Nucl Imagen Mol **32**(6): 397-399.
- Barak, Y., M. C. Nelson, E. S. Ong, Y. Z. Jones, P. Ruiz-Lozano, K. R. Chien, A. Koder and R. M. Evans (1999). "PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development." Mol Cell **4**(4): 585-595.
- Barrington, S. F. and M. N. Maisey (1996). "Skeletal muscle uptake of fluorine-18-FDG: effect of oral diazepam." J Nucl Med **37**(7): 1127-1129.
- Beard, C. M., S. G. Sheps, L. T. Kurland, J. A. Carney and J. T. Lie (1983). "Occurrence of pheochromocytoma in Rochester, Minnesota, 1950 through 1979." Mayo Clin Proc **58**(12): 802-804.
- Betz, M. J. and S. Enerback (2015). "Human Brown Adipose Tissue: What We Have Learned So Far." Diabetes **64**(7): 2352-2360.
- Betz, M. J., M. Slawik, M. E. Lidell, A. Osswald, M. Heglind, D. Nilsson, U. D. Lichtenauer, B. Mauracher, T. Mussack, F. Beuschlein and S. Enerback (2013). "Presence of brown

adipocytes in retroperitoneal fat from patients with benign adrenal tumors: relationship with outdoor temperature." *J Clin Endocrinol Metab* **98**(10): 4097-4104.

Bianco, A. C. and E. A. McAninch (2013). "The role of thyroid hormone and brown adipose tissue in energy homeostasis." *Lancet Diabetes Endocrinol* **1**(3): 250-258.

Bilgili, S., A. C. Celebiler, A. Dogan and B. Karaca (2008). "Inverse relationship between adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 in metabolic syndrome patients." *Endocr Regul* **42**(2-3): 63-68.

Bookout, A. L., M. H. de Groot, B. M. Owen, S. Lee, L. Gautron, H. L. Lawrence, X. Ding, J. K. Elmquist, J. S. Takahashi, D. J. Mangelsdorf and S. A. Kliewer (2013). "FGF21 regulates metabolism and circadian behavior by acting on the nervous system." *Nat Med* **19**(9): 1147-1152.

Bošanská, L., O. Petrák, T. Zelinka, M. Mráz, J. Widimský, Jr. and M. Haluzík (2009). "The effect of pheochromocytoma treatment on subclinical inflammation and endocrine function of adipose tissue." *Physiol Res* **58**(3): 319-325.

Bottner, A., G. Eisenhofer, D. J. Torpy, M. Ehrhart-Bornstein, H. R. Keiser, G. P. Chrousos and S. R. Bornstein (1999). "Lack of leptin suppression in response to hypersecretion of catecholamines in pheochromocytoma patients." *Metabolism* **48**(5): 543-545.

Bouillaud, F., M. Combes-George and D. Ricquier (1983). "Mitochondria of adult human brown adipose tissue contain a 32 000-Mr uncoupling protein." *Biosci Rep* **3**(8): 775-780.

Bouillaud, F., F. Villarroya, E. Hentz, S. Raimbault, A. M. Cassard and D. Ricquier (1988). "Detection of brown adipose tissue uncoupling protein mRNA in adult patients by a human genomic probe." *Clin Sci (Lond)* **75**(1): 21-27.

Brooks, M. H., A. Guha, E. Danforth, Jr., J. J. Weinstein and K. G. Barry (1969). "Pheochromocytoma: observations on mechanism of carbohydrate intolerance and abnormalities associated with development of Goldblatt kidney following removal of tumor." *Metabolism* **18**(6): 445-459.

Cannon, B. and J. Nedergaard (2004). "Brown adipose tissue: function and physiological significance." *Physiol Rev* **84**(1): 277-359.

Cannon, B. and J. Nedergaard (2008). "Developmental biology: Neither fat nor flesh." *Nature* **454**(7207): 947-948.

Carmona, M. C., E. Hondares, M. L. Rodriguez de la Concepcion, V. Rodriguez-Sureda, J. Peinado-Onsurbe, V. Poli, R. Iglesias, F. Villarroya and M. Giralt (2005). "Defective thermoregulation, impaired lipid metabolism, but preserved adrenergic induction of gene expression in brown fat of mice lacking C/EBPbeta." *Biochem J* **389**(Pt 1): 47-56.

Cohade, C., K. A. Mourtzikos and R. L. Wahl (2003). "'USA-Fat': prevalence is related to ambient outdoor temperature-evaluation with 18F-FDG PET/CT." *J Nucl Med* **44**(8): 1267-1270.

Cohade, C., M. Osman, H. K. Pannu and R. L. Wahl (2003). "Uptake in supraclavicular area fat ('USA-Fat'): description on 18F-FDG PET/CT." *J Nucl Med* **44**(2): 170-176.

Colwell, J. A. (1969). "Inhibition of insulin secretion by catecholamines in pheochromocytoma." *Ann Intern Med* **71**(2): 251-256.

Cryer, P. E. (1993). "Adrenaline: a physiological metabolic regulatory hormone in humans?" *Int J Obes Relat Metab Disord* **17** Suppl 3: S43-46; discussion S68.

Cunningham, S., P. Leslie, D. Hopwood, P. Illingworth, R. T. Jung, D. G. Nicholls, N. Peden, J. Rafael and E. Rial (1985). "The characterization and energetic potential of brown adipose tissue in man." *Clin Sci (Lond)* **69**(3): 343-348.

Dahl, T. B., A. Yndestad, M. Skjelland, E. Oie, A. Dahl, A. Michelsen, J. K. Damas, S. H. Tunheim, T. Ueland, C. Smith, B. Bendz, S. Tonstad, L. Gullestad, S. S. Froland, K. Krohg-Sorensen, D. Russell, P. Aukrust and B. Halvorsen (2007). "Increased expression of visfatin in

macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization." *Circulation* **115**(8): 972-980.

de Jesus, L. A., S. D. Carvalho, M. O. Ribeiro, M. Schneider, S. W. Kim, J. W. Harney, P. R. Larsen and A. C. Bianco (2001). "The type 2 iodothyronine deiodinase is essential for adaptive thermogenesis in brown adipose tissue." *J Clin Invest* **108**(9): 1379-1385.

de Jong, J. M., O. Larsson, B. Cannon and J. Nedergaard (2015). "A stringent validation of mouse adipose tissue identity markers." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **308**(12): E1085-1105.

de Luis, D. A., J. L. Perez Castrillon and A. Duenas (2009). "Leptin and obesity." *Minerva Med* **100**(3): 229-236.

Di Franco, A., D. Guasti, B. Mazzanti, T. Ercolino, M. Francalanci, G. Nesi, D. Bani, G. Forti, M. Mannelli, A. Valeri and M. Luconi (2014). "Dissecting the origin of inducible brown fat in adult humans through a novel adipose stem cell model from adipose tissue surrounding pheochromocytoma." *J Clin Endocrinol Metab* **99**(10): E1903-1912.

