

Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta

Studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka
Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Mgr. Helena Kratochvílová

Molekulární mechanismy propojení dysfunkce tukové tkáně a aterosklerotických komplikací

Molecular mechanisms linking adipose tissue dysfunction and atherosclerotic complications

Dizertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

Praha, 2023

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli prof. MUDr. Martinu Haluzíkovi, DrSc. za příležitost být součástí zajímavých vědeckých projektů, za pomoc při vypracování odborných publikací i této dizertační práce a za všechnu ochotu, podporu a především motivaci poskytnutou během mého studia. Také děkuji kolegyním z Laboratoře translační a experimentální diabetologie a obezitologie IKEM, Praha a dalším kolegům z Centra Diabetologie IKEM za spolupráci na společných projektech a studiích, které mimo jiné tvoří podklady této dizertační práce. Jmenovitě bych chtěla poděkovat Mgr. Anně Cinkajzlové, Ph.D., Mgr. Janě Kloučkové, Ph.D. za ochotu a trpělivost mě učit novým laboratorním metodám, posouvat mě ve vědě kupředu a zodpovídat veškeré mé dotazy a MUDr. Miloši Mrázovi, Ph.D. za pomoc při sepisování odborných publikací. V neposlední řadě bych ráda poděkovala i své rodině za trpělivost a pomoc s hlídáním dětí při sepisování této dizertační práce.

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| ABSTRAKT | 6 |
| ABSTRACT..... | 7 |
| SEZNAM ZKRATEK | 8 |
| 1. Úvod | 10 |
| 2. Vztah obezity a metabolických komplikací..... | 11 |
| 2.1. Diabetes mellitus 2. typu | 12 |
| 2.2. Inzulínová rezistence | 13 |
| 2.3. Léčebné intervence obezity a T2DM..... | 15 |
| 2.3.1. Bariatrické operace..... | 16 |
| 2.3.2. Duodeno-jejunální rukáv | 17 |
| 3. Typy tukové tkáně | 18 |
| 3.1. Tuková depa | 18 |
| 3.1.1. Epikardiální tuková tkáň | 19 |
| 4. Tuková tkáň a subklinický zánět..... | 20 |
| 4.1. Mechanizmy vzniku subklinického zánětu..... | 21 |
| 4.2. Vztah subklinického zánětu k metabolickým komplikacím | 24 |
| 5. Makrovaskulární komplikace diabetes mellitus 2. typu | 25 |
| 5.1. Ateroskleróza | 25 |
| 5.1.1. Ischemická choroba srdeční..... | 26 |
| 5.1.2. Ischemická choroba dolních končetin..... | 27 |
| 5.1.3. Cévní mozková příhoda..... | 28 |
| 6. Dysfunkce tukové tkáně | 28 |
| 6.1. Endokrinní dysfunkce | 29 |
| 6.1.1. Leptin | 29 |
| 6.1.2. Adiponektin | 30 |
| 6.2. Mitochondriální dysfunkce | 30 |

| | |
|---|----|
| 6.2.1. Mitochondriální geny | 31 |
| 6.3. Stres endoplazmatického retikula | 33 |
| 6.3.1. Geny stresu endoplazmatického retikula | 34 |
| 7. Další nové markery vztahující se k subklinickému zánětu, epikardiálnímu tuku, diabetes mellitus 2. typu a obezitě..... | 35 |
| 7.1. Neudesin..... | 36 |
| 7.2. Omentin | 37 |
| 8. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE..... | 39 |
| 8.1. Hypotéza | 39 |
| 8.2. Cíle práce | 39 |
| 9. METODIKA..... | 40 |
| 9.1. Soubory vyšetřovaných osob, protokoly studií a odběr vzorků | 40 |
| 9.1.1. Změny exprese genů mitochondrií a stresu ER v tkáních | 40 |
| 9.1.2. Stanovení sérových hladin neudesinu | 41 |
| 9.2. Antropometrické měření a zpracování odebraných vzorků..... | 41 |
| 9.3. Hormonální, cytokinová a biochemická stanovení | 42 |
| 9.4. Kvantitativní polymerázová řetězová reakce v reálném čase (qRT-PCR). 42 | |
| 9.5. Statistická analýza | 43 |
| 10. VÝSLEDKY | 45 |
| 10.1. Rozdílné míry exprese mitochondriálních genů a genů stresu endoplazmatického retikula v epikardiální tukové tkáni závisí na koronární ateroskleróze | 45 |
| 10.1.1. Bazální charakteristika pacientů zařazených do studie..... | 45 |
| 10.1.2. mRNA exprese v SAT a EAT u pacientů s ICHS i bez ICHS podstupujících plánovanou kardiochirurgickou operaci..... | 46 |
| 10.1.3. mRNA exprese mitochondriálních genů v srdeční a mezižeberní svalovině | 49 |
| 10.1.4. mRNA exprese genů stresu endoplazmatického retikula | 49 |

| | |
|---|-----------|
| 10.2. Role neudesinu u obezity a diabetu mellitu 2. typu: efekt akutního hladovění a redukčních váhových intervencí..... | 50 |
| 10.2.1. Bazální charakteristiky pacientů zařazených do studie..... | 50 |
| 10.2.2. Vliv zavedení duodeno-jejunálního rukávu | 51 |
| 10.2.3. Vliv gastrické plikace..... | 53 |
| 10.2.4. Vliv akutního hladovění u pacientů s funkční hypoglykemií..... | 56 |
| 10.2.5. Vztah mezi neudesinem a dalšími sledovanými parametry | 56 |
| 10.2.6. Sérové hladiny neudesinu u pacientů s nebo bez ICHS podstupujících elektivní kardiochirurgickou operaci | 57 |
| 11. Diskuze..... | 58 |
| 12. Závěr | 65 |
| 13. Literatura | 67 |
| 14. Přílohy..... | 83 |
| 14.1. Prohlášení | 83 |
| 14.2. Identifikační záznam | 83 |
| 14.3. Seznam publikovaných článků a abstrakt..... | 84 |
| 14.4. Plné verze publikovaných článků tvořící podklad dizertační práce | 95 |

ABSTRAKT

Obezita a s ní spojené komorbidity vedou ke zvýšení rizika mortality. Na tom se významně spolupodílí i rozvoj subklinického zánětu spojený s obezitou. V práci jsme se zaměřili na změny endokrinní a mitochondriální funkce tukové tkáně a jejich vztah ke kardiovaskulárním komplikacím.

První část dizertační práce se zaměřuje na stanovení exprese mitochondriálních genů a genů endoplazmatického retikula v epikardiální i subkutánní tukové tkáni, v tkáni mezižeberního svalu či pravé srdeční síně u pacientů s aterosklerózou koronárních arterií. Bylo prokázáno, že pacienti s aterosklerózou mají snížené exprese řady genů mitochondriálního řetězce v epikardiální tukové tkáni oproti subkutánní tukové tkáni i jiným tkáním, přičemž se neprokázala žádná změna exprese genů endoplazmatického retikula ve výše jmenovaných tkáních. Na základě snížení exprese mitochondriálních genů u pacientů s koronárním onemocněním tepen usuzujeme, že mitochondriální dysfunkce epikardiální tukové tkáně se může spolupodílet na vzniku koronární aterosklerózy.

Druhá část práce je zaměřena na možný význam nového regulátoru energetického metabolismu neudesinu u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu (T2DM), kteří podstoupili různé redukční váhové intervence jako je duodeno-jejunální rukáv (DJBL), gastrická plikace (GP) či akutní hladovění. Prokázali jsme rozdílné regulace sérových hladin neudesinu u pacientů při akutním hladovění v porovnání s pacienty s chronickým váhovým úbytkem. U pacientů po zavedení DJBL byly zvýšené hladiny neudesinu po 6 i 10 měsících, přičemž se tyto změny neprojevovaly u pacientů po GP. Pacienti při akutním hladovění měli nižší hladiny neudesinu po 48 a 72 hodinách i 2 hodiny po realimentaci. mRNA exprese neudesinu se dočasně zvýšila 6 měsíců po operaci GP u obézních pacientů s T2DM oproti pacientům bez T2DM. Nebyly prokázány rozdíly mRNA exprese neudesinu mezi subkutánní a viscerální tukovou tkání během zákroku GP.

Výsledky této dizertační práce ukazují širší význam mitochondriální i endokrinní dysfunkce tukové tkáně při regulaci energetického metabolismu i rozvoji aterosklerotických komplikací.

Klíčová slova: tuková tkáň, subklinický zánět, energetický metabolismus, kardiovaskulární onemocnění, obezita, neudesin

ABSTRACT

Obesity and its associated comorbidities increase the risk of mortality. The development of subclinical inflammation associated with obesity also plays a significant role in this. In our work, we focused on changes in the endocrine and mitochondrial function of adipose tissue and their relationship to cardiovascular complications.

The first part of the thesis focuses on determining the expression of mitochondrial and endoplasmic reticulum genes in epicardial and subcutaneous adipose tissue, intercostal muscle or right myocardial atrium in patients with atherosclerotic coronary artery disease. Patients with coronary artery disease had reduced expression of several mitochondrial chain genes in epicardial adipose tissue compared to subcutaneous adipose tissue and other tissues, while no change in endoplasmic reticulum gene expression in the above-mentioned tissues has been demonstrated. Based on decreased mitochondrial gene expression in patients with coronary artery disease, we conclude that mitochondrial dysfunction of epicardial adipose tissue may contribute to the development of coronary atherosclerosis.

The second part of the thesis is focused on neudesin, new potential regulator of energy metabolism, in obese patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), who underwent various weight reduction interventions, such as the duodeno-jejunal sleeve liner (DJBL), gastric plication (GP) or acute starvation. We demonstrated different regulation of serum neudesin levels in acutely fasting patients compared to patients with chronic weight loss. In patients with DJBL, higher levels of neudesin were detected 6 and 10 months after the insertion of DJBL, while these changes did not occur in patients after GP. Acutely fasting patients had lower levels of neudesin after 48 and 72 hours of fasting and 2 hours after refeeding. Neudesin mRNA expression was temporarily increased 6 months after GP in obese patients with T2DM compared to patients without T2DM. No differences in neudesin mRNA expression between subcutaneous and visceral adipose tissue during the GP procedure were demonstrated.

The results of this thesis emphasize the importance of mitochondrial and endocrine dysfunction of adipose tissue in the regulation of energy metabolism and the development of atherosclerotic complications.

Key words: adipose tissue, subclinical inflammation, energy metabolism, cardiovascular disease, obesity, neudesin

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|---------------|--|
| AdipoR | Adiponektinový receptor |
| AIM | Akutní infarkt myokardu |
| AGE | Pozdní produkty glykace |
| AMP | Adenosinmonofosfát |
| AP | Angina Pectoris |
| ATP | Adenosintrifosfát |
| BMI | Index tělesné hmotnosti (<i>body mass index</i>) |
| CABG | Aortokoronární bypass |
| CMP | Cévní mozková příhoda |
| CNS | Centrální nervový systém |
| CRP | C-reaktivní protein |
| (c)DNA | (komplementární) Deoxyribonukleová kyselina |
| DJBL | Duodeno-jejunální rukáv (<i>Duodeno-jejunal bypass liner</i>) |
| EAT | Epikardiální tuková tkáň |
| ER | Endoplazmatické retikulum |
| GLUT4 | Glukózový transportér 4 |
| GP | Gastrická plikace |
| HDL | Lipoprotein o vysoké denzitě (<i>high density lipoprotein</i>) |
| HFD | Vysoko tuková dieta (<i>high fat diet</i>) |
| HOMA-IR | Homeostatický index inzulínové rezistence |
| ICM | Mezižeberní sval |
| ICHS | Ischemická choroba srdeční |
| ICHDK | Ischemická choroba dolních končetin |
| IL | Interleukin |
| IM | Infarkt myokardu |
| INF- γ | Interferon gamma |

| | |
|---------------|--|
| IR | Inzulínová rezistence |
| KO | Knockout (vyřazení genu) |
| KVO | Kardiovaskulární onemocnění |
| LDL | Lipoprotein o nízké denzitě (<i>low density lipoprotein</i>) |
| MAPK | Mitogen aktivovaná kináza |
| mRNA | Mediátorová ribonukleová kyselina |
| mtDNA | Mitochondriální deoxyribonukleová kyselina |
| NK | Natural killer cells |
| NSTEMI | Infarkt myokardu bez ST elevací |
| PI3K | Fosfatidylinozitol-3-kináza |
| PCOS | Syndrom polycystických ovarií |
| RA | Pravá síň myokardu |
| RAAS | Renin-angiotenzin-aldosteronový systém |
| RAGE | Receptory pozdních volných produktů glykace |
| RNA | Ribonukleová kyselina |
| ROS | Volné radikály |
| SAT | Subkutánní tuková tkáň |
| STEMI | Infarkt myokardu s ST elevacemi |
| T2DM | Diabetes mellitus 2. typu |
| TAG | Triacylglyceroly |
| TNF- α | Tumor nekrotizující faktor alfa (<i>tumor necrosis factor alpha</i>) |
| VAT | Viscerální tuková tkáň |
| WHO | Světová zdravotnická organizace (<i>World health organisation</i>) |

1. Úvod

Obezita se v posledních desetiletích řadí mezi jedno z nejvíce zkoumaných onemocnění, a to vzhledem k její vysoké prevalenci ve vyspělých zemích světa i řadě komplikací, které jsou s ní spjaty. V roce 2016 přesáhl dle Světové zdravotnické organizace (WHO – world health organisation) počet obézních jedinců ve světě více než 650 milionů. Výskyt obezity v populaci nezadržitelně roste již od dětského věku (dle WHO bylo v roce 2020 39 milionů dětí do 5 let s nadváhou nebo obezitou), zejména v důsledku nezdravého životního stylu s nízkou mírou fyzické aktivity a nadměrným příjmem potravy bohaté na sacharidy a živočišné tuky (WHO. 2021). Obezita představuje multifaktoriální poruchu, při jejímž rozvoji hrají roli genetické i environmentální faktory. Nejedná se zdaleka pouze o estetickou nedokonalost, ale o onemocnění způsobující řadu významných zdravotních problémů. Dochází mimo jiné k přetěžování kloubů, otokům a následné artróze. Významným doprovodným příznakem obezity je i častější výskyt syndromu spánkové apnoe (Drager et al. 2013). Vedle mechanických komplikací jsou k obezitě přidruženy i komplikace metabolické zpravidla se vyskytující ve formě tzv. metabolického či Reavenova syndromu. Mezi ně řadíme inzulinovou rezistenci (IR) v periferních tkáních, která vede k postupnému rozvoji komplikací obezity, jako je diabetes mellitus 2. typu (T2DM) (Kahn et al. 2006, Johnson and Olefsky 2013), dyslipidémie, steatóza jater, nádorová onemocnění, arteriální hypertenze a další přidružené poruchy, na jejichž etiologii se IR podílí (Reaven 1988). Tato onemocnění pak přispívají u pacientů s obezitou k nárůstu předčasných úmrtí a kardiovaskulárních či cerebrovaskulárních příhod (Reilly et al. 2003, Bastien et al. 2014).