Diamanti-Kandarakis, E., E. Zapanti, M. H. Peridis, P. Ntavos and G. Mastorakos (2003). "Insulin resistance in pheochromocytoma improves more by surgical rather than by medical treatment." *Hormones (Athens)* **2**(1): 61-66.

Dong, J. Q., M. Rossulek, V. R. Somayaji, D. Baltrukonis, Y. Liang, K. Hudson, M. Hernandez-Illas and R. A. Calle (2015). "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of PF-05231023, a novel long-acting FGF21 mimetic, in a first-in-human study." *Br J Clin Pharmacol* **80**(5): 1051-1063.

Dundamadappa, S. K., S. Shankar, R. Danrad, A. Singh, G. Vijayaraghavan, Y. Kim and R. Perugini (2007). "Imaging of brown fat associated with adrenal pheochromocytoma." *Acta Radiol* **48**(4): 468-472.

Đurovcová, V., J. Marek, V. Hána, M. Matoulek, V. Zikán, D. Haluzíková, P. Kaválková, Z. Lacinová, M. Kršek and M. Haluzík (2010). "Plasma concentrations of fibroblast growth factors 21 and 19 in patients with Cushing's syndrome." *Physiol Res* **59**(3): 415-422.

Dushay, J. R., E. Toschi, E. K. Mitten, F. M. Fisher, M. A. Herman and E. Maratos-Flier (2015). "Fructose ingestion acutely stimulates circulating FGF21 levels in humans." *Mol Metab* **4**(1): 51-57.

Eisenhofer, G., J. W. Lenders, D. S. Goldstein, M. Mannelli, G. Csako, M. M. Walther, F. M. Brouwers and K. Pacak (2005). "Pheochromocytoma catecholamine phenotypes and prediction of tumor size and location by use of plasma free metanephrines." *Clin Chem* **51**(4): 735-744.

Elenkova, A., J. Matrozova, S. Zacharieva, G. Kirilov and K. Kalinov (2010). "Adiponectin - A possible factor in the pathogenesis of carbohydrate metabolism disturbances in patients with pheochromocytoma." *Cytokine* **50**(3): 306-310.

Enerback, S., A. Jacobsson, E. M. Simpson, C. Guerra, H. Yamashita, M. E. Harper and L. P. Kozak (1997). "Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese." *Nature* **387**(6628): 90-94.

Engel, H., H. Steinert, A. Buck, T. Berthold, R. A. Huch Boni and G. K. von Schulthess (1996). "Whole-body PET: physiological and artifactual fluorodeoxyglucose accumulations." *J Nucl Med* **37**(3): 441-446.

Engelman, K., P. S. Mueller and A. Sjoerdsma (1964). "Elevated Plasma Free Fatty Acid Concentrations in Patients with Pheochromocytoma. Changes with Therapy and Correlations with the Basal Metabolic Rate." *N Engl J Med* **270**: 865-870.

Farooqi, I. S., G. Matarese, G. M. Lord, J. M. Keogh, E. Lawrence, C. Agwu, V. Sanna, S. A. Jebb, F. Perna, S. Fontana, R. I. Lechler, A. M. DePaoli and S. O'Rahilly (2002). "Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency." *J Clin Invest* **110**(8): 1093-1103.

Feldmann, H. M., V. Golozoubova, B. Cannon and J. Nedergaard (2009). "UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality." Cell Metab **9**(2): 203-209.

Fishbein, L. (2019). "Pheochromocytoma/Paraganglioma: Is This a Genetic Disorder?" Curr Cardiol Rep **21**(9): 104.

Fisher, F. M., J. L. Estall, A. C. Adams, P. J. Antonellis, H. A. Bina, J. S. Flier, A. Kharitonov, B. M. Spiegelman and E. Maratos-Flier (2011). "Integrated regulation of hepatic metabolism by fibroblast growth factor 21 (FGF21) in vivo." Endocrinology **152**(8): 2996-3004.

Fischer, A. W., I. G. Shabalina, C. L. Mattsson, G. Abreu-Vieira, B. Cannon, J. Nedergaard and N. Petrovic (2017). "UCP1 inhibition in Cidea-overexpressing mice is physiologically counteracted by brown adipose tissue hyperrecruitment." Am J Physiol Endocrinol Metab **312**(1): E72-E87.

Frankenfield, D. C., E. R. Muth and W. A. Rowe (1998). "The Harris-Benedict studies of human basal metabolism: history and limitations." J Am Diet Assoc **98**(4): 439-445.

Fukuhara, A., M. Matsuda, M. Nishizawa, K. Segawa, M. Tanaka, K. Kishimoto, Y. Matsuki, M. Murakami, T. Ichisaka, H. Murakami, E. Watanabe, T. Takagi, M. Akiyoshi, T. Ohtsubo, S. Kihara, S. Yamashita, M. Makishima, T. Funahashi, S. Yamanaka, R. Hiramatsu, Y. Matsuzawa and I. Shimomura (2005). "Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin." Science **307**(5708): 426-430.

Gaich, G., J. Y. Chien, H. Fu, L. C. Glass, M. A. Deeg, W. L. Holland, A. Kharitonov, T. Bumol, H. K. Schilske and D. E. Moller (2013). "The effects of LY2405319, an FGF21 analog, in obese human subjects with type 2 diabetes." Cell Metab **18**(3): 333-340.

Giordano, A., A. Smorlesi, A. Frontini, G. Barbatelli and S. Cinti (2014). "White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ." Eur J Endocrinol **170**(5): R159-171.

Giralt, M. and F. Villarroya (2013). "White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions?" Endocrinology **154**(9): 2992-3000.

Gruzdeva, O., D. Borodkina, E. Uchasova, Y. Dyleva and O. Barbarash (2019). "Leptin resistance: underlying mechanisms and diagnosis." Diabetes Metab Syndr Obes **12**: 191-198.

Hadi, M., C. C. Chen, M. Whatley, K. Pacak and J. A. Carrasquillo (2007). "Brown fat imaging with (18)F-6-fluorodopamine PET/CT, (18)F-FDG PET/CT, and (123)I-MIBG SPECT: a study of patients being evaluated for pheochromocytoma." J Nucl Med **48**(7): 1077-1083.

Haider, D. G., K. Schindler, G. Schaller, G. Prager, M. Wolzt and B. Ludvik (2006). "Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding." J Clin Endocrinol Metab **91**(4): 1578-1581.

Hany, T. F., E. Gharehpapagh, E. M. Kamel, A. Buck, J. Himms-Hagen and G. K. von Schulthess (2002). "Brown adipose tissue: a factor to consider in symmetrical tracer uptake in the neck and upper chest region." Eur J Nucl Med Mol Imaging **29**(10): 1393-1398.