V práci jsme se zaměřili na prozkoumání nových mechanismů souvisejících s obezitou a jejími přidruženými komplikacemi, zejména s diabetes mellitus 2. typu a kardiovaskulárními onemocněními. Zaměřili jsme se na dva potenciálně důležité mechanismy. Prvním z nich bylo stanovení mRNA expresního profilu mitochondriálních genů a genů endoplazmatického retikula v tukové (epikardiální a subkutánní) a svalové tkáni (mezižeberní sval a pravá srdeční síň) u obézních pacientů s kardiovaskulárními komplikacemi a druhým bylo bližší pochopení role neurotrofního faktoru neudesinu ve vztahu k obezitě. Neudesin je protein s mnoha funkcemi popsány zejména u myši. Nás však zajímal jeho vliv na energetický metabolismus u pacientů s obezitou podstupující redukční intervenci.

2. Vztah obezity a metabolických komplikací

Obezita je závažným chronickým onemocněním, které je zapříčiněno dlouhodobou převahou energetického příjmu nad energetickým výdejem. U obezity se mění vlastnosti tukové tkáně, u níž dochází k nadměrnému nárůstu běžných energetických rezerv, což může vést až k ektopickému ukládání tuků, tj. k jejich depozici mimo tukovou tkáň. Nejčastěji dochází k ukládání tukových kapének v játrech, svalech a dalších periferních orgánech (Shulman 2014). Narušený lipidový metabolismus vede k zvýšenému riziku rozvoje ischemické choroby srdeční (ICHS) a dalších kardiovaskulárních komplikací a může být doprovázen inzulínovou rezistencí (Ravussin and Smith 2002). S IR souvisí časný rozvoj diabetu, hypertriacylglycerolémie a syndromu polycystických ovarií (PCOS) (Patni and Garg 2015). Podobné komplikace - IR či diabetes byly diagnostikovány i u pacientů s lipodystrofií (Robbins and Savage 2015), u nichž k ektopickému ukládání tuku přispívá naopak nedostatek či absence tukové tkáně (Shulman 2014). K úplné či významné ztrátě tukové tkáně dochází obvykle na základě genetických faktorů. V důsledku dlouhodobé aplikace inzulínu do podkožní tukové tkáně může docházet k lokální lipodystrofii s narušením metabolismu a struktury tukové tkáně. Z výsledků skupiny Shulmana (Shulman 2014) vyplývá, že ektopické ukládání lipidů může vést ke zhoršení metabolického profilu u relativně štíhlých osob oproti metabolicky zdravým obézním s tukem uloženým převážně v subkutánní tukové tkáni. Také bylo potvrzeno, že jedinci s indexem tělesné hmotnosti (BMI – *body mass index*) do 25 kg/m², ale s centrální obezitou diagnostikovanou zvýšeným poměrem obvodu pasu a boků mají dlouhodobě vyšší riziko metabolických komplikací oproti ostatním fenotypům s BMI nad 25 kg/m² bez prokázané centrální obezity (Sahakyan et al. 2015). Centrální obezita, při níž dochází k nahromadění lipidů převážně ve viscerální tukové tkáni (Hamdy et al. 2006), narušuje metabolickou rovnováhu a vede k rozvoji T2DM. Oproti tomu podkožní tuková tkáň nacházející se zejména v oblasti hýždí a stehen má nižší metabolickou aktivitu (Karpe and Pinnick 2015) a může sloužit jako metabolicky bezpečné úložiště lipidů. Na základě těchto rozdílů, tak můžeme odlišit obézní pacienty s metabolickými komorbiditami, u nichž dochází převážně k nárůstu viscerální tukové tkáně. Zároveň můžeme klasifikovat metabolicky zdravé obézní pacienty, kterým se nadbytečný tuk hromadí v subkutánní tukové tkáni a nezpůsobuje jim z dlouhodobého hlediska metabolické komplikace (Stefan et al. 2017). Je však nutno poznamenat, že koncept „metabolicky zdravé“ obezity má také řadu odpůrců (Rhee et al. 2013).

2.1. Diabetes mellitus 2. typu

T2DM je komplexní metabolické onemocnění často doprovázené obezitou. Jedná se o nedostatečnou schopnost organismu využít glukózu na základě relativního až absolutního nedostatku inzulínu. Druhým typickým rysem T2DM je rozvoj IR. Přestože u T2DM jsou β buňky pankreatu zpočátku plně funkční a produkují inzulín spíše v nadbytku oproti zdravým jedincům, tkáně nejsou schopny v důsledku inzulínové rezistence adekvátně reagovat a glukóza se hromadí extracelulárně, čímž nastává hyperglykémie. β buňky na ni reagují kompenzatorně zvýšenou produkcí inzulínu až do doby, kdy dojde k jejich vyčerpání, apoptóze a snížení schopnosti produkovat inzulín (Andrikopoulos 2010).

Při porovnání s diabetes mellitus 1. typu daného zánikem β buněk s následným úplným deficitem inzulínové sekrece, který tvoří asi 5-10 % všech případů diabetu, je T2DM kvantitativně ve značné převaze a v posledních letech jeho prevalence rapidně stoupá. Prevalence T2DM celosvětově vzrostla ze 108 milionů případů v roce 1980 na 422 milionů v roce 2014 (WHO. 2021) a 537 milionů v roce 2021. Předpokládá se, že prevalence bude stále narůstat i v budoucnu s odhadem až 783 milionů lidí s T2DM v roce 2045 (Sun et al. 2022).

Diagnostická kritéria pro T2DM jsou stanovena dle WHO následovně:

- $HbA_{1C} \geq 48 \text{ mmol/l}$ ($\geq 6,5 \%$ referenční metoda DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*))
- Glykémie nalačno $\geq 7,0 \text{ mmol/l}$ (po 8hodinovém lačnění)
- Glykémie za 2 hodiny po orálním glukózovém tolerančním testu $\geq 11,1 \text{ mmol/l}$ (po podání 75 g glukózy)
- Náhodná glykémie $\geq 11,1 \text{ mmol/l}$ u pacientů s příznaky hyperglykémie (Resnick et al. 2000)

Prevenčí T2DM je udržování tělesné hmotnosti v normě (tj. BMI 18,5-25 kg/m^2), aktivní způsob života a zdravý životní styl. Diagnostikovaný T2DM je léčen režimovými opatřeními – snahou o redukci tělesné hmotnosti dietou a zvýšením fyzické aktivity v kombinaci s farmakologickou léčbou (Crandall et al. 2008). U pacientů, zejména s vyššími stupni obezity, u kterých se nedaří dostatečně kompenzovat T2DM, se využívá chirurgických zákroků, tzv. bariatrických operací. Ty jsou primárně určeny ke snížení tělesné hmotnosti, ale kromě toho mohou velmi významně zlepšit kompenzaci diabetu či vést až k jeho remisi. Jelikož u pacientů po těchto výkonech zpravidla dochází ke zlepšení diabetu ještě dříve než k výraznému poklesu tělesné hmotnosti, je bariatrická chirurgie dnes často označována jako

tzv. metabolická chirurgie. Bariatrické výkony se dělí na metody restriktivní, malabsorbční a kombinované. Mezi restriktivní patří bandáž či plikace žaludku, při nichž je zmenšen objem žaludku, a tím i omezeno množství konzumované stravy. Mezi kombinované bariatrické operace zařazujeme gastrický bypass, u něhož je provedeno zmenšení žaludku i vyloučení části tenkého střeva z kontaktu s potravou. Ještě radikálnějším zákrokem s vyřazením velké části tenkého střeva z kontaktu s potravou je biliopankreatická diverze, která je velmi účinným zákrokem s poměrně vysokým rizikem malabsorbce zejména tuků a vitamínů rozpustných v tucích (Haluzík 2013). V případě plné spolupráce pacienta jsou bariatrické operace velmi efektivní. Především dochází k významnějšímu zlepšení kompenzace diabetu v porovnání s farmakologicky léčenými pacienty (Schauer et al. 2012). V současné době je v zájmu vědců vyvíjet nové metody metabolických zákroků především endoskopických, jako je duodeno-jejunální rukáv, laserové techniky či tepelné ablace sliznice duodena (Beneš et al. 2016).

Neléčený T2DM negativně ovlivňuje kvalitu i délku života. Zvyšuje výskyt kardiovaskulárních komplikací i komplikací mikrovaskulárních jako je diabetická retinopatie, diabetická nefropatie či diabetická neuropatie (Nathan 1993).

2.2. Inzulínová rezistence

Inzulínová rezistence představuje jeden ze dvou hlavních patofyziologických dějů u T2DM a je úzce spjata zejména s centrální obezitou a ektopickým ukládáním lipidů (Guo 2014). Je charakteristická sníženou citlivostí inzulín-senzitivních tkání na působení inzulínu. Mezi tyto tkáně patří játra, tuková tkáň, kosterní sval a centrální nervová soustava (Obrázek 1). Za fyziologických podmínek inzulín po navázání na specifický membránový receptor spouští inzulínovou signální kaskádu (Saltiel and Kahn 2001). První signální dráha vede přes substrát inzulínového receptoru, který stimuluje fosfatidylinositol-3-kinázu (PI3K). PI3K zprostředkovává metabolické účinky inzulínu – syntézu glykogenu, lipogenezu atd. (Copps and White 2012, Guo 2013). Aktivuje se glukózový transportér GLUT4, jehož přesun na povrch buňky umožní vstup glukózy do svalové a tukové tkáně s následným ovlivněním aktivity klíčových enzymů glukózového a lipidového metabolismu. Druhá signální dráha vede od inzulínového receptoru k aktivaci mitogen aktivované kinázy (MAPK) ovlivňující změnu genové exprese, stimulaci diferenciaci a růst buněk (Guo 2014).

Inzulín aktivuje syntézu glykogenu pomocí fosforylace glykogensyntázy (Cross et al. 1997) a také zvyšuje lipogenezu (Guo 2014). Naopak inhibuje glukoneogenezu v játrech snížením aktivity glukoneogenetických enzymů (pyruvátkarboxyláza, fosfoenolpyruvátkarboxykináza, fruktóza-1,6-bisfosfatáza a glukóza-6-fosfatáza) (Saltiel and

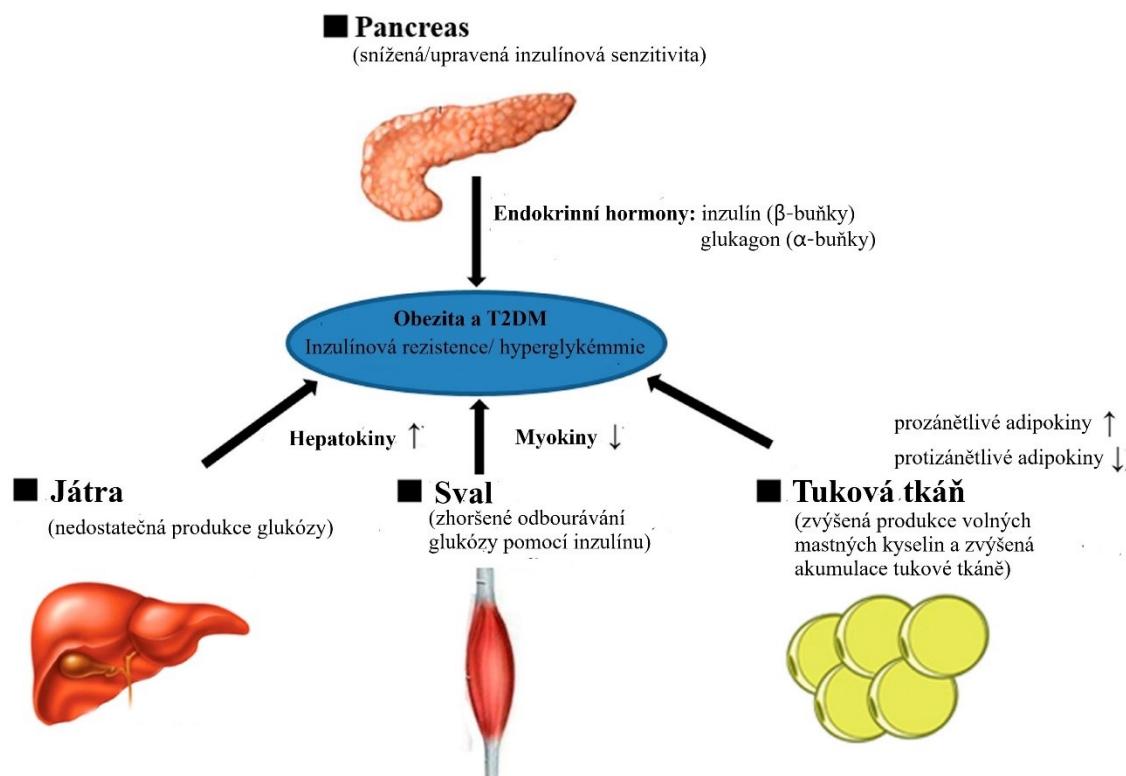
Kahn 2001). Dále inhibuje glykogenolýzu, lipolýzu, β -oxidaci mastných kyselin a katabolické děje proteinů (Saltiel and Kahn 2001, Guo 2014). Inzulínová sekrece je stimulována cirkulujícími volnými mastnými kyselinami a glukózou. Vysoká hladina volných mastných kyselin v cirkulaci při IR stimuluje sekreci inzulínu (Reaven 1988) a následuje rozvoj hyperinzulinémie. Přebytek volných mastných kyselin se ektopicky ukládá ve formě triacylglycerolů (TAG) v jaterní (Banerji et al. 1995) a svalové tkáni (Pan et al. 1997) a v okolí β buněk pankreatu. Tato zvýšená infiltrace Langerhansových ostrůvků pankreatu triacylglyceroly vede k apoptóze β buněk a snížené syntéze a sekreci inzulínu (DeFronzo 1988).