Harms, M. and P. Seale (2013). "Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential." Nat Med **19**(10): 1252-1263.

Heaton, J. M. (1972). "The distribution of brown adipose tissue in the human." J Anat **112**(Pt 1): 35-39.

Hellmer, J., C. Marcus, T. Sonnenfeld and P. Arner (1992). "Mechanisms for differences in lipolysis between human subcutaneous and omental fat cells." J Clin Endocrinol Metab **75**(1): 15-20.

Hondares, E., J. M. Gallego-Escuredo, P. Flachs, A. Frontini, R. Cereijo, A. Goday, J. Perugini, P. Kopecky, M. Giralt, S. Cinti, J. Kopecky and F. Villarroya (2014). "Fibroblast growth factor-21 is expressed in neonatal and pheochromocytoma-induced adult human brown adipose tissue." Metabolism **63**(3): 312-317.

Hondares, E., R. Iglesias, A. Giralt, F. J. Gonzalez, M. Giralt, T. Mampel and F. Villarroya (2011). "Thermogenic activation induces FGF21 expression and release in brown adipose tissue." *J Biol Chem* **286**(15): 12983-12990.

Hotta, K., T. Funahashi, Y. Arita, M. Takahashi, M. Matsuda, Y. Okamoto, H. Iwahashi, H. Kuriyama, N. Ouchi, K. Maeda, M. Nishida, S. Kihara, N. Sakai, T. Nakajima, K. Hasegawa, M. Muraguchi, Y. Ohmoto, T. Nakamura, S. Yamashita, T. Hanafusa and Y. Matsuzawa (2000). "Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20**(6): 1595-1599.

Hsuchou, H., W. Pan and A. J. Kastin (2007). "The fasting polypeptide FGF21 can enter brain from blood." *Peptides* **28**(12): 2382-2386.

Iacobellis, G., C. Di Gioia, L. Petramala, C. Chiappetta, V. Serra, L. Zinamosca, C. Marinelli, A. Ciardi, G. De Toma and C. Letizia (2013). "Brown fat expresses adiponectin in humans." *Int J Endocrinol* **2013**: 126751.

Ibrahim, M. M. (2010). "Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences." *Obes Rev* **11**(1): 11-18.

Ikeda, K., P. Maretich and S. Kajimura (2018). "The Common and Distinct Features of Brown and Beige Adipocytes." *Trends Endocrinol Metab* **29**(3): 191-200.

Ilias, I. and K. Pacak (2009). "Diagnosis, localization and treatment of pheochromocytoma in MEN 2 syndrome." *Endocr Regul* **43**(2): 89-93.

Imai, T., R. Takakuwa, S. Marchand, E. Dentz, J. M. Bornert, N. Messaddeq, O. Wendling, M. Mark, B. Desvergne, W. Wahli, P. Chambon and D. Metzger (2004). "Peroxisome proliferator-activated receptor gamma is required in mature white and brown adipocytes for their survival in the mouse." *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**(13): 4543-4547.

Ishii, A., G. Katsuura, H. Imamaki, H. Kimura, K. P. Mori, T. Kuwabara, M. Kasahara, H. Yokoi, K. Ohinata, T. Kawanishi, J. Tsuchida, Y. Nakamoto, K. Nakao, M. Yanagita, M. Mukoyama and K. Mori (2017). "Obesity-promoting and anti-thermogenic effects of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in mice." *Sci Rep* **7**(1): 15501.

Ishii, C., K. Inoue, K. Negishi, N. Tane, T. Awata and S. Katayama (2001). "Diabetic ketoacidosis in a case of pheochromocytoma." *Diabetes Res Clin Pract* **54**(2): 137-142.

Isles, C. G. and J. K. Johnson (1983). "Pheochromocytoma and diabetes mellitus: further evidence that alpha 2 receptors inhibit insulin release in man." *Clin Endocrinol (Oxf)* **18**(1): 37-41.

Isobe, K., L. Fu, I. Tatsuno, H. Takahashi, S. Nissato, H. Hara, T. Yashiro, K. Suzukawa, K. Takekoshi, H. Shimano and Y. Kawakami (2009). "Adiponectin and adiponectin receptors in human pheochromocytoma." *J Atheroscler Thromb* **16**(4): 442-447.

Iyer, R. B., C. C. Guo and N. Perrier (2009). "Adrenal pheochromocytoma with surrounding brown fat stimulation." *AJR Am J Roentgenol* **192**(1): 300-301.

Jamaluddin, M. S., S. M. Weakley, Q. Yao and C. Chen (2012). "Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease." *Br J Pharmacol* **165**(3): 622-632.

Jash, S., S. Banerjee, M. J. Lee, S. R. Farmer and V. Puri (2019). "CIDEA Transcriptionally Regulates UCP1 for Britening and Thermogenesis in Human Fat Cells." *iScience* **20**: 73-89.

Jespersen, N. Z., T. J. Larsen, L. Peijs, S. Dugaard, P. Homoe, A. Loft, J. de Jong, N. Mathur, B. Cannon, J. Nedergaard, B. K. Pedersen, K. Moller and C. Scheele (2013). "A classical brown adipose tissue mRNA signature partly overlaps with brite in the supraclavicular region of adult humans." *Cell Metab* **17**(5): 798-805.

Jorgensen, J. O., N. Vahl, R. Dall and J. S. Christiansen (1998). "Resting metabolic rate in healthy adults: relation to growth hormone status and leptin levels." *Metabolism* **47**(9): 1134-1139.

Kajimura, S., P. Seale, K. Kubota, E. Lunsford, J. V. Frangioni, S. P. Gygi and B. M. Spiegelman (2009). "Initiation of myoblast to brown fat switch by a PRDM16-C/EBP-beta transcriptional complex." *Nature* **460**(7259): 1154-1158.

Karamanlidis, G., A. Karamitri, K. Docherty, D. G. Hazlerigg and M. A. Lomax (2007). "C/EBPbeta reprograms white 3T3-L1 preadipocytes to a Brown adipocyte pattern of gene expression." *J Biol Chem* **282**(34): 24660-24669.

Kelesidis, T., I. Kelesidis, S. Chou and C. S. Mantzoros (2010). "Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications." *Ann Intern Med* **152**(2): 93-100.

Kharitononkov, A., T. L. Shiyanova, A. Koester, A. M. Ford, R. Micanovic, E. J. Galbreath, G. E. Sandusky, L. J. Hammond, J. S. Moyers, R. A. Owens, J. Gromada, J. T. Brozinick, E. D. Hawkins, V. J. Wroblewski, D. S. Li, F. Mehrbod, S. R. Jaskunas and A. B. Shanafelt (2005). "FGF-21 as a novel metabolic regulator." *J Clin Invest* **115**(6): 1627-1635.

Kharitononkov, A., V. J. Wroblewski, A. Koester, Y. F. Chen, C. K. Clutinger, X. T. Tigno, B. C. Hansen, A. B. Shanafelt and G. J. Etgen (2007). "The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21." *Endocrinology* **148**(2): 774-781.

Kleiner, S., R. J. Mepani, D. Laznik, L. Ye, M. J. Jurczak, F. R. Jornayvaz, J. L. Estall, D. Chatterjee Bhowmick, G. I. Shulman and B. M. Spiegelman (2012). "Development of insulin resistance in mice lacking PGC-1alpha in adipose tissues." *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**(24): 9635-9640.

Klok, M. D., S. Jakobsdottir and M. L. Drent (2007). "The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review." *Obes Rev* **8**(1): 21-34.

Knittle, J. L., K. Timmers, F. Ginsberg-Fellner, R. E. Brown and D. P. Katz (1979). "The growth of adipose tissue in children and adolescents. Cross-sectional and longitudinal studies of adipose cell number and size." *J Clin Invest* **63**(2): 239-246.

Komada, H., Y. Hirota, A. So, T. Nakamura, Y. Okuno, H. Fukuoka, G. Iguchi, Y. Takahashi, K. Sakaguchi and W. Ogawa (2017). "Insulin Secretion and Insulin Sensitivity Before and After Surgical Treatment of Pheochromocytoma or Paraganglioma." *J Clin Endocrinol Metab* **102**(9): 3400-3405.

Kopecky, J., G. Clarke, S. Enerback, B. Spiegelman and L. P. Kozak (1995). "Expression of the mitochondrial uncoupling protein gene from the aP2 gene promoter prevents genetic obesity." *J Clin Invest* **96**(6): 2914-2923.

Kozak, L. P. (2010). "Brown fat and the myth of diet-induced thermogenesis." *Cell Metab* **11**(4): 263-267.

Krief, S., F. Lonnqvist, S. Raimbault, B. Baude, A. Van Spronsen, P. Arner, A. D. Strosberg, D. Ricquier and L. J. Emorine (1993). "Tissue distribution of beta 3-adrenergic receptor mRNA in man." *J Clin Invest* **91**(1): 344-349.

Kristensen, S. (1985). "Cervical hibernoma. Review of the literature and a new case." *J Laryngol Otol* **99**(10): 1055-1058.

Lasar, D., M. Rosenwald, E. Kiehlmann, M. Balaz, B. Tall, L. Opitz, M. E. Lidell, N. Zamboni, P. Krznar, W. Sun, L. Varga, P. Stefanicka, J. Ukropec, P. Nuutila, K. Virtanen, E. Z. Amri, S. Enerback, W. Wahli and C. Wolfrum (2018). "Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Controls Mature Brown Adipocyte Inducibility through Glycerol Kinase." *Cell Rep* **22**(3): 760-773.

Lean, M. E., W. P. James, G. Jennings and P. Trayhurn (1986). "Brown adipose tissue in patients with pheochromocytoma." *Int J Obes* **10**(3): 219-227.

Lee, J. M., M. K. Kim, S. H. Ko, J. M. Koh, B. Y. Kim, S. W. Kim, S. K. Kim, H. J. Kim, O. H. Ryu, J. Park, J. S. Lim, S. Y. Kim, Y. K. Shong, S. J. Yoo and C. f. C. P. G. Korean Endocrine Society (2017). "Clinical Guidelines for the Management of Adrenal Incidentaloma." *Endocrinol Metab (Seoul)* **32**(2): 200-218.

Lee, M. J., Y. Wu and S. K. Fried (2013). "Adipose tissue heterogeneity: implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications." *Mol Aspects Med* **34**(1): 1-11.

Lee, P., M. M. Swarbrick and K. K. Ho (2013). "Brown adipose tissue in adult humans: a metabolic renaissance." *Endocr Rev* **34**(3): 413-438.

Leiphart, C. J. and E. J. Nudelman (1970). "Hibernoma masquerading as a pheochromocytoma. A case report." *Radiology* **95**(3): 659-660.

Lenders, J. W., G. Eisenhofer, M. Mannelli and K. Pacak (2005). "Pheochromocytoma." *Lancet* **366**(9486): 665-675.

Leone, T. C., J. J. Lehman, B. N. Finck, P. J. Schaeffer, A. R. Wende, S. Boudina, M. Courtois, D. F. Wozniak, N. Sambandam, C. Bernal-Mizrachi, Z. Chen, J. O. Holloszy, D. M. Medeiros, R. E. Schmidt, J. E. Saffitz, E. D. Abel, C. F. Semenkovich and D. P. Kelly (2005). "PGC-1alpha deficiency causes multi-system energy metabolic derangements: muscle dysfunction, abnormal weight control and hepatic steatosis." *PLoS Biol* **3**(4): e101.

Liang, Q., L. Zhong, J. Zhang, Y. Wang, S. R. Bornstein, C. R. Triggler, H. Ding, K. S. Lam and A. Xu (2014). "FGF21 maintains glucose homeostasis by mediating the cross talk between liver and brain during prolonged fasting." *Diabetes* **63**(12): 4064-4075.

Lin, J., P. H. Wu, P. T. Tarr, K. S. Lindenberg, J. St-Pierre, C. Y. Zhang, V. K. Mootha, S. Jager, C. R. Vianna, R. M. Reznick, L. Cui, M. Manieri, M. X. Donovan, Z. Wu, M. P. Cooper, M. C. Fan, L. M. Rohas, A. M. Zavacki, S. Cinti, G. I. Shulman, B. B. Lowell, D. Krainc and B. M. Spiegelman (2004). "Defects in adaptive energy metabolism with CNS-linked hyperactivity in PGC-1alpha null mice." *Cell* **119**(1): 121-135.

Lin, Z., Q. Gong, C. Wu, J. Yu, T. Lu, X. Pan, S. Lin and X. Li (2012). "Dynamic change of serum FGF21 levels in response to glucose challenge in human." *J Clin Endocrinol Metab* **97**(7): E1224-1228.

Lo, J. C., S. Ljubicic, B. Leibiger, M. Kern, I. B. Leibiger, T. Moede, M. E. Kelly, D. Chatterjee Bhowmick, I. Murano, P. Cohen, A. S. Banks, M. J. Khandekar, A. Dietrich, J. S. Flier, S. Cinti, M. Bluher, N. N. Danial, P. O. Berggren and B. M. Spiegelman (2014). "Adipsin is an adipokine that improves beta cell function in diabetes." *Cell* **158**(1): 41-53.