IR v kombinaci s nedostatkem inzulínu pak vede k těžké dysregulaci zmíněných procesů charakterizované postupným zvýšením hladiny glykémie postprandiálně i nalačno a také zhoršením dyslipidémie (Saltiel and Kahn 2001). K narušení fyziologické funkce inzulínové kaskády tak dochází na více úrovních. Principy vzniku IR se často prolínají a může k nim docházet kdekoli od poruchy syntézy či sekrece samotné molekuly inzulínu až po kterýkoliv krok signální kaskády. Poruchy jsou vyvolány jak genetickými, tak environmentálními faktory a můžeme je klasifikovat dle působení na prereceptorové (inzulínové protilátky), receptorové (defekty inzulínového receptoru, či snížený počet receptorů na povrchu buněk) a postreceptorové (poruchy v signální kaskádě) (Catalano 2010). Abnormality receptoru či protilátky proti receptorům jsou relativně vzácné. Podstatně častěji se vyskytuje hormonální blokáda sekrece inzulínu s vlivem na prereceptorový i postreceptorový mechanismus (Thorell et al. 1999). Jedním z faktorů vzniku IR je odezva na zvýšené hladiny kortizolu (Rizza et al. 1982). Vyšší hladiny kortizolu jsou vyplavovány do krve zejména při stresových situacích. Yan et al. (Yan et al. 2016) uvádí, že zvýšené hladiny parametrů IR jako jsou glukóza, inzulín či HOMA-IR (homeostatický index inzulínové rezistence) korelují s vyššími hladinami volného kortizolu. Kortizol zvyšuje dostupnost glukózy zvýšením produkce glukózy v játrech prostřednictvím transkripční a post-transkripční aktivace glukoneogenetických enzymů včetně glukóza-6-fosfatázy a fosfoenolpyruvátu (Lin et al. 1998). Volný kortizol snižuje využití glukózy svalovou a jaterní tkání (Leboeuf et al. 1962). Naproti tomu kortizol zhoršuje glukózovou toleranci a způsobuje diabetes. Podle některých hypotéz hraje kortizol dominantní úlohu jako regulátor stresově závislé inzulínové rezistence (Lehrke et al. 2008).

Další příčinou vzniku IR je zvýšená hladina prozánětlivých cytokinů. Cytokiny vedou k narušení postreceptorové inzulínové signální kaskády, což vede k rozvoji IR (Martyn et al. 2008). Zejména nadměrná produkce prozánětlivého cytokinu *tumor necrosis factor alpha*

(TNF- α) výrazně inhibuje postreceptorovou inzulínovou signální kaskádu (Hotamisligil et al. 1993) a podílí se na vzniku inzulínové rezistence u obezity.

Obrázek 1. Inzulínová rezistence v periferních tkáních u obezity a T2DM.

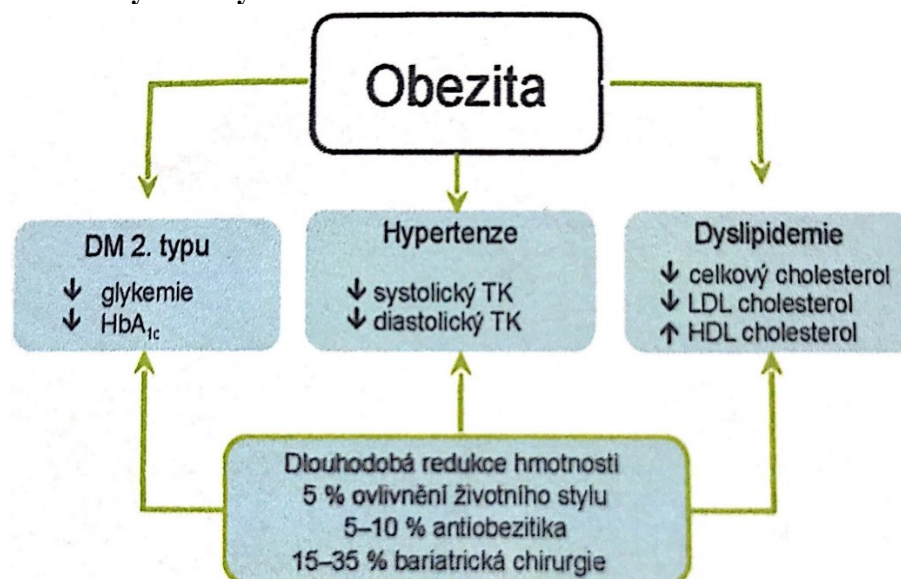


Upraveno dle (Oh et al. 2017).

2.3. Léčebné intervence obezity a T2DM

Léčba obezity je zásadní i z hlediska prevalence a zmírnění jejich komorbidit, mezi které se řadí T2DM. Dlouhodobé snížení hmotnosti má dle řady studií, jako je například Švédská studie SOS (Swedish Obese Subjects study) (Sjöström et al. 2007), či rozsáhlá studie LOOK AHEAD (AHEAD 2007), pozitivní dopad na kompenzaci T2DM. K léčbě obezity je možné přistupovat konzervativně pomocí úpravy režimu a farmakoterapie, ale i s využitím bariatrické chirurgie (Obrázek 2). Přičemž režimová opatření se z dlouhodobého hlediska nepovažují za zcela efektivní v porovnání s farmakoterapií či bariatrickými intervencemi (Haluzík Martin et al. 2020).

Obrázek 2: Cíle léčby obezity.

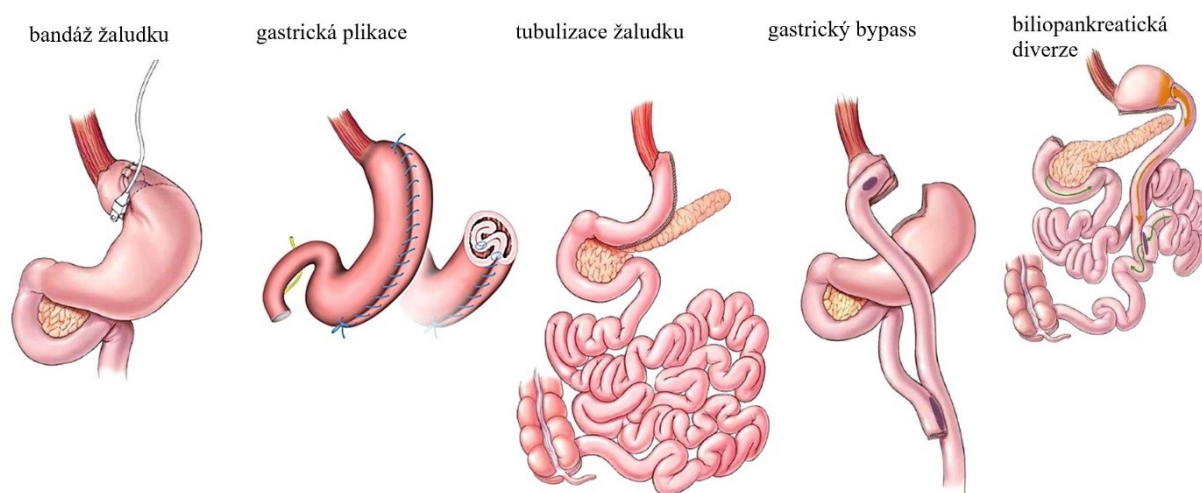


Převzato dle: (Haluzík Martin et al. 2020).

2.3.1. Bariatrické operace

Bariatrické operace mají významnou roli v léčbě morbidní obezity a jí přidružených komorbidit, zejména T2DM. Jedná se o chirurgické zákroky, ke kterým jsou indikováni pacienti s obezitou III. stupně s BMI > 40 kg/m², případně pacienti s obezitou II. stupně s BMI > 35 kg/m² v kombinaci s přidruženými komorbiditami obezity. Od roku 2017 i pacienti s obezitou I. stupně BMI > 30 kg/m² a T2DM (Stenberg et al. 2022). Množství procedur bariatrické chirurgie se v dlouhodobém horizontu zvyšuje, od roku 2008 do roku 2018 jejich počet vzrostl téměř dvojnásobně (Angrisani et al. 2021). Jedná se o zákroky restriční, malabsorbční či kombinované. Mezi tyto operace se řadí: gastrický bypass, tubulizace, bandáž žaludku, plikace žaludku či biliopankreatická diverze (Obrázek 3).

Obrázek 3: Typy bariatrických operací.

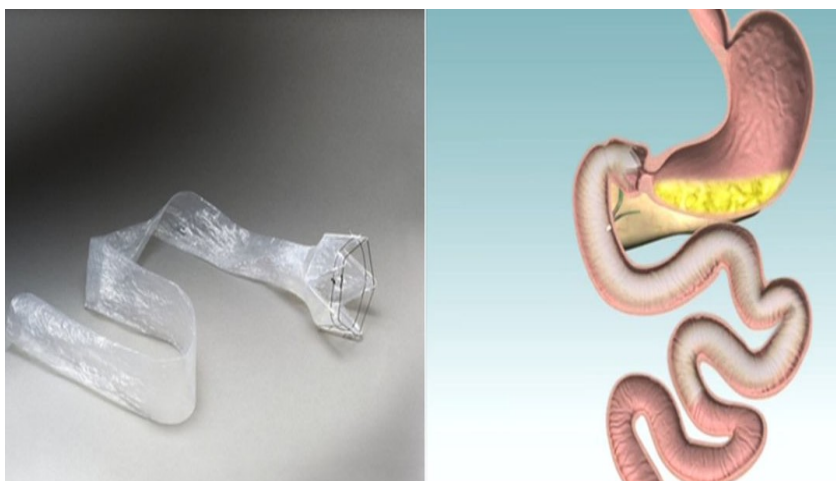


Upraveno dle (Haluzík et al. 2018).

2.3.2. Duodeno-jejunální rukáv

Duodeno-jejunální rukáv je procedura, která napomáhá léčbě obezity a k ní přidružených metabolických komplikací jako je T2DM. Jedná se o léčbu na pomezí konzervativního přístupu (farmakologického/fyzického) a bariatrické léčby, přičemž se provádí endoskopicky a je zcela reverzibilní. Zavedený implantát dosahuje v tenkém střevě od duodena po proximální část jejunu a tvoří bariéru mezi střevním epitelem a tráveninou (Obrázek 4). Tímto procesem dochází k malabsorpčnímu vyřazení proximální části tenkého střeva z kontaktu s chymem. Dochází ke zvýšené sekreci inkretinů následované zlepšením sekrece inzulínu. Výsledkem je snížení tělesné hmotnosti a zlepšení kompenzace T2DM (Kaválková et al. 2016, Ruban et al. 2022).

Obrázek 4. Duodeno-jejunální rukáv.



Upraveno dle: <http://bariatrictimes.com/wp-content/uploads/burch4.jp>

3. Typy tukové tkáně

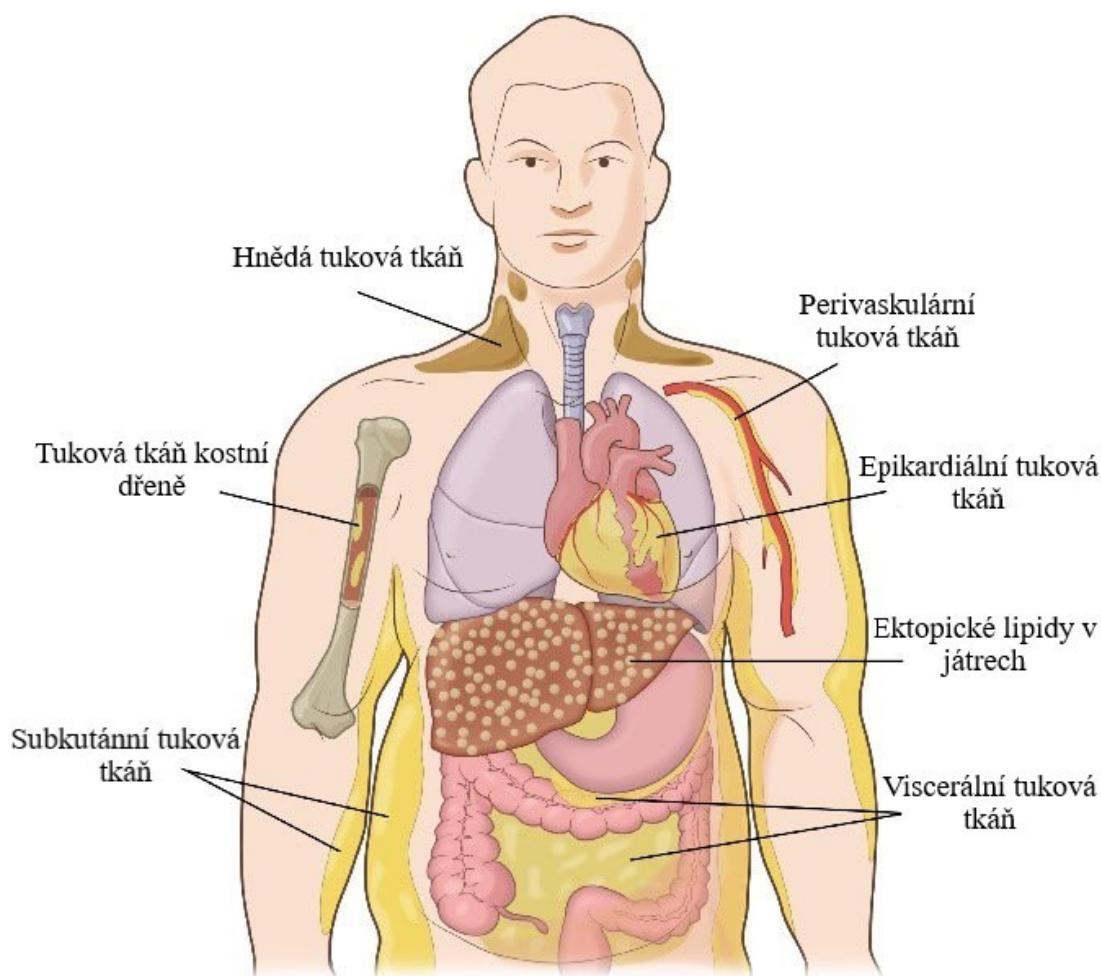
Tuková tkáň je strukturně různorodý orgán složený z vlastních buněk tukové tkáně tzv. adipocytů a preadipocytů a ze stromavaskulární frakce zahrnující fibroblasty, endotelové buňky, neurony, imunokompetentní buňky a další komponenty pojivové tkáně (Divella et al. 2016). Obecně se rozlišují dva hlavní typy tukové tkáně – bílá a hnědá. V posledních letech byla popsána i tzv. béžová tuková tkáň, jejíž buňky nesou sdílené charakteristiky bílých i hnědých adipocytů (Nedergaard and Cannon 2013). Bílá tuková tkáň obsahuje uniloculární adipocyty vyplněné jednou intracelulární tukovou kapénkou obsahující zásobní TAG a estery cholesterolu. Hnědá tuková tkáň je charakterizovaná přítomností multiloculárních adipocytů s řadou cytoplazmatických tukových kapének a vysokou densitou mitochondrií a na ně vázaných cytochromů (Lean and Jennings 1989). Hnědá tuková tkáň se podílí na vytváření tepla u novorozenců procesem netřesové termogeneze. V dospělosti se z velké části přeměňuje na bílou tukovou tkáň, a její funkční význam v dospělém věku je zřejmě minimální (Rothwell and Stock 1997). Béžové adipocyty vznikají dvojím způsobem – transdiferenčním mechanismem mezi hnědými a bílými tukovými buňkami nebo *de novo* ze specifických prekurzorů (Wu et al. 2012). Transdiferenciace závisí na řadě okolních faktorů, jako je teplota prostředí, genetické faktory, anatomické umístění tukové tkáně či věk. V závislosti na podmínkách prostředí se mohou béžové adipocyty vyvinout v buňky blízké hnědým nebo bílým adipocytům s možným termogenním či naopak skladovacím fenotypem (Tran et al. 2012, Zoico et al. 2019).