Lowell, B. B., A. Napolitano, P. Usher, A. G. Dulloo, B. S. Rosen, B. M. Spiegelman and J. S. Flier (1990). "Reduced adipsin expression in murine obesity: effect of age and treatment with the sympathomimetic-thermogenic drug mixture ephedrine and caffeine." *Endocrinology* **126**(3): 1514-1520.

Lowell, B. B., S. S. V, A. Hamann, J. A. Lawitts, J. Himms-Hagen, B. B. Boyer, L. P. Kozak and J. S. Flier (1993). "Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue." *Nature* **366**(6457): 740-742.

Maeda, K., K. Okubo, I. Shimomura, T. Funahashi, Y. Matsuzawa and K. Matsubara (1996). "cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1)." *Biochem Biophys Res Commun* **221**(2): 286-289.

Martinez-Sapina Llanas, M. J., D. Romeu Vilar, S. Jorge Mendez and A. Alvarez Garcia (2015). "Case 214: Adrenal pheochromocytoma with perirenal brown fat stimulation." *Radiology* **274**(2): 617-621.

McCullagh, E. P. and W. J. Engel (1942). "Pheochromocytoma with Hypermetabolism: Report of Two Cases." *Ann Surg* **116**(1): 61-75.

Medeiros, L. J., G. G. Katsas and K. Balogh (1985). "Brown fat and adrenal pheochromocytoma: association or coincidence?" *Hum Pathol* **16**(10): 970-972.

Melicow, M. M. (1957). "Hibernating fat and pheochromocytoma." *AMA Arch Pathol* **63**(4): 367-372.

Mesmar, B., S. Poola-Kella and R. Malek (2017). "The Physiology Behind Diabetes Mellitus in Patients with Pheochromocytoma: A Review of the Literature." *Endocr Pract* **23**(8): 999-1005.

Mráz, M., M. Bártlová, Z. Lacinová, D. Michalský, M. Kasalický, D. Haluzíková, M. Matoulek, I. Dostálová, V. Humeňanská and M. Haluzík (2009). "Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity." *Clin Endocrinol (Oxf)* **71**(3): 369-375.

Nagano, G., H. Ohno, K. Oki, K. Kobuke, T. Shiwa, M. Yoneda and N. Kohno (2015). "Activation of classical brown adipocytes in the adult human perirenal depot is highly correlated with PRDM16-EHMT1 complex expression." *PLoS One* **10**(3): e0122584.

Nagatsu, T. (2007). "The catecholamine system in health and disease -Relation to tyrosine 3-monooxygenase and other catecholamine-synthesizing enzymes." *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* **82**(10): 388-415.

Nishimura, T., Y. Nakatake, M. Konishi and N. Itoh (2000). "Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver." *Biochim Biophys Acta* **1492**(1): 203-206.

Ohmori, R., Y. Momiyama, R. Kato, H. Taniguchi, M. Ogura, M. Ayaori, H. Nakamura and F. Ohsuzu (2005). "Associations between serum resistin levels and insulin resistance, inflammation, and coronary artery disease." *J Am Coll Cardiol* **46**(2): 379-380.

Ohno, H., K. Shinoda, B. M. Spiegelman and S. Kajimura (2012). "PPARgamma agonists induce a white-to-brown fat conversion through stabilization of PRDM16 protein." *Cell Metab* **15**(3): 395-404.

Okamoto, Y., E. J. Folco, M. Minami, A. K. Wara, M. W. Feinberg, G. K. Sukhova, R. A. Colvin, S. Kihara, T. Funahashi, A. D. Luster and P. Libby (2008). "Adiponectin inhibits the production of CXC receptor 3 chemokine ligands in macrophages and reduces T-lymphocyte recruitment in atherosclerosis." *Circ Res* **102**(2): 218-225.

Okamura, T., Y. Nakajima, T. Satoh, K. Hashimoto, S. Sapkota, E. Yamada, S. Okada, J. Fukuda, T. Higuchi, Y. Tsushima and M. Yamada (2015). "Changes in visceral and subcutaneous fat mass in patients with pheochromocytoma." *Metabolism* **64**(6): 706-712.

Okauchi, Y., C. Ishibashi, K. Shu, S. Adachi and I. Mineo (2018). "Decreased Serum Adiponectin Level during Catecholamine Crisis in an Obese Patient with Pheochromocytoma." *Intern Med* **57**(9): 1253-1257.

Ouellet, V., A. Routhier-Labadie, W. Bellemare, L. Lakhil-Chaieb, E. Turcotte, A. C. Carpentier and D. Richard (2011). "Outdoor temperature, age, sex, body mass index, and diabetic status determine the prevalence, mass, and glucose-uptake activity of 18F-FDG-detected BAT in humans." *J Clin Endocrinol Metab* **96**(1): 192-199.

Pacak, K. (2011). "Pheochromocytoma: a catecholamine and oxidative stress disorder." *Endocr Regul* **45**(2): 65-90.

Paidisetty, S. and T. M. Blodgett (2009). "Brown fat: atypical locations and appearances encountered in PET/CT." *AJR Am J Roentgenol* **193**(2): 359-366.

Pedersen, S. B., J. F. Bak, P. Holck, O. Schmitz and B. Richelsen (1999). "Epinephrine stimulates human muscle lipoprotein lipase activity in vivo." *Metabolism* **48**(4): 461-464.

Perugini, J., L. Bordoni, W. Venema, S. Acciarini, S. Cinti, R. Gabbianelli and A. Giordano (2019). "Zic1 mRNA is transiently upregulated in subcutaneous fat of acutely cold-exposed mice." *J Cell Physiol* **234**(3): 2031-2036.

Petrák, O., D. Haluzíková, P. Kaválková, B. Štrauch, J. Rosa, R. Holaj, A. Brabcová Vránková, D. Michalský, M. Haluzík, T. Zelinka and J. Widimský, Jr. (2013). "Changes in energy metabolism in pheochromocytoma." *J Clin Endocrinol Metab* **98**(4): 1651-1658.

Petrovic, N., T. B. Walden, I. G. Shabalina, J. A. Timmons, B. Cannon and J. Nedergaard (2010). "Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes." *J Biol Chem* **285**(10): 7153-7164.

Pfannenberger, C., M. K. Werner, S. Ripkens, I. Stef, A. Deckert, M. Schmadl, M. Reimold, H. U. Haring, C. D. Claussen and N. Stefan (2010). "Impact of age on the relationships of brown adipose tissue with sex and adiposity in humans." *Diabetes* **59**(7): 1789-1793.

Poher, A. L., J. Altirriba, C. Veyrat-Durebex and F. Rohner-Jeanrenaud (2015). "Brown adipose tissue activity as a target for the treatment of obesity/insulin resistance." *Front Physiol* **6**: 4.