3.1. Tuková depa

Tuková depa se nacházejí buď v podkožní (subkutánní), nebo v útrobní (viscerální) oblasti (Obrázek 5). Ukládání tuku do podkožních dep má roli zejména v tepelné izolaci a jako zásobárna energie. Subkutánní tuk nemá zřejmě na lidský organizmus zásadní negativní vliv díky své nízké metabolické aktivitě. Oproti tomu nadměrné ukládání tuku ve viscerální oblasti má úzkou spojitost s vyšším rizikem vzniku metabolických (Wajchenberg 2000) či kardiovaskulárních poruch (Larsson et al. 1984). Viscerální tuk zahrnuje intraperitoneální (omentální a mezenterální) a retroperitoneální (oblast ledvin) tuková depa v dutině břišní, kde parakrinním a endokrinním působením ovlivňují útrobní orgány (Wajchenberg 2000). Bylo prokázáno, že míra akumulace viscerální tukové tkáně vysoce koreluje s tloušťkou epikardiální tukové tkáně (EAT) (Iacobellis et al. 2003). Kromě antropometrických metod (měření obvodu pasu) se ke kvantifikaci viscerální tukové tkáně a případné diagnostice viscerální obezity používá počítačová tomografie a zejména nukleární magnetická rezonance. Obě tyto metody

jsou bezpečné a velmi přesné, ale bohužel i značně nákladné. Mezi levnější, ale méně přesné metody lze zařadit kvantifikaci bioimpedance, na které je založen Bodystat, Inbody nebo obdobné přístroje (Martínez et al. 2007). Další levnější metodou je echokardiografie, primárně používaná k posouzení morfologie myokardu, kterou lze také orientačně kvantifikovat množství epikardiálního tuku (Iacobellis et al. 2003).

Obrázek 5. Depa tukové tkáně.



Upraveno dle (Fuster et al. 2016).

3.1.1. Epikardiální tuková tkáň

Epikardiální tuková tkáň společně s perikardiální obklopují 80 % povrchu myokardu. Tuková tkáň obklopující myokard může představovat až 20 % jeho hmotnosti. Epikardiální a perikardiální tuková tkáň mají různý embryonální původ, cévní zásobení a metabolický efekt na myokard (Iacobellis and Bianco 2011). EAT se nachází mezi myokardem a viscerální vrstvou perikardu, je přímo v kontaktu se srdeční svalovinou a zásobují ho koronární cévy. Oproti tomu perikardiální tuková tkáň leží mezi viscerální a parietální vrstvou perikardu a

zásobuje ji vnitřní hrudní tepna (Iacobellis et al. 2005). Epikardiální tuk má klíčovou roli v regulaci kardiovaskulární fyziologie a patofyziologie. Jeho fyziologický význam je dán uložením v těsné blízkosti k myokardu. Mezi EAT a myokardem zřejmě není žádná souvislá anatomická hranice a obě tkáně sdílí koronární mikrocirkulaci. Díky tomuto anatomickému uspořádání mají faktory uvolněné z EAT, jako jsou adipokiny a cytokiny, vazokrinní a parakrinní účinky na myokard (Cherian et al. 2012). V současnosti je EAT široce studována pro její možné zapojení v patofyziologii kardiovaskulárních onemocnění (KVO).

4. Tuková tkáň a subklinický zánět

Tuková tkáň produkuje řadu endokrinně aktivních látek tzv. adipokinů (Zhang et al. 1994). Dle charakteru se tyto látky dělí na hormony ovlivňující centrální nervový systém (CNS), prozánětlivé a protizánětlivé cytokiny působící na imunitní systém a systémový zánět, působky ovlivňující citlivost na inzulín a hormony působící na kardiovaskulární systém (Kershaw and Flier 2004). Kromě toho je zde produkována i řada dalších faktorů s jinými typy účinků.

Sekrece adipokinů ovlivňuje zásadně celou řadu dějů v organismu, přičemž změny jejich produkce ovlivňují lokální i celkový energetický metabolismus, funkci CNS, jaterní či svalové tkáně a řady dalších tkání a orgánů (Havel 2002). Při dlouhodobě zvýšeném energetickém příjmu dochází zpočátku k diferenciaci nových tukových buněk, k tzv. hyperplázii tukové tkáně, při níž jsou nově vzniklé buňky schopny ještě reagovat na potřeby organismu. Při vyčerpání proliferační kapacity dochází k zvětšování objemu stávajících adipocytů neboli k jejich hypertrofii. Diferenciační kapacita tukových buněk je však značně omezená a postupně se vyčerpá. Buňky dále hypertrofují, ale již nemají dostatečnou skladovací kapacitu, čímž dochází k ektopickému ukládání tukových kapének do ostatních orgánů (Jo et al. 2009, Hoffstedt et al. 2010).

Za jednu z klíčových příčin vzniku komplikací obezity je považován rozvoj subklinického zánětu (Yudkin et al. 1999). Subklinický zánět je obecně definován jako chronická zánětlivá reakce s mírným průběhem, jež není doprovázená typickými systémovými projevy zánětu. Tento zánět je charakterizován jen mírně zvýšenou hladinou C-reaktivního proteinu (CRP) a zánětlivých faktorů v cirkulaci negativně ovlivňujících inzulínovou senzitivitu a funkci dalších tkání a orgánů (Festa et al. 2000). Vztah mezi tukovou tkání a chronickým zánětem byl poprvé popsán před více než dvaceti lety. Hotamisligil a spol. (Hotamisligil et al. 1993) zaznamenali zvýšené hladiny TNF- α a jeho expresi v tukové tkáni u

myši s obezitou indukovanou dietou a jeho vliv na inzulínovou senzitivitu, u nichž podání anti TNF- α protilátky zvýšilo inzulínovou senzitivitu. Navazující studie dále potvrdily propojení nadměrného množství tukové tkáně se zvýšenými hladinami prozánětlivých faktorů. Vedle TNF- α produkuje tuková tkáň další prozánětlivé cytokiny, zejména interleukiny (IL)-6, IL-1 či IL-8 (Hotamisligil 2006). Naopak hladiny protizánětlivých hormonů jako je adiponektin jsou při obezitě značně sníženy (Arita et al. 1999).

4.1. Mechanizmy vzniku subklinického zánětu

Při přetrvávání nadměrného příjmu potravy dochází k překročení skladovací kapacity adipocytů, což vede k ektopickému ukládání lipidů mimo tukovou tkáň (Ruberg et al. 2010). Hypertrofie adipocytů je spojena se zvýšenými nároky na okysličení tkáně, a tudíž se zvýšenou potřebou její vaskularizace (Hosogai et al. 2007). Hypertrofie adipocytů se dává do spojitosti s vyšší mírou apoptózy a nekrózy v tukové tkáni (Kusminski et al. 2009). Kombinace těchto procesů se projevuje změnou expresního profilu adipocytů i dalších buněk přítomných v tukové tkáni s následující změnou v produkci adipokinů, cytokinů a dalších faktorů (Skurk et al. 2007). Důsledkem uvedených procesů je zvýšené zastoupení imunokompetentních buněk v tukové tkáni, zejména makrofágů (Cinti et al. 2005). Tyto buňky se dostávají do tukové tkáně z cirkulace jako monocyty pod vlivem lokálně zvýšené produkce chemokinů a cytoadhezivních molekul. V tukové tkáni štíhlých jedinců se makrofágy vyskytují v nižším počtu než u obézních jedinců, a to zejména jako tzv. M2 polarizované. M2 neboli alternativně aktivované makrofágy se podílejí na udržení homeostázy tkáně, její regeneraci, angiogenezi a produkci protizánětlivého cytokinu IL-10 (Mantovani et al. 2004). Podobně se na udržení homeostázy tukové tkáně podílejí i další buněčné typy jako jsou Th2 lymfocyty a T regulační lymfocyty, které se skrze svou cytokinovou produkci IL-4, IL-13 a IL-10 spolu s M2 makrofágy podílejí na udržení inzulín senzitivního prostředí (Tiemessen et al. 2007, Kang et al. 2008). U obézních jedinců pak dochází k navýšení počtu imunokompetentních buněk i ke změně jejich fenotypu na prozánětlivý. Nejčastěji zmiňovanou populací jsou klasicky aktivované makrofágy M1, které jsou hlavním zdrojem TNF- α v tukové tkáni (Aron-Wisnewsky et al. 2009) a jednou z příčin vzniku subklinického zánětu (Weisberg et al. 2003). TNF- α negativně ovlivňuje funkci adipocytů. Ty začnou produkovat řadu cytokinů s prozánětlivým působením. Signální cytokiny imunitních buněk a jejich funkce a výskyt jsou shrnuty v tabulce 1 (Cinkajzlová et al. 2022). Významnou roli v podpoře M1 polarizace makrofágů hraje také leptin, jenž je ve zvýšené míře produkován adipocyty (Kern et al. 1995, Zumbach et al. 1997, Liu et al. 1998). Adipocyty a M1 makrofágy u obézních jedinců dále rekrutují, aktivují a komunikují s Th1 lymfocyty, Th17

lymfocyty, T cytotoxickými lymfocyty a NK buňkami a navozují tak produkci prozánětlivého IFN- γ (Interferon gamma) a dalších cytokinů umocňujících zánětlivou reakci v tukové tkáni (Watford et al. 2004, Koenen et al. 2011, Wensveen et al. 2015). B lymfocyty v tukové tkáni začnou produkovat protilátky (McDonnell et al. 2012). Buňky různého typu v tukové tkáni se vzájemně ovlivňují. Příkladem je komunikace mezi antigen prezentujícími buňkami nebo adipocyty a T pomocnými lymfocyty prostřednictvím CD40 a CD40 ligandu (Wortis et al. 1995, Poggi et al. 2009).