Puar, T., A. van Berkel, M. Gotthardt, B. Havekes, A. R. Hermus, J. W. Lenders, W. D. van Marken Lichtenbelt, Y. Xu, B. Brans and H. J. Timmers (2016). "Genotype-Dependent Brown Adipose Tissue Activation in Patients With Pheochromocytoma and Paraganglioma." *J Clin Endocrinol Metab* **101**(1): 224-232.

Puigserver, P., Z. Wu, C. W. Park, R. Graves, M. Wright and B. M. Spiegelman (1998). "A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis." *Cell* **92**(6): 829-839.

Puri, V., S. Ranjit, S. Konda, S. M. Nicoloro, J. Straubhaar, A. Chawla, M. Chouinard, C. Lin, A. Burkart, S. Corvera, R. A. Perugini and M. P. Czech (2008). "Cidea is associated with lipid droplets and insulin sensitivity in humans." *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**(22): 7833-7838.

Qiao, L., H. Yoo, C. Bosco, B. Lee, G. S. Feng, J. Schaack, N. W. Chi and J. Shao (2014). "Adiponectin reduces thermogenesis by inhibiting brown adipose tissue activation in mice." *Diabetologia* **57**(5): 1027-1036.

Ramacciotti, C., O. Schneegans, H. Lang, V. Lindner, M. Claria, F. Moreau, M. P. Chenard, M. Pinget and L. Kessler (2006). "[Diffuse uptake of brown fat on computed-tomography coupled positron emission tomoscintigraphy (PET-CT) for the exploration of extra-adrenal pheochromocytoma]." *Ann Endocrinol (Paris)* **67**(1): 14-19.

Ricquier, D., G. Mory, M. Nechad, M. Combes-George and J. Thibault (1983). "Development and activation of brown fat in rats with pheochromocytoma PC 12 tumors." *Am J Physiol* **245**(3): C172-177.

Robinson, K., J. Prins and B. Venkatesh (2011). "Clinical review: adiponectin biology and its role in inflammation and critical illness." *Crit Care* **15**(2): 221.

Rona, G. (1964). "Changes in Adipose Tissue Accompanying Pheochromocytoma." *Can Med Assoc J* **91**: 303-305.

Rosen, E. D. and O. A. MacDougald (2006). "Adipocyte differentiation from the inside out." *Nat Rev Mol Cell Biol* **7**(12): 885-896.

Rothwell, N. J. and M. J. Stock (1983). "Luxuskonsumption, diet-induced thermogenesis and brown fat: the case in favour." *Clin Sci (Lond)* **64**(1): 19-23.

Rousseau, C., E. Bourbouloux, L. Champion, N. Fleury, B. Bridji, J. F. Chatal, I. Resche and M. Campone (2006). "Brown fat in breast cancer patients: analysis of serial (18)F-FDG PET/CT scans." *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **33**(7): 785-791.

Sa-Nguanmoo, P., N. Chattipakorn and S. C. Chattipakorn (2016). "Potential roles of fibroblast growth factor 21 in the brain." *Metab Brain Dis* **31**(2): 239-248.

Saddi-Rosa, P., C. S. Oliveira, F. M. Giuffrida and A. F. Reis (2010). "Visfatin, glucose metabolism and vascular disease: a review of evidence." *Diabetol Metab Syndr* **2**: 21.

Samms, R. J., J. E. Lewis, L. Norton, F. B. Stephens, C. J. Gaffney, T. Butterfield, D. P. Smith, C. C. Cheng, J. W. Perfield, 2nd, A. C. Adams, F. J. P. Ebling and K. Tsintzas (2017). "FGF21 Is an Insulin-Dependent Postprandial Hormone in Adult Humans." *J Clin Endocrinol Metab* **102**(10): 3806-3813.

Sanchez-Gurmaches, J. and D. A. Guertin (2014). "Adipocytes arise from multiple lineages that are heterogeneously and dynamically distributed." *Nat Commun* **5**: 4099.

Sarruf, D. A., J. P. Thaler, G. J. Morton, J. German, J. D. Fischer, K. Ogimoto and M. W. Schwartz (2010). "Fibroblast growth factor 21 action in the brain increases energy expenditure and insulin sensitivity in obese rats." *Diabetes* **59**(7): 1817-1824.

Seale, P., B. Bjork, W. Yang, S. Kajimura, S. Chin, S. Kuang, A. Scime, S. Devarakonda, H. M. Conroe, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, M. A. Rudnicki, D. R. Beier and B. M. Spiegelman (2008). "PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch." *Nature* **454**(7207): 961-967.

Seale, P., S. Kajimura, W. Yang, S. Chin, L. M. Rohas, M. Uldry, G. Tavernier, D. Langin and B. M. Spiegelman (2007). "Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16." *Cell Metab* **6**(1): 38-54.

Semba, R. D., K. Sun, J. M. Egan, C. Crasto, O. D. Carlson and L. Ferrucci (2012). "Relationship of serum fibroblast growth factor 21 with abnormal glucose metabolism and insulin resistance: the Baltimore Longitudinal Study of Aging." *J Clin Endocrinol Metab* **97**(4): 1375-1382.

Semple, R. K., V. K. Chatterjee and S. O'Rahilly (2006). "PPAR gamma and human metabolic disease." *J Clin Invest* **116**(3): 581-589.

Sharp, L. Z., K. Shinoda, H. Ohno, D. W. Scheel, E. Tomoda, L. Ruiz, H. Hu, L. Wang, Z. Pavlova, V. Gilsanz and S. Kajimura (2012). "Human BAT possesses molecular signatures that resemble beige/brite cells." *PLoS One* **7**(11): e49452.

Shuster, A., M. Atlas, J. H. Pinthus and M. Mourtzakis (2012). "The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis." *Br J Radiol* **85**(1009): 1-10.

Scherer, P. E., S. Williams, M. Fogliano, G. Baldini and H. F. Lodish (1995). "A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes." *J Biol Chem* **270**(45): 26746-26749.

Schwartz, M. W., E. Peskind, M. Raskind, E. J. Boyko and D. Porte, Jr. (1996). "Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans." *Nat Med* **2**(5): 589-593.

Silbernagl, S. (2016). *Atlas fyziologie člověka*.

Silbernagl, S. (2016). "Atlas fyziologie člověka " (8): 88-90.

Silbernagl, S. (2016). *Atlas fyziologie člověka*.

Silbernagl, S. (2016). *Atlas fyziologie člověka*.

Sondergaard, E., L. C. Gormsen, M. H. Christensen, S. B. Pedersen, P. Christiansen, S. Nielsen, P. L. Poulsen and N. Jessen (2015). "Chronic adrenergic stimulation induces brown adipose tissue differentiation in visceral adipose tissue." *Diabet Med* **32**(2): e4-8.