Tabulka 1. Signální cytokiny imunitních buněk tukové tkáně a jejich role u obezity, diabetes mellitus 2. typu a kardiovaskulárních onemocnění (Cinkajzlová et al. 2022).

| Cytokin | TNF- α , IL-1 β , IL-6 |
|--|--|
| Zdroj | Adipocyty, makrofágy (M1/MMe), Th1 lymfocyty, NK buňky |
| Hlavní funkce | Indukce systémového zánětu a reakce akutní fáze |
| Vztah k obezitě a T2DM | <p>TNF-α: koreluje se stupněm adipozity a HbA_{1c}, spojený s inzulínovou rezistencí a T2DM, snižuje expresi inzulínem regulovaného transportéru glukózy typu 4 umístěného v adipocytech, kosterních a srdečních svalech</p> <p>IL-1β: mediátor metabolického zánětu, potlačuje inzulínovou signalizaci, přispívá k selhání β-buněk</p> <p>IL-6: podporuje polarizaci M2 i Th2 nebo naopak odpověď M1 v přítomnosti IFN-γ, zprostředkovává komunikaci mezi makrofágy a adipocyty, zvyšuje lipolýzu, potlačuje sekreci adiponektinu, zvyšuje glykémii potlačením vychytávání glukózy adipocyty, snižuje citlivost jaterního inzulínu a syntézu glykogenu</p> |
| Vztah ke kardiovaskulárním onemocněním | <p>TNF-α: podílí se na progresi aterosklerózy, stimuluje interakci mezi leukocyty a endotelem prostřednictvím nadprodukce cytoadhezivních molekul, stimuluje hypertrofii myocytů prostřednictvím vytváření reaktivních kyslíkových meziproductů v srdečních myocytech, indukuje remodelaci komor</p> <p>IL-1β: zvyšuje syntézu oxidu dusnatého, což vede k nižší produkci energie a snížené kontraktilitě myokardu, stimuluje poinfarktovou zánětlivou reakci, podílí se na remodelaci srdce</p> <p>IL-6: progresi aterosklerózy indukcí endoteliální dysfunkce a oxidace lipoproteinů, nezávislý rizikový faktor pro onemocnění koronárních tepen</p> |

| Cytokin | IFN-γ |
|---|--|
| Zdroj | Th1 buňky, Tc buňky, NK buňky, NKT buňky, M1 makrofágy |
| Hlavní funkce | Antivirová a antimikrobiální imunita |
| Vztah k obezitě a T2DM | Zvyšuje produkci makrofágových mediátorů, indukuje produkci adhezních molekul leukocytů a chemokinů, zvyšuje schopnost makrofágů a endotelových buněk prezentovat antigen, narušuje buněčný metabolismus a energetický výdej, zvyšuje inzulínovou rezistenci a negativně ovlivňuje glukózovou toleranci. |
| Vztah ke kardiovaskulárním onemocněním | Zvyšuje akumulaci myeloidních buněk v infarktové srdeční tkáni, aktivuje srdeční makrofágy v ischemickém myokardu, podporuje aterosklerózu a zvyšuje zranitelnost plátů. |

| Cytokin | IL-17 |
|---|---|
| Zdroj | Th17 buňky, makrofágy, dendritické buňky, NK buňky, NKT buňky, $\gamma\delta$ -T buňky, neutrofilny |
| Hlavní funkce | Obrana hostitele proti mikrobům, zejména extracelulárním bakteriím a houbám |
| Vztah k obezitě a T2DM | Inhibuje adipogenezi, podporuje produkci IL-6 v diferencovaných adipocytech, zvyšuje obezitu a T2DM, zhoršuje vychytávání glukózy a citlivost na inzulín, indukuje produkci volných radikálů u diabetu. |
| Vztah ke kardiovaskulárním onemocněním | Přispívá k ateroskleróze a zranitelnosti plátů, remodelaci extracelulární matrix prostřednictvím navýšení receptoru angiotensinu II typu 1, nárůstu akutního koronárního syndromu. |

| Cytokin | IL-10 |
|---|--|
| Zdroj | M2 makrofágy, Th2 buňky, Treg buňky |
| Hlavní funkce | Potlačení prozánětlivých reakcí |
| Vztah k obezitě a T2DM | Snižuje produkci TNF- α , inhibuje expresi adhezních molekul a prezentaci antigenu, řídí remodelaci tkání, zlepšuje citlivost na inzulín a transport glukózy. |
| Vztah ke kardiovaskulárním onemocněním | Snižuje expresi adhezních molekul na endoteliálních buňkách, chrání při ischemii myokardu nebo reperfúzi, nízké hladiny vedou k rozvoji rozsáhlých a nestabilních aterosklerotických lézí. |

| | |
|---|--|
| Cytokin | IL-5, IL-4, IL-13 |
| Zdroj | M2 makrofágy, Th2 buňky, Treg buňky, žírné buňky, bazofily |
| Hlavní funkce | Homeostatické, antiparazitární a alergické reakce |
| Vztah k obezitě a T2DM | Souvisí s alternativní aktivací makrofágů a rozvojem běžového tuku. IL-4: zlepšuje citlivost na inzulín a glukózovou toleranci inhibicí adipogeneze a aktivací lipolýzy IL-13: zlepšuje sekreci inzulínu, podílí se na příjmu glukózy a metabolismu v kosterním svalstvu |
| Vztah ke kardiovaskulárním onemocněním | IL-5: ateroprotektivní role, usnadňuje obnovu srdeční funkce po infarktu myokardu IL-4: indukuje prozánětlivé prostředí ve vaskulárním endotelu nadměrnou expresí zánětlivých mediátorů, zvyšuje expresi adhezní molekuly 1 cévních buněk ve vaskulárním endotelu, podporuje tvorbu fibrotické tkáně po infarktu myokardu IL-13: inhibuje progresi aterosklerózy, usnadňuje regeneraci srdce po infarktu myokardu |

4.2. Vztah subklinického zánětu k metabolickým komplikacím

Rozvoj chronického zánětu aktivuje vedle makrofágů i další buňky imunitního systému, což má za následek zvýšenou produkci prozánětlivých cytokinů, adhezivních molekul a faktorů negativně působících na centrální nervovou soustavu či parakrinně ovlivňujících další tkáň. Významným prozánětlivým cytokinem je IL-6. Ten stimuluje zánětlivé procesy, imunitní reakce, koreluje s hladinami TNF- α a přímo ovlivňuje vyšší produkci CRP játry (Baumann and Gauldie 1994). Zvýšené koncentrace CRP korelují s výskytem T2DM (Hu et al. 2004) a kardiovaskulárních nemocí (Hansson and Hermansson 2011) a jsou tak charakteristickým znakem rozvíjejícího se subklinického zánětu, IR a metabolických komplikací u obezity.

Nedávno zveřejněné výsledky meta-analýzy porovnávající epigenomové asociační studie poukazují na vztah metylace DNA s rozvinutým subklinickým zánětem (Ligthart et al. 2016). U proteinu CRP byla nalezena 6% variabilita v jeho cirkulujících hladinách. Ligthart a spol. (Ligthart et al. 2016) identifikovali 218 CpG úseků (úseky DNA, kde guanosinový nukleotid následuje cytosinový v lineární sekvenci bází) napříč evropskou populací prokazujících vztah s CRP a 58 úseků, v nichž docházelo k metylacím DNA u afroamerické populace. Četnost těchto metylací DNA významně korelovala s hladinami CRP (pozitivní

korelace se 125 a negativní s 93 úseky CpG). Autoři dále prokázali vzájemnou provázanost mezi DNA metylací, genovou expresí a sérovými hladinami CRP, a tedy se subklinickým zánětem. Příkladem je zvýšená metylace *cg10636246* související s nižšími sérovými hladinami CRP a nižší expresí *AIM2* genu (protein AIM2 – interferonem indukovaný protein, má význam při zánětech) (DeYoung et al. 1997, Ligthart et al. 2016). Mnoho replikovaných míst CpG prokázalo asociace s kardiometabolickými fenotypy, z čehož plyne, že pleiotropní epigenetická asociace napříč různými fenotypy může poskytnout nový pohled na sdílené epigenetické mechanismy a poskytnout příležitosti k propojení chronického zánětu nízkého stupně a kardiometabolických fenotypů (Ligthart et al. 2016).

Hypotézu souvislosti chronického zánětu s T2DM prokazuje řada studií, v nichž zánětlivé faktory CRP a IL-6 pozitivně korelují s rozvojem T2DM (Pradhan et al. 2001). V meta-analýze z dat do roku 2012 (Wang et al. 2013) byl vztah mezi CRP a výskytem T2DM potvrzen i při zahrnutí studií, které tuto hypotézu samostatně nepotvrdily. Z těchto závěrů lze usuzovat na vzájemný vztah mezi tukovou tkání, subklinickým zánětem a T2DM.

5. Makrovaskulární komplikace diabetes mellitus 2. typu

T2DM se kromě rozvoje subklinického zánětu a vzniku metabolických komplikací pojí s další řadou mikrovaskulárních i makrovaskulárních komplikací. Mezi mikrovaskulární komplikace patří diabetická retinopatie, nefropatie (nazývaná též diabetické onemocnění ledvin) a neuropatie. Jedná se o komplikace vyskytující se u obou typů diabetu, přičemž jejich vznik je u diabetu 1. typu relativně pozdní. Důvodem je fakt, že zatímco u T2DM k přítomnosti komplikací přispívá pozdní diagnóza, přítomnost obezity, dyslipidémie a arteriální hypertenze, u diabetu 1. typu je primární odchylkou hyperglykémie zpravidla přítomná u pacientů mladšího věku. Mezi makrovaskulární komplikace plynoucí z akcelerace aterosklerózy neuspokojivě kompenzovaným diabetem patří ischemická choroba srdeční (ICHS), ischemická choroba dolních končetin (ICHDK) a cévní mozkové příhody (CMP) (Fowler 2008).

5.1. Ateroskleróza

Ateroskleróza je zánětlivé onemocnění cév, které vzniká v důsledku ukládání lipidů do cévní stěny. V dětství se začínají vytvářet v cévách tzv. lipidové proužky nacházející se především v intimě velkých cév. Tyto tukové proužky neprominují do lumen cévy a neovlivňují krevní průtok. Během života se mohou vyvíjet v další aterosklerotické léze. Fibrózní pláty neboli ateromy jsou větší ostře ohraničená ložiska ve stěně cév. Ateromy prominují do cévního lumen, což je příčinou částečné nebo úplné obstrukce cévního lumen. Masivní kalcifikací a

těžkými degenerativními změnami vznikají komplikované léze. Ty jsou pak místem, kde dochází k organizaci trombu. Aterosklerotické pláty se dělí na stabilní a nestabilní. Stabilní plát obsahuje nižší množství tuků, pláty postupně zužují cévní lumen. Nestabilní pláty jsou bohaté na lipidy a jsou náchylnější k ruptuře a následnému vzniku trombózy. Aterosklerotické změny jsou u pacientů s diabetem akcelerovány a výskyt makrovaskulárních komplikací je 2-4x častější než u lidí bez diabetu. Na vzniku aterosklerotických plátů se u diabetiků projevují další rizikové faktory. Tyto rizikové faktory dělíme na ovlivnitelné (kouření cigaret, dyslipidemie, T2DM, centrální typ obezity, nízká fyzická aktivita, psychosociální faktory) a neovlivnitelné (věk, pohlaví – mužské, rodinná anamnéza a genetické faktory, hypertenze, osobní anamnéza KVO, metabolický syndrom). Mimo zmíněné rizikové faktory se na vzniku aterosklerotických plátů také podílejí i další mechanismy jako je vznik pozdních produktů glykace (AGE) a jejich endoteliálních receptorů (RAGE), zvýšený oxidační stres a porucha antioxidační kapacity, klesající produkce oxidu dusnatého, nadměrná aktivace renin-angiotenzin-aldosteronového systému (RAAS) a zánětlivá reakce endotelu působenou hyperglykemií, hyperinzulinémií, prekursorů inzulínu a nadprodukcí AGE/RAGE (Chawla et al. 2016). Pokud se krevní sraženina (trombus) dostane do místa aterosklerotického zúžení cévy, cévu ucpe, čímž zablokuje zásobení příslušného orgánu kyslíkem. Dochází k ischemii, kterou v praxi známe jako infarkt myokardu nebo cévní mozkovou příhodu.

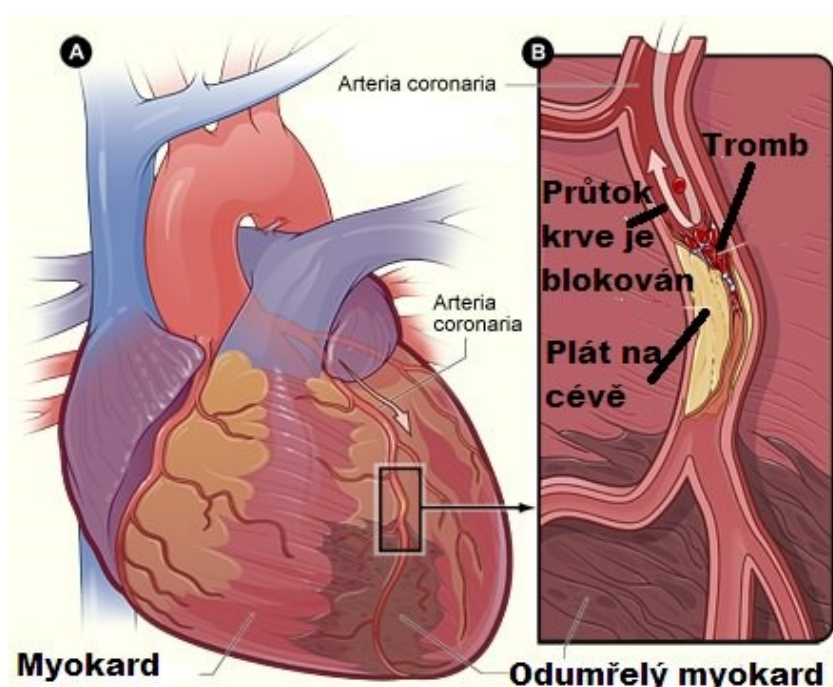
Kardiovaskulární onemocnění je nejčastější příčinou morbidity a mortality u pacientů s T2DM. Pacienti s diabetem jsou náchylnější k vaskulárním komplikacím a zároveň často asymptomatické projevy zhoršují včasnou diagnostiku KVO. Nedostatečně kompenzovaný diabetes mellitus 2. typu souvisí nejen s rozvojem ICHS, ale i s CMP či ICHDK, ale také zhoršuje jejich průběh a následnou terapii (Neumann 2009). Za jeden z nejpodstatnějších faktorů propojující diabetes, resp. prediabetes s kardiovaskulárním onemocněním je pokládána vlastní hyperglykémie. Řada zdrojů poukazuje, že stále téměř polovina diabetiků umírá na KVO (Htay et al. 2019). Z tohoto pohledu se v posledních letech považuje přísná kontrola hladiny glykémie u diabetiků za klíčovou, přičemž dobrá kompenzace T2DM může snížit výskyt KVO (Chawla et al. 2016).

5.1.1. Ischemická choroba srdeční

Při aterosklerotickém poškození věnčitých tepen dochází k nedostatečnému prokrvení a okysličení myokardu označovanému jako akutní nebo chronická ischemická choroba srdeční (Fejfarová and Jirkovská 2009). Akutní infarkt myokardu (AIM) se u diabetiků projevuje často

nebolestivým průběhem způsobeným poruchou nervového vedení sympatiku a poruchou vnímání bolesti (Pelikánová and Bartoš 2018). Při prasknutí nestabilního aterosklerotického plátu ve věnčité tepně s nasedající intraluminální trombózou dochází k tzv. akutnímu koronárnímu syndromu. Patří sem akutní infarkt myokardu (Obrázek 6) a nestabilní angina pectoris (AP). U AIM dochází k nekróze myokardu, u nestabilní AP nikoliv. Jedná se o životohrožující stav a může se projevit i u zdravého jedince bez předchozích známek kardiálních obtíží. AIM se dělí dle hodnot elektrokardiogramu na STEMI (infarkt myokardu s ST elevací) a NSTEMI (infarkt myokardu bez ST elevací). K infarktu myokardu s ST elevací dochází po uzavření proximálního úseku koronární tepny dodávající krev srdci. STEMI je událost, při které transmurální ischemie myokardu vede k poškození nebo nekróze myokardu (Foth and Mountfort 2019). U NSTEMI vzniká akutně významná stenóza nebo uzávěr periferní tepny. Mezi chronické ICCHS patří i stav po prodělaném IM, dále stabilní AP, nemá ischemie, variantní AP, mikrovaskulární AP a srdeční selhání v důsledku ICCHS (Hussain et al. 2021).

Obrázek 6: Akutní infarkt myokardu.



Převzato z: <https://www.trombofilik.cz>.

5.1.2. Ischemická choroba dolních končetin

Ateroskleróza se netýká pouze věnčitých tepen, ale k ukládání lipidových složek dochází i v cévách prokrvujících dolní končetiny. Při nedostatečném prokrvení tkání dolních končetin se rozvine onemocnění zvané ischemická choroba dolních končetin. Cévy v dolních

končetinách se nejčastěji na základě aterosklerotických změn zúží nebo posléze zcela uzavřou a okysličená krev nemůže zásobovat tkáň.

ICHDK může zpočátku probíhat asymptomaticky, v pozdějších stádiích může vznikat svíravá a křečovitá bolest při chůzi, kdy se k pracujícímu svalu nedostává dostatek kyslíku. Další fáze se vyznačuje trvalou bolestí projevující se nejvíce v noci. A poslední fáze je fáze defektů, atrofií svalové tkáně, která může skončit až nekrózou tkání, často končící až amputací (Karetová et al. 2018).

5.1.3. Cévní mozková příhoda

Cévní mozková příhoda má dva základní typy – hemoragickou (krvácení do mozku) nebo častější ischemickou (uvolnění krevní sraženiny ze sklerotizujícího plátu cévy a zanesení do mozkových tepen pomocí cévního řečiště). Je způsobená špatným prokrvováním mozkové tkáně nedostatečným přísunem kyslíku a dochází při ní k neurologickým poruchám, jako je porucha řeči, ochabnutí části obličeje, omezení hybnosti.

Epidemiologické studie ukázaly, že diabetes působí jako rizikový faktor pro oba typy CMP (Janghorbani et al. 2007, Houry et al. 2013). Zejména diabetes mellitus 1. typu prokázal zvýšené riziko pro oba subtypy CMP. V dlouhodobé prospektivní studii bylo prokázáno až 6,3x vyšší riziko pro vznik ischemické CMP a 4x vyšší riziko pro rozvoj hemoragické CMP u žen s diabetem oproti nediabetičkám. Naopak T2DM zvyšuje riziko pouze pro vznik ischemické CMP, doprovázeno větším funkčním postižením, delším pobytem v nemocnici a zvýšenou úmrtností (Janghorbani et al. 2007, Shou et al. 2015, Tun et al. 2017). Pacienti s diabetem, tak mají vyšší podíl ischemické mrtvice ve srovnání s hemoragickými mrtvicemi, přičemž nejběžnějším typem jsou arteriopatie malých cév (mikroarteriopatie – lakunární infarkty). Může to být způsobeno vyšší prevalencí mikrovaskulárního onemocnění a souběžnou existencí hypertenze pozorované u této skupiny pacientů (Vaidya et al. 2015).

6. Dysfunkce tukové tkáně

Dysfunkce tukové tkáně se projevuje změnou produkce adipokinů, ektopickým ukládáním tuků a zvýšeným uvolňováním mastných kyselin s porušeným antilipolitickým účinkem inzulínu. K ukládání lipidů mimo tukovou tkáň dochází zejména do jater, slinivky břišní, svalové tkáně a myokardu. Zvýšená lipolýza v tukové tkáni vede k uvolnění vyššího množství mastných kyselin, což způsobuje akumulaci triacylglycerolů v játrech. To dále zvyšuje produkci glukózy v játrech. Zároveň může dojít k destrukci β buněk v pankreatu doprovázenou sníženou produkcí inzulínu. Nakonec se triacylglyceroly ukládají v cévách.

Všechny tyto procesy vedou k metabolickým poruchám, jako je inzulínová rezistence, hyperglykémie, ateroskleróza a rozvoj T2DM (Hajer et al. 2008).

6.1. Endokrinní dysfunkce

Tuková tkáň jakožto velmi aktivní orgán produkuje řadu adipokinů, hormonů a jiných markerů ovlivňujících homeostázu organismu a metabolické děje. Změna produkce těchto působků vytvářených zejména adipocyty, přispívá k rozvoji řady onemocnění a poruch.

6.1.1. Leptin

Proteinový hormon leptin byl objeven v roce 1994 (Zhang et al. 1994). Hladiny tohoto hormonu jsou výrazně zvýšené u obézních jedinců oproti štíhlým. Jeho hladiny pozitivně korelují s množstvím tukové tkáně, naopak jeho úplné chybění vede k těžké obezitě. Leptin je kódovaný *obese (ob)* genem, váže se na Ob-receptory, a tím spouští signální kaskády podílející se na regulaci energetické homeostázy. Jedním z hlavních míst působení leptinu je CNS, kde tento hormon ovlivňuje centrum sytosti a řídí tak příjem potravy. V CNS je považován za hlavní regulátor příjmu a výdeje energie hypotalamus, který obsahuje i nejvíce Ob receptorů. Leptin působí na hypotalamus ve ventrikulomediální oblasti, v laterálních hypotalamických jádrech a v místě obloukovitého jádra (*nucleus arcuatus*), kde stimuluje neurony k sekreci neuropeptidu proopiomelanokortinu (Fei et al. 1997), který je prekurzorem melanocyty stimulujícího hormonu α (α -MSH). Hormon α -MSH se zvyšuje společně s leptinem a má anorexigenní účinky, což znamená, že snižuje chuť k jídlu a zvyšuje výdej energie (Balthasar et al. 2004). Leptin také působí v pankreatu na produkci inzulínu, a to přímo vzhledem k expresi leptinových receptorů na β buňkách pankreatu. Inzulínem je také zpětnovazebně zvyšována leptinová sekrece, stejně tak jako estrogeny, mastnými kyselinami, glukokortikoidy nebo androgeny (Ahima et al. 1996).

Podávání leptinu u obézních lidí s hyperleptinemií nevede ke snížení tělesné hmotnosti (Shetty et al. 2011). U těchto jedinců dochází k tzv. leptinové rezistenci. Leptin je z evolučního hlediska primárně určen k adaptaci na dlouhodobé hladovění a ne na okamžitou regulaci příjmu potravy (Sáinz et al. 2015). Leptinová rezistence může mít rozdílné mechanismy, jedním je vznik rezistence na úrovni transportu leptinu přes hematoencefalickou membránu, druhým je inhibice signální kaskády leptinu v neuronech v konkrétních oblastech mozku, dále možnost „defenzivní“ snížení exprese leptinových receptorů či narušená postreceptorová dráha (Martin et al. 2000, Sáinz et al. 2015).

6.1.2. Adiponektin

Dalším zajímavým hormonem je adiponektin, adipokin podílející se na regulaci metabolismu lipidů a sacharidů. Působením adiponektinu se prostřednictvím zvýšené β -oxidace MK ve svalech a útlumu glukoneogeneze v játrech, zvyšuje citlivost tkání k inzulínu a zlepšuje se jaterní a svalová inzulínová rezistence. Zároveň adiponektin pomáhá zlepšit endoteliální dysfunkci a blokovat prozánětlivou aktivitu (Haluzik 2005, Kadowaki et al. 2008). V porovnání s jinými adipokiny jsou jeho sérové hladiny sniženy u pacientů s obezitou a T2DM a negativně korelují s parametry IR.

Adiponektin se váže na své dva základní transmembránové receptory AdipoR1 a AdipoR2, které jsou přítomny v orgánech prakticky v celém organismu s převahou AdipoR2 v játrech a AdipoR1 v kosterní svalovině (Kadowaki et al. 2006). Adiponektin má inzulín-senzitizující (Cnop et al. 2003), antiaterogenní (Antoniades et al. 2009) a vaskuloprotektivní účinky (Ouchi et al. 2003). Zároveň má vysoce protektivní účinek na kardiovaskulární systém (Ghantous et al. 2015). Potlačuje rozvoj aterosklerózy, pozitivně koreluje s hladinami HDL cholesterolu a potlačuje zánět.

Při zvýšeném množství tukové tkáně, zejména viscerální, koncentrace adiponektinu klesají a zvyšují se hladiny zánětlivých cytokinů, jako jsou TNF- α a IL-6. Dochází ke snížení lipidového metabolismu (snižuje se oxidace mastných kyselin a zvyšují se plazmatické hladiny volných mastných kyselin a TAG) a stoupá tak riziko rozvoje obezity a jejích komplikací (Fruebis et al. 2001, Shimada et al. 2004). Klinické studie prokázaly souvislost mezi nižšími hladinami cirkulujícího adiponektinu a KVO. Nízké hladiny adiponektinu negativně korelovaly s intimo-mediální tloušťkou karotid, jež je považována za indikátor časně aterosklerózy (Nilsson et al. 2006). Nižší hladiny adiponektinu byly prokázány u pacientů s ischemickou chorobou srdeční oproti zdravým kontrolním subjektům stejného věku a BMI (Kumada et al. 2003). Trvale nízké hladiny plazmatického adiponektinu po akutním infarktu myokardu by mohly být prediktorem recidivy srdeční příhody (Kojima et al. 2007, Shibata et al. 2017).

6.2. Mitochondriální dysfunkce

Mitochondrie jsou membránové orgány sloužící jako energetické centrum eukaryotických buněk. Hrají ústřední roli při tvorbě adenosintrifosfátu (ATP), výdeji energie a likvidaci volných radikálů (ROS). Zisk energie ve formě ATP v mitochondriích probíhá formou oxidativní fosforylace, přičemž i malý přebytek elektronů způsobuje redukci kyslíku, což má za následek vznik potenciálně toxických volných radikálů. Kromě toho za určitých podmínek

mohou být protony znovu zavedeny do mitochondriální matrix pomocí odpráhujeících proteinů. To vede ke změně při regulaci produkce volných radikálů v mitochondriích (Manna and Jain 2015). Přebytek energetického substrátu způsobuje při delším působení mitochondriální dysfunkci úzce se pojící s dysregulací sekrece adipokinů (Koh et al. 2007), defekty oxidace mastných kyselin, zvýšenou produkcí ROS (Gao et al. 2010) a zhoršením glukózové homeostázy (Sutherland et al. 2008).

Mitochondriální dysfunkce společně s oxidačním stresem je významnou součástí řady metabolických poruch, jako je obezita, T2DM, inzulinová rezistence, ale také mnoha kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění (Kostis and Sanders 2005, Luque-Contreras et al. 2014, Das et al. 2016). U myši s obezitou dochází k zvýšené produkci ROS v tukové tkáni doprovázené zvýšenou expresí NADPH (nikotinamidadenindinukleotidfosfát) oxidázy a sníženou expresí antioxidačních enzymů (Furukawa et al. 2017). Centrální obezita je spojena s defektní mitochondriální biogenezí projevující se zhoršenou mitochondriální funkcí, oxidačním stresem, nízkou expresí mitochondriálních genů a sníženou tvorbou ATP u hlodavců i lidí (Nisoli et al. 2007, Bhatti et al. 2017). Další studie (Morino et al. 2005) poukazuje na fakt, že pacienti s obezitou a T2DM mají snížený počet a velikost mitochondrií v kosterním svalstvu.

Mitochondriální dysfunkce a oxidační stres může být u pacientů s ICHS spojen se zvýšeným poškozením mitochondriální DNA (mtDNA). Bylo prokázáno, že v myokardu může být ROS generován v srdečních myocytech, endoteliálních buňkách a neutrofilech. Nedávná zjištění (Suematsu et al. 2003) prokázala roli ROS a prozánětlivých cytokinů, včetně TNF- α , při změně mitochondriální biogeneze a poškození mtDNA. To se projevuje na strukturálních a morfologických změnách mitochondrií. Tyto mitochondriální změny se projevují zejména při rozvoji a progresi srdečních chorob, jako je srdeční selhání a srdeční dysfunkce. U kardiovaskulárních onemocnění se řada studií zabývá i možnou úlohou epikardiální tukové tkáně, přičemž lokální mitochondriální dysfunkce této tkáně může být jedním z významných mechanismů vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Vztah mezi mitochondriální funkcí a tukovou tkání však stále vyžaduje další objasnění přesných mechanismů a vzájemných souvislostí, zejména pak se zaměřením na viscerální tukovou tkáň, která má metabolicky vyšší aktivitu a její produkty jsou žilním systémem dopravovány přímo do jater.

6.2.1. Mitochondriální geny

Mitochondrie jakožto semiautonomní organely mají vlastní mitochondriální DNA (mtDNA). Díky své částečné samostatnosti kóduje mtDNA této buněčné organely syntézu

některých svých klíčových proteinů. Genetický kód mtDNA není však totožný s jadernou DNA, která je ale pro správnou funkci a kódování syntézy většiny mitochondriálních proteinů zásadní. Existuje však vzájemná interakce mezi mt a jaderným genomem. Mitochondriální proteiny kódované jadernými geny jsou transportovány do mitochondrií z cytoplazmy a tím si jaderný genom udržuje částečnou kontrolu určitých vlastností mitochondrií (Anderson et al. 1981).