Spergel, G., S. J. Bleicher and N. H. Ertel (1968). "Carbohydrate and fat metabolism in patients with pheochromocytoma." *N Engl J Med* **278**(15): 803-809.

Spyroglou, A., C. Adolf, S. Hahner, M. Quinkler, R. Ladurner, M. Reincke and F. Beuschlein (2017). "Changes in Body Mass Index in Pheochromocytoma Patients Following Adrenalectomy." *Horm Metab Res* **49**(3): 208-213.

Stenstrom, G., L. Sjostrom and U. Smith (1984). "Diabetes mellitus in phaeochromocytoma. Fasting blood glucose levels before and after surgery in 60 patients with phaeochromocytoma." *Acta Endocrinol (Copenh)* **106**(4): 511-515.

Steppan, C. M., S. T. Bailey, S. Bhat, E. J. Brown, R. R. Banerjee, C. M. Wright, H. R. Patel, R. S. Ahima and M. A. Lazar (2001). "The hormone resistin links obesity to diabetes." *Nature* **409**(6818): 307-312.

Straczkowski, M., M. Karczewska-Kupczewska, A. Adamska, E. Otziomek, I. Kowalska and A. Nikolajuk (2013). "Serum fibroblast growth factor 21 in human obesity: regulation by insulin infusion and relationship with glucose and lipid oxidation." *Int J Obes (Lond)* **37**(10): 1386-1390.

Taieb, D., R. J. Hicks, E. Hindie, B. A. Guillet, A. Avram, P. Ghedini, H. J. Timmers, A. T. Scott, S. Elojeimy, D. Rubello, I. J. Virgolini, S. Fanti, S. Balogova, N. Pandit-Taskar and K. Pacak (2019). "European Association of Nuclear Medicine Practice Guideline/Society of

Nuclear Medicine and Molecular Imaging Procedure Standard 2019 for radionuclide imaging of pheochromocytoma and paraganglioma." *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **46**(10): 2112-2137.

Talukdar, S., Y. Zhou, D. Li, M. Rossulek, J. Dong, V. Somayaji, Y. Weng, R. Clark, A. Lanba, B. M. Owen, M. B. Brenner, J. K. Trimmer, K. E. Gropp, J. R. Chabot, D. M. Erion, T. P. Rolph, B. Goodwin and R. A. Calle (2016). "A Long-Acting FGF21 Molecule, PF-05231023, Decreases Body Weight and Improves Lipid Profile in Non-human Primates and Type 2 Diabetic Subjects." *Cell Metab* **23**(3): 427-440.

Tan, B. K., M. Hallschmid, R. Adya, W. Kern, H. Lehnert and H. S. Randeve (2011). "Fibroblast growth factor 21 (FGF21) in human cerebrospinal fluid: relationship with plasma FGF21 and body adiposity." *Diabetes* **60**(11): 2758-2762.

Tanuma, Y., M. Tamamoto, T. Ito and C. Yokochi (1975). "The occurrence of brown adipose tissue in perirenal fat in Japanese." *Arch Histol Jpn* **38**(1): 43-70.

Trajkovski, M., K. Ahmed, C. C. Esau and M. Stoffel (2012). "MyomiR-133 regulates brown fat differentiation through Prdm16." *Nat Cell Biol* **14**(12): 1330-1335.

Trojan, S. (2003). "Lékařská fyziologie." (4): 404-405.

Tseng, Y. H., E. Kokkotou, T. J. Schulz, T. L. Huang, J. N. Winnay, C. M. Taniguchi, T. T. Tran, R. Suzuki, D. O. Espinoza, Y. Yamamoto, M. J. Ahrens, A. T. Dudley, A. W. Norris, R. N. Kulkarni and C. R. Kahn (2008). "New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure." *Nature* **454**(7207): 1000-1004.

Turnbull, D. M., D. G. Johnston, K. G. Alberti and R. Hall (1980). "Hormonal and metabolic studies in a patient with a pheochromocytoma." *J Clin Endocrinol Metab* **51**(4): 930-933.

Uldry, M., W. Yang, J. St-Pierre, J. Lin, P. Seale and B. M. Spiegelman (2006). "Complementary action of the PGC-1 coactivators in mitochondrial biogenesis and brown fat differentiation." *Cell Metab* **3**(5): 333-341.

Vance, J. E., K. D. Buchanan, D. O'Hara, R. H. Williams and D. Porte, Jr. (1969). "Insulin and glucagon responses in subjects with pheochromocytoma: effect of alpha adrenergic blockade." *J Clin Endocrinol Metab* **29**(7): 911-916.

Vergnes, L., G. R. Davies, J. Y. Lin, M. W. Yeh, M. J. Livhits, A. Harari, M. E. Symonds, H. S. Sacks and K. Reue (2016). "Adipocyte Browning and Higher Mitochondrial Function in Periadrenal But Not SC Fat in Pheochromocytoma." *J Clin Endocrinol Metab* **101**(11): 4440-4448.

Vienberg, S. G., C. Brons, E. Nilsson, A. Astrup, A. Vaag and B. Andersen (2012). "Impact of short-term high-fat feeding and insulin-stimulated FGF21 levels in subjects with low birth weight and controls." *Eur J Endocrinol* **167**(1): 49-57.

Vienberg, S. G., S. H. Jacobsen, D. Worm, L. E. Hvolris, L. Naver, T. Almdal, D. L. Hansen, B. S. Wulff, T. R. Clausen, S. Madsbad, J. J. Holst and B. Andersen (2017). "Increased glucose-stimulated FGF21 response to oral glucose in obese nondiabetic subjects after Roux-en-Y gastric bypass." *Clin Endocrinol (Oxf)* **86**(1): 156-159.

Virtanen, K. A., M. E. Lidell, J. Orava, M. Heglind, R. Westergren, T. Niemi, M. Taittonen, J. Laine, N. J. Savisto, S. Enerback and P. Nuutila (2009). "Functional brown adipose tissue in healthy adults." *N Engl J Med* **360**(15): 1518-1525.

von Holstein-Rathlou, S., L. D. BonDurant, L. Peltekian, M. C. Naber, T. C. Yin, K. E. Claflin, A. I. Urizar, A. N. Madsen, C. Ratner, B. Holst, K. Karstoft, A. Vandenbeuch, C. B. Anderson, M. D. Cassell, A. P. Thompson, T. P. Solomon, K. Rahmouni, S. C. Kinnamon, A. A. Pieper, M. P. Gillum and M. J. Potthoff (2016). "FGF21 Mediates Endocrine Control of Simple Sugar Intake and Sweet Taste Preference by the Liver." *Cell Metab* **23**(2): 335-343.