Pro naši studii jsme vybrali již popsané geny mitochondriálního dýchacího řetězce (Tabulka 2) a citrátsyntázu (CS), která je považována za marker celkového množství mitochondrií (Hood et al. 1989). Je to enzym Krebsova cyklu trikarboxylové kyseliny, který katalyzuje syntézu citrátu z oxaloacetátu a acetylkoenzymu A a nachází se v mitochondriální matrix (Cheng et al. 2009, Christe et al. 2013). Další studované geny se nacházejí ve vnitřní membráně mitochondrií. Konkrétně podjednotka NADH dehydrogenázy (NDUFA12) a mitochondriálně kódovaná NADH dehydrogenázy 5 (MT-ND5), které jsou součástí enzymatického komplexu NADH-koenzym Q10 reduktázy (komplex I). Dále flavoproteinová podjednotka A sukcinátdehydrogenázového komplexu (SDHA) – tento gen kóduje hlavní podjednotku sukcinát-ubichinon oxidoreduktázy (komplex II). Další gen je součástí cytochrom c oxidázy (komplex IV) a jedná se o podjednotku cytochrom c oxidázy 4/1 (COX4/1) (Kadenbach and Hüttemann 2015) a posledním genem je cytochrom c 1 (CYC1), který v mitochondriích působí jako respirační podjednotka Ubiquinol Cytochrom c reduktázy (komplex III) (Gaignard et al. 2013, Urbanová et al. 2017).

Tabulka 2. Základní mitochondriální geny zahrnuté v této práci a jejich lokace (Kratochvílová et al. 2021).

| Geny mitochondrií | DNA lokace | Mt komplex lokace | Mt lokace |
|---|-------------|---|---------------------|
| Citrátsyntáza (CS) | Jaderná DNA | Krebsův cyklus | matrix |
| podjednotka NADH dehydrogenázy (NDUFA12) | Mt DNA | NADH-coenzym _Q ₁₀ reduktáza (komplex I) | vnitřní mt membrána |
| mitochondriálně kódovaná NADH dehydrogenáza 5 (MT-ND5) | Mt DNA | NADH-coenzym _Q ₁₀ reduktáza (komplex I) | vnitřní mt membrána |
| flavoproteinová podjednotka A sukcinátdehydrogenázového komplexu (SDHA) | Mt DNA | sukcinát-ubichinon oxidoreduktázy (komplex II) | vnitřní mt membrána |
| podjednotka 4/1 cytochrom c oxidázy (COX4/1) | Mt DNA | cytochrom c oxidáza (komplex IV) | vnitřní mt membrána |
| cytochrom c 1 (CYC1) | Mt DNA | Ubiquinol Cytochrom c reduktáza (komplex III) | vnitřní mt membrána |

6.3. Stres endoplazmatického retikula

Stres endoplazmatického retikula (ER) je považován za jeden z faktorů souvisejících s poruchou mitochondriální funkce. ER je buněčná organela, ve které dochází k posttranslačním modifikacím proteinů, jejich transportu dále do buňky nebo jejich sekreci. ER přispívá i k syntéze triacylglycerolů, maturaci proteinů, detoxikaci léků, pufování vápenatých iontů, čímž zajišťuje Ca²⁺ homeostázu a signalizaci, a vzájemně se funkčně ovlivňuje s jinými organelami, jako jsou mitochondrie, peroxisomy, lysozomy a další (Bogdanovic et al. 2015). Porucha metabolické rovnováhy vede k nedostatečné nebo nesprávné konformaci proteinů a dochází ke stavu zvanému stres ER projevující se aktivací signální kaskády (UPR – unfolded protein response). Ta prostřednictvím aktivace tří transmembránových receptorů v membráně ER: transkripčního faktoru 6 (ATF6), inositolu vyžadujícího enzym 1α (IRE1α) a proteinové kinázy RNA podobné endoplazmatické kináze retikula (PERK) by měla potlačit stres ER,

znovuobnovit homeostázu buňky a zabránit její apoptóze (Bogdanovic et al. 2015, Oakes and Papa 2015). Narušená funkce ER vede k spuštění dalších kompenzačních mechanismů, jako jsou stresové kinázy, inhibice translace proteinů, zvýšení degradačních procesů s buněčným poškozením a zvýšením produkce ROS. Na základě klíčové role ER v organismu, při buněčném chování a interakci s ostatními buněčnými kompartmenty, je dysfunkce či stres ER považován za ústřední proces v rozvoji patologických změn. Při vážných popáleninových traumatech bylo prokázáno, že vyvolaný stres ER v játrech je doprovázen dalšími metabolickými změnami, jako hyperglykémie, zvýšená lipolýza či hepatomegalie (Jeschke et al. 2012). Stres ER se projevuje i v tukové tkáni, kde se stále více projevuje jako důležitý stimulační mechanismus vedoucí ke zvýšení lipolýzy. Při dlouhodobém stresu ER v tukové tkáni dochází k chronickému zvýšení lipolýzy, což má za následek ektopické ukládání lipidů do jiných orgánů, jako jsou játra, srdce, ledviny či kosterní sval (Gregor and Hotamisligil 2007, Deng et al. 2012).

6.3.1. Geny stresu endoplazmatického retikula

Mezi geny stresu endoplazmatického retikula, které byly zahrnuty v naší studii, patří HSPA5, DDIT3, ATF4 a ATF6 (Tabulka 3). ATF4 je stresem indukovaný transkripční faktor a je jedním z hlavních regulátorů buněčné stresové reakce, která podporuje adaptaci buněk na omezenou dostupnost živin. V rakovinných buňkách a jinak narušených buňkách dochází často k jeho nárůstu (Wortel et al. 2017). ATF6 je transkripční faktor umístěný v membráně ER, který snímá stres ER. Bez stresových podmínek se ATF6 vyskytuje jako 90 kDA transmembránový glykoprotein (p90ATF6). Za stresových podmínek je protein štěpen za vzniku 50 kDA proteinu (p50ATF6), který se dostane do buněčného jádra, kde přímo ovlivňuje expresi cílových genů odezvy na protein (Chen et al. 2002). Protein kódovaný genem HSPA5 je členem rodiny proteinu tepelného šoku 70 (HSP70). Je lokalizován v lumen ER a podílí se na skládání a sestavování proteinů v ER. Tento protein interaguje s mnoha proteiny ER a ovlivňuje jejich průchod v ER (Wang et al. 2017). Poslední gen DDIT3 a jeho protein se účastní adipogeneze a erytropoézy, je aktivován stresem ER a podporuje apoptózu (Ramji and Foka 2002).

Tabulka 3. Základní geny endoplazmatického retikula zahrnuté v naší práci a jejich lokace (Kratochvílová et al. 2021).

| Geny ER | Lokace | Funkce proteinu |
|--|---|--|
| ATF4 (aktivační transkripční faktor 4) | Savčí protein vázající DNA | Stresem indukovaný transkripční faktor, hlavní regulátor buněčné stresové reakce, který podporuje adaptaci buněk na omezenou dostupnost živin. |
| ATF6 (aktivační transkripční faktor 6) | Membrána ER | Za stresových podmínek se dostane do buněčného jádra, kde působí jako transkripční faktor umožňující transkripci chaperonů ER. |
| HSPA5 (člen 5 rodiny A proteinů teplotního šoku (Hsp70)) | Lumen ER | Balení a sestavování proteinů v ER. |
| DDIT3 (Transkript 3 indukovatelný poškozením DNA) | Člen rodiny CCAAT: DNA-vazebných transkripčních faktorů | Podílí se na adipogenezi a erythropoéze, je aktivován stresem endoplazmatického retikula a podporuje apoptózu. |

7. Další nové markery vztahující se k subklinickému zánětu, epikardiálnímu tuku, diabetes mellitus 2. typu a obezitě

Na endokrinní funkci tukové tkáně se vedle adipocytů podílí i ostatní buňky zastoupené v tukové tkáni. Kostra tukové tkáně se skládá ze sítě kolagenních vláken, kterou obklopují primárně adipocyty a dále pak preadipocyty, fibroblasty, buňky, tzv. stromavaskulární frakce (SVF – buňky v okolí krevních cév) či imunokompetentní buňky – leukocyty, makrofágy a jiné. Z hlediska zánětlivé reakce v tukové tkáni má nezastupitelný význam interakce mezi imunokompetentními buňkami a adipocyty, při níž se parakrinním působením tyto buňky vzájemně ovlivňují. Tyto aspekty jsou závislé na složení tukové tkáně. Poměrné zastoupení jednotlivých složek se zásadně mění, jak s obezitou, tak s diabetes mellitus 2. typu či s dalšími metabolickými i kardiovaskulárními onemocněními. Endokrinní funkce tukové tkáně a její změny interagují buď přímo s CNS, či s periferními orgány a zároveň jsou zpětně regulovány z CNS i periferních orgánů. Z tohoto důvodu je stále snaha identifikovat nové faktory ať již produkované tukovou tkání, či jinými tkáněmi mající potenciální vliv na metabolické změny. Mezi takovéto nové působky je možné zařadit sekreční protein neudesin, či nedávno identifikovaný nový adipokin omentin-1.

7.1. Neudesin

Neudesin je nedávno objevený negativní regulátor energetického výdeje u zvířecích experimentálních modelů; jeho role u lidí však zůstává neobjasněná. Původně byl neudesin identifikován u myších embryí jako sekretovaný protein s neurotropní aktivitou (Kimura et al. 2005). Neudesin je členem rodiny receptorů progesteronu asociovaných s membránou, která se skládá ze čtyř proteinů charakterizovaných společnou cytochromu 5 podobnou hem/steroid vázající doménou. Z této proteinové rodiny jsou neudesin a neuferricin sekretované proteiny, další dva proteiny (komponenty progesteronových membránových receptorů 1 a 2) jsou umístěny na buněčných membránách (Kimura et al. 2012). Lidský neudesin má 172 dlouhou aminokyselinovou sekvenci vysoce podobnou s ostatními obratlovci (Kimura et al. 2005). Neudesin aktivuje signální dráhy MAPK a PI3K a hraje roli v diferenciaci nervových buněk, buněčné proliferaci a tumorigenezi (Han et al. 2012, Ohta et al. 2015).

Neudesin je primárně exprimován v CNS, kde podporuje diferenciaci nervových buněk (Kimura et al. 2013). Kromě neurotropních účinků může také snížit chuť k jídlu v hypotalamu (Byerly et al. 2013) nebo ovlivňovat úzkostné chování řízené hipokampem (Novais et al. 2013). Neudesin byl také detekován v jiných tkáních včetně tukové tkáně, srdce, plic a ledvin (Ohta et al. 2015).

Experimentální studie naznačují, že neudesin hraje mnohostrannou roli zejména v regulaci nervových funkcí a energetického metabolismu (Kimura et al. 2013, Kratochvilova et al. 2019). Myši s knockoutem (KO) pro neudesin byly rezistentní vůči obezitě a metabolickým dysfunkcím spojeným s dietou s vysokým obsahem tuku (HFD – high fat diet) (Ohta et al. 2015). Avšak příjem potravy není u neudesin KO myši krmených HFD zásadně ovlivněn. Z tohoto výsledku vyplývá, že rezistence na metabolické dysfunkce spojované s obezitou není závislá na příjmu potravy, ale zřejmě se zde podílejí jiné mechanismy. Naopak akutní intracerebroventrikulární podávání neudesinu snížilo příjem potravy a tělesnou hmotnost a tyto účinky byly oslabeny u myši s obezitou vyvolanou HFD (Byerly et al. 2013). Tyto nesoulady v experimentálních výsledcích mezi fyziologicky vyšetřovanými neudesin KO myši a farmakoterapeutickými analýzami pomocí podávaného rekombinantního neudesinu, jsou otázkou detailnějšího výzkumu (Ohta et al. 2015). Nedávné experimentální studie naznačují komplexní propojení mezi změnami energetické homeostázy a cirkulujícími koncentracemi neudesinu se zřetelnými účinky akutního vs. chronického omezení příjmu energie a rozdílným vlivem postupů ovlivňujících různé části zažívacího traktu (Kratochvilova et al. 2019). Na základě těchto studií lze uvažovat o neudesinu, jakožto o potenciálním novém regulátoru

energetické homeostázy a příjmu potravy s možnou úlohou při rozvoji obezity a jejích komplikací (Kratochvilova et al. 2019).

7.2. Omentin

Omentin je hydrofilní protein s molekulovou hmotností 35 kDA původně identifikovaný ve viscerální tukové tkáni a popsán rovněž ve střevních Pannethových buňkách (Komiya et al. 1998). Jeho produkce převažuje ve viscerální tukové tkáni. V malé míře je produkován i subkutánní a epikardiální tukovou tkání. Jeho exprese byla dále popsána v endoteliálních buňkách, v buňkách tenkého střeva, brzlíku, plicích nebo placentě (Tan et al. 2015). Omentin je kódován dvěma geny: omentin 1 a omentin 2, přičemž omentin 1 je hlavní cirkulující forma (Moreno-Navarrete et al. 2010). Omentin se uvolňuje do oběhu a jeho hladiny jsou sníženy u pacientů trpících obezitou a dalšími metabolickými komplikacemi (Matloch et al. 2018). Inverzní vztah mají hladiny volného omentinu s glukózovou intolerancí, zvýšeným krevním tlakem, dyslipidemií, hladinami leptinu, BMI, HOMA indexem či obvodem pasu (de Souza Batista et al. 2007). Svou roli ve snížení omentinu u pacientů s obezitou hraje i subklinický zánět, resp. zvýšení hladin prozánětlivých cytokinů. Rovněž pacienti s T2DM mají hladiny omentinu snižené (Bergmann and Sypniewska 2013). Omentin má protizánětlivé, antiaterogenní a antidiabetické vlastnosti, způsobuje vazodilataci krevních cév a zeslabuje angiogenezi indukovanou CRP (Tan et al. 2015).

Omentin se jeví jako jeden z metabolicky pozitivně působících adipokinů a může potenciálně představovat vhodný biomarker rozvoje i terapeutický cíl pro léčbu ICHS. V nedávných studiích cirkulující hladiny omentinu predikovaly kardiovaskulární příhody nezávisle na přítomnosti a rozsahu angiograficky charakterizované ICHS a byly užity jako prediktor kardiovaskulárních příhod u pacientů s ICHS (Saely et al. 2016). Epikardiální tuková tkáň sdílí společný embryologický původ s mezenterickou a omentální tukovou tkání. Omentin může hrát důležitou roli v patogenezi ICHS, vzhledem k tomu, že neexistuje žádná vláknitá fasciální vrstva bránící šíření volných mastných kyselin a adipokinů mezi epikardiální tukovou tkání a cévní stěnou či myokardem (Fain et al. 2008).