Wang, Q., M. Zhang, M. Xu, W. Gu, Y. Xi, L. Qi, B. Li and W. Wang (2015). "Brown adipose tissue activation is inversely related to central obesity and metabolic parameters in adult human." *PLoS One* **10**(4): e0123795.

Wang, Q. A., C. Tao, R. K. Gupta and P. E. Scherer (2013). "Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration." *Nat Med* **19**(10): 1338-1344.

Wei, Q., J. H. Lee, H. Wang, O. Y. N. Bongmba, C. S. Wu, G. Pradhan, Z. Sun, L. Chew, M. Bajaj, L. Chan, R. S. Chapkin, M. H. Chen and Y. Sun (2017). "Adiponectin is required for maintaining normal body temperature in a cold environment." *BMC Physiol* **17**(1): 8.

Wente, W., A. M. Efanov, M. Brenner, A. Kharitonov, A. Koster, G. E. Sandusky, S. Sewing, I. Treinies, H. Zitzer and J. Gromada (2006). "Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways." *Diabetes* **55**(9): 2470-2478.

Wiesner, T. D., M. Bluher, M. Windgassen and R. Paschke (2003). "Improvement of insulin sensitivity after adrenalectomy in patients with pheochromocytoma." *J Clin Endocrinol Metab* **88**(8): 3632-3636.

Wilber, J. F., J. R. Turtle and N. A. Crane (1966). "Inhibition of insulin secretion by a pheochromocytoma." *Lancet* **2**(7466): 733.

Wronska, A. and Z. Kmiec (2012). "Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots." *Acta Physiol (Oxf)* **205**(2): 194-208.

Wu, J., P. Bostrom, L. M. Sparks, L. Ye, J. H. Choi, A. H. Giang, M. Khandekar, K. A. Virtanen, P. Nuutila, G. Schaart, K. Huang, H. Tu, W. D. van Marken Lichtenbelt, J. Hoeks, S. Enerback, P. Schrauwen and B. M. Spiegelman (2012). "Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human." *Cell* **150**(2): 366-376.

Xu, J., D. J. Lloyd, C. Hale, S. Stanislaus, M. Chen, G. Sivits, S. Vonderfecht, R. Hecht, Y. S. Li, R. A. Lindberg, J. L. Chen, D. Y. Jung, Z. Zhang, H. J. Ko, J. K. Kim and M. M. Veniant (2009). "Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice." *Diabetes* **58**(1): 250-259.

Yamauchi, T., J. Kamon, Y. Minokoshi, Y. Ito, H. Waki, S. Uchida, S. Yamashita, M. Noda, S. Kita, K. Ueki, K. Eto, Y. Akanuma, P. Froguel, F. Foufelle, P. Ferre, D. Carling, S. Kimura, R. Nagai, B. B. Kahn and T. Kadowaki (2002). "Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase." *Nat Med* **8**(11): 1288-1295.

Yeung, H. W., R. K. Grewal, M. Gonen, H. Schoder and S. M. Larson (2003). "Patterns of (18)F-FDG uptake in adipose tissue and muscle: a potential source of false-positives for PET." *J Nucl Med* **44**(11): 1789-1796.

Zelinka, T., O. Petrák, B. Štrauch, R. Holaj, J. Kvasnička, J. Mazoch, K. Pacák and J. Widimský, Jr. (2007). "Elevated inflammation markers in pheochromocytoma compared to other forms of hypertension." *Neuroimmunomodulation* **14**(1): 57-64.

Zhang, X., D. C. Yeung, M. Karpisek, D. Stejskal, Z. G. Zhou, F. Liu, R. L. Wong, W. S. Chow, A. W. Tso, K. S. Lam and A. Xu (2008). "Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans." *Diabetes* **57**(5): 1246-1253.

Zhang, Y., H. Guo, J. A. Deis, M. G. Mashek, M. Zhao, D. Ariyakumar, A. G. Armien, D. A. Bernlohr, D. G. Mashek and X. Chen (2014). "Lipocalin 2 regulates brown fat activation via a nonadrenergic activation mechanism." *J Biol Chem* **289**(32): 22063-22077.

Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold and J. M. Friedman (1994). "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue." *Nature* **372**(6505): 425-432.

Zwick, R. K., C. F. Guerrero-Juarez, V. Horsley and M. V. Plikus (2018). "Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue." *Cell Metab* **27**(1): 68-83.

Publikace autora

- FGF21 Levels in Pheochromocytoma/Functional Paraganglioma; Klímová J., Zelinka T., Rosa J., Štrauch B., Haluzíková D., Haluzík M., Holaj R., Krátká Z., Kvasnička J., Ďurovcová V., Matoulek M., Novák K., Michalský D., Widimský J. Jr., Petrák O.; *Cancers (Basel)*. 2019 Apr 5;11(4). pii: E485. doi: 10.3390/cancers11040485; IF = 6.126 (2019)
- Pheochromocytoma With Adrenergic Biochemical Phenotype Shows Decreased GLP-1 Secretion and Impaired Glucose Tolerance; O. Petrák, J. Klímová, M. Mráz, D. Haluzíková, R. Petráková Doležalová, H. Kratochvílová, Z. Lacinová, K. Novák, D. Michalský, P. Waldauf, R. Holaj, J. Widimský, T. Zelinka, M. Haluzík; *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2020 Jun 1;105(6):dgaa154. doi: 10.1210/clinem/dgaa154; IF = 5.399 (2019)
- V recenzentním řízení: Gene profile of subcutaneous and visceral adipose tissue of patients with pheochromocytoma; Klímová J., Mráz M.; Kratochvílová H.; Lacinová Z.; Novák K.; Michalský D.; Kvasnička J.; Holaj R.; Haluzíková D.; Petráková Doležalová R.; Haluzík M.; Zelinka T.; Petrák O.
- Blood Pressure Profile, Catecholamine Phenotype, and Target Organ Damage in Pheochromocytoma/Paraganglioma; Petrák O., Rosa J., Holaj R., Štrauch B., Krátká Z., Kvasnička J., Klímová J., Waldauf P., Hamplová B., Markvartová A., Novák K., Michalský D., Widimský J., Zelinka T.; *J Clin Endocrinol Metab*. 2019 Nov 1;104(11):5170-5180. doi: 10.1210/jc.2018-02644; IF = 5.399 (2019)
- Fixní kombinace v sekundární prevenci kardiovaskulárních onemocnění; Klímová J.; *Farmakoterapie* 2019;15(1):93–96.
- Predikce dlouhodobé účinnosti renální denervace; Kvasnička J., Lambert L., Waldauf P., Zelinka T., Petrák O., Štrauch B., Holaj R., Indra T., Krátká Z., Klímová J., Václavík J., Kociánová E., Nykl I., Jiravský O., Rappová G., Táborský M., Branny M., Widimský J., Rosa J.; *Cor Vasa* 2019;61:e378–e384