Je zajímavé, že systémové podávání lidského omentinu u myši snížilo rozsah infarktu po I/R (ischémie/reperfúze) poškození ovlivněním fosforylace AMP-aktivované protein kinázy a Akt (protein kináza B)-dependentních mechanismů (Kataoka et al. 2014), což naznačuje možnou přímou roli omentinu v regulaci metabolismu myokardu. Je však úkolem dalších studií prokázat přesné mechanismy a signální dráhy propojující metabolické změny u pacientů s vyššími a nižšími hladinami omentinu. Metabolismus je založen na rozsáhlých komplexních

drahách a každý z dalších potenciálních nových biomarkerů by mohl znamenat krok blíže k jeho pochopení jako celku (Matloch et al. 2018).

8. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

8.1. Hypotéza

Předpokládáme, že dysfunkce tukové tkáně přispívá k makrovaskulárním komplikacím spojeným s obezitou a diabetem. Pacienti bez uvedených komplikací budou mít odlišný zánětlivý profil tukové tkáně oproti pacientům s přítomností obezity a diabetu. Endokrinní dysfunkce tukové tkáně se bude odrážet ve zvýšených hladinách cirkulujících prozánětlivých a protizánětlivých cytokinů, hormonů, adipokinů i dalších faktorů ovlivňujících energetickou homeostázu a metabolismus. Současně se jednotlivá depa tukové tkáně liší mezi sebou v metabolické aktivitě. Viscerální tuková tkáň, kam řadíme i epikardiální tukovou tkáň, bude více metabolicky aktivní a bude mít více prozánětlivý profil oproti tukové tkáni subkutánní zároveň se změnami genů endoplazmatického retikula.

Epikardiální tuková tkáň se podílí na kardiovaskulárních onemocněních u diabetiků a obézních pacientů s ischemickou chorobou srdeční. U těchto pacientů dochází ke zvýšení zánětlivého profilu epikardiální tukové tkáně a zároveň k rozvoji mitochondriální dysfunkce v této tkáni. Lze proto očekávat, že pacienti bez ischemické choroby srdeční mají lepší celkový metabolický profil a zároveň u nich nedochází k významné mitochondriální dysfunkci a rozvoji subklinického zánětu oproti pacientům s ischemickou chorobou srdeční. Tyto parametry úzce souvisí s progresí diabetes mellitus 2. typu a dalších metabolických poruch.

8.2. Cíle práce

1. Posoudit změny míry relativní mRNA exprese vybraných mitochondriálních genů a genů endoplazmatického retikula v subkutánní a epikardiální tukové tkáni, kosterní a srdeční svalovině u pacientů s i bez ischemické choroby srdeční a s i bez přítomnosti diabetes mellitus 2. typu.

2. Zhodnotit změny vybraných cirkulujících adipokinů a cytokinů i jejich mRNA expresi v tukové a svalové tkáni v souvislosti s přítomností diabetes mellitus 2. typu a ischemické choroby srdeční.

3. Posoudit možný vliv a korelaci nových biomarkerů a adipokinů s přítomností diabetes mellitus ev. dalších metabolických komplikací obezity se specifickým zaměřením na neudesin.

9. METODIKA

Všichni pacienti podepsali před vstupem do studie informovaný souhlas. Studie byly schváleny etickou komisí 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a Institutem klinické a experimentální medicíny a Thomayerovy nemocnice v Praze. Byly prováděny v souladu s doporučeními Helsinské deklarace Světové lékařské asociace.

Dizertační práce je tématicky členěná na dvě části – první zabývající se stanovením mRNA exprese vybraných genů mitochondrií a endoplasmatického retikula v epikardiální tukové tkáni a druhou zabývající se stanovením nového markeru neudesinu potenciálně regulujícího energetickou homeostázu.

9.1. Soubory vyšetřovaných osob, protokoly studií a odběr vzorků

9.1.1. Změny exprese genů mitochondrií a stresu ER v tkáních

Studie týkající se exprese mitochondriálních genů a genů stresu ER se zúčastnilo 38 pacientů podstupujících plánovanou kardiochirurgickou operaci. Vstupní kritéria pro pacienty zahrnovaly věk mezi 40 a 80 lety a ochota a schopnost podpisu informovaného souhlasu. U 13 pacientů byl proveden aortokoronární bypass (CABG), 17 pacientům byla provedena chlopenní náhrada a 8 pacientů podstoupilo kombinaci obou těchto zákroků. Pacienti byli rozděleni do dvou skupin podle přítomnosti ischemické choroby srdeční, hodnocené předchozí koronarografií — 11 subjektů bez ICHS (tři ženy a osm mužů) a 27 subjektů s ICHS (pět žen a 22 mužů). Deset ze zúčastněných pacientů mělo T2DM, 33 mělo arteriální hypertenzi léčenou antihypertenzivy a 32 mělo dyslipidémii léčenou statiny. Žádný z pacientů netrpěl akutním nebo chronickým onemocněním ledvin, maligním onemocněním, onemocněním štítné žlázy nebo akutní infekcí. Plánovaný kardiochirurgický výkon byl proveden po nočním hladovění a byl zahájen mezi 7–8 hodinou ráno u všech subjektů. Deset pacientů dostalo peroperačně infuzi dobutaminu a norepinefrinu v maximální dávce 7 µg/kg/min, respektive 0,2 µg/kg/min, s délkou léčby od 8 do 33 hodin.

Všichni pacienti zahrnuti do studie byli změřeni a zvázeni a jejich index tělesné hmotnosti byl vypočten jeden den před operací. Byly změřeny obvody pasu a boků a vypočten jejich poměr. Vzorky krve pro biochemická a hormonální měření byly odebrány po celonočním hladovění před zahájením anestezie (začátek operace) a na konci operace. Tloušťka EAT byla měřena transtorakální echokardiografií před stěnou pravé komory z pohledu parasternální dlouhé osy (PLAX). Vzorky subkutánní (hrudní oblast, místo sternotomie) (SAT) a epikardiální

(přední interventrikulární sulcus nebo pravý okraj srdce) tukové tkáně, mezižeberního svalu (ICM) a pravé síně myokardu (RA) pro analýzy exprese mRNA byly odebrány na začátku a na konci operace přibližně ze stejného místa u všech pacientů.

9.1.2. Stanovení sérových hladin neudesinu

Vstupní kritéria pro pacienty vstupující do studie měření sérových hladin neudesinu byly věk mezi 18 a 65 lety. Bylo zde zařazeno 15 obézních pacientů s T2DM (n=5/10; žena/muž [f/m]) podstupujících endoskopickou implantaci duodeno-jejunálního rukávu (DJBL), 17 obézních pacientů (11 s T2DM [8/3; f/m], 6 bez T2DM [4/2; f/m]) s plánovaným bariatrickým zákrokem – žaludeční plikace (GP), a dále 15 jedinců s funkční hypoglykemií (n=7/8; f/m) po 72hodinové hladovění a 12 zdravých kontrol (8/4; f/m).

Pacienti podstupující DJBL měli diagnostikovaný T2DM nejméně rok před implantací, stabilní léčbu více jak 3 měsíce a zároveň HbA1c > 5,3 % při stávající léčbě. Antropometrické měření a stanovení sérových biochemických parametrů byly provedeny před zavedením DJBL, 1, 6 a 10 měsíců po implantaci a odběr podkožní tukové tkáně byl proveden před a 6 a 10 měsíců po zavedení DJBL. Pacienti indikovaní ke gastrické plikaci se navíc dělili dle přítomnosti T2DM. Antropometrická stanovení, krevní vzorky a odběr tukové tkáně byl proveden před operací, 6 a 12 měsíců po operaci. Pacienti s podezřením na hypoglykémické epizody podstoupili 72hodinový hladovkový test k vyloučení organické hyperinzulinémie. Všichni s negativním výsledkem. Bylo provedeno antropometrické měření před lačněním a zároveň krevní odběry před začátkem lačnění, 24, 48 a 72 hodin probíhající lačnění a následně 2 hodiny po realimentaci. Kontrolní jedinci byli zdravé, štíhlé osoby bez T2DM neužívající žádnou medikaci.

Vzorky SAT byly získány jehlovou aspirační biopsií z břišní oblasti nebo z oblasti laparoskopického kanálu nebo laparotomií v případě operace po celonočním hladovění. U osob podstupujících bariatrickou operaci byly na začátku výkonu odebrány vzorky viscerální tkáně (VAT) z dutiny břišní. Vzorky tkání byly odebrány pro následné stanovení míry exprese mRNA.

9.2. Antropometrické měření a zpracování odebraných vzorků

U všech sledovaných osob bylo provedeno antropometrické měření a byl vypočítán BMI. Vzorky krve byly odebrány po celonočním lačnění a následně do 30 minut po odebrání centrifugovány po dobu 10 minut při 3000 x g. Vzorky séra a plazmy byly následně skladovány v alikvotech při -80 °C až do další analýzy.

Vzorky tkání (50–100 mg) byly vloženy do 1 ml činidla RNeasy Lysis Buffer (Ambion® Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) a skladovány při teplotě -80 °C až do další analýzy.

9.3. Hormonální, cytokinová a biochemická stanovení

Hladiny neudesinu v séru byly měřeny sendvičovou enzymovou imunoanalýzou za použití komerční soupravy ELISA (Neudesin Human ELISA, BioVendor, Brno, Česká republika). Testy včetně ředění séra byly provedeny podle protokolu výrobce. Citlivost byla 0,01 ng/ml. Koncentrace leptinu v séru byla měřena pomocí komerční sady ELISA (BioVendor, Brno, Česká republika). Citlivost byla 0,2 ng/ml. Koncentrace inzulínu byla měřena soupravou RIA (Cis Bio International, Codolet, Francie). Citlivost byla 2,0 μ IU/ml. Variabilita v rámci měření byla <5,0 % a mezi měřeními \leq 10,0 %.

Hladiny cytokinů v séru byly měřeny multiplexním testem MILLIPLEX MAP Human High Sensitivity T Cell Panel a Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel (HSTCMAG-28SK-05, HCYTOMAG-60K-06, Merck KGaA, Darmstadt, Německo). Senzitivita pro IFN- γ byla 0,8 pg/ml, pro IL-10 0,56 pg/ml, pro IL-23 3,25 pg/ml, pro MIP-1 α 0,94 pg/ml, pro MIP-1 β 0,67 pg/ml, pro IL-6 0,9 pg/ml, pro IL-8 0,4 pg/ml, pro MCP1 1,9 pg/ml a pro TNF- α 0,7 pg/ml. Intra- a inter-testové variability pro všechny testy byly mezi 5,0 a 15,0 %.

Rutiní biochemické parametry (glykémie, HbA1c, celkový a HDL cholesterol a triglyceridy) byly měřeny a LDL cholesterol byl vypočítán standardními laboratorními metodami na Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a na Oddělení klinické biochemie v Institutu klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika.

9.4. Kvantitativní polymerázová řetězová reakce v reálném čase (qRT-PCR)

Vzorky SAT, EAT, ICM a RA byly homogenizovány na přístroji MagNA Lyser s kuličkami MagNA Lyser Green Beads (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo). Celková RNA z homogenizované tkáně byla extrahována na přístroji MagNA Pure za použití Magna Pure Compact RNA Isolation kit (tissue) (obojí Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo). Koncentrace RNA byla stanovena z absorpance při 260 nm na NanoPhotometer (Implen, Munchen, Německo). Reverzní transkripce byla provedena s použitím 0,25 μ g celkové RNA k syntéze prvního vlákna cDNA s použitím náhodných primerů podle instrukcí vysokokapacitního cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Genová exprese genů zánětlivých, mitochondriálních a endoplazmatického retikula byla provedena na přístroji ViiA7 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) s použitím

specifických komerčně dostupných sond TaqMan® Gene Expression Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) – tabulka 4. cDNA byla ředěna vodou bez obsahu nukleáz (Fermentas Life Science, Litva). Pro reakci byla použita směs TaqMan® Universal PCR Master Mix II, NO AmpErase® UNG (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), vody bez obsahu nukleáz (Fermentas Life Science, Litva) a specifické expresní sondy TaqMan® Gene Expression Assays. Nárůst fluorescence byl měřen v reálném čase a byly stanoveny hodnoty CT (threshold cycle). Beta-2 mikroglobulin (B2M) byl použit jako endogenní reference pro kompenzaci nepřesnosti pipetování a různé účinnosti reverzní transkripce. Pro výpočet relativní genové exprese byl použit vzorec 2^{-ddCt} .

Tabulka 4. Seznam sond použitých pro qRT-PCR.

| Gen | Používaná zkratka | Označení sondy |
|---|-------------------|----------------|
| Aktivační transkripční faktor 4 | ATF4 | Hs00909569_g1 |
| Aktivační transkripční faktor 6 | ATF6 | Hs00232586_m1 |
| Beta-2-mikroglobulin | B2M | Hs99999907_m1 |
| Cytochrom c oxidáza podjednotka 4/1 | COX4/1 | Hs00971639_m1 |
| Citrát syntáza | CS | Hs02574374_s1 |
| Cytochrom c1 | CYC1 | Hs00357717_m1 |
| Transkript 3 indukovatelný poškozením DNA | DDIT3 | Hs01090850_m1 |
| Člen 5 proteinů tepelného šoku rodiny A | HSPA5 | Hs99999174_m1 |
| Mitochondriálně kódovaná NADH dehydrogenáza 5 | MT-ND5 | Hs02596878_g1 |
| Podjednotka NADH dehydrogenázy | NDUFA12 | Hs00276572_m1 |
| Neudesin | - | Hs00203435_m1 |
| sukcinátdehydrogenázový komplex flavoproteinová podjednotka A | SDHA | Hs00188166_m1 |

9.5. Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena v programu SigmaPlot 13.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) a grafy byly nakresleny pomocí GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± standardní chyba průměru (SEM) nebo medián (interkvartilové rozpětí) podle normality rozptylu dat. Normalita všech dat byla hodnocena Shapiro–Wilkovým testem. K posouzení rozdílů mezi dvěma skupinami byl dle potřeby použit nepárový t-test nebo Mann–Whitneyho test u nenormálově rozdělených dat,

rozdíly v rámci skupin byly testovány párovým t-testem nebo Wilcoxonův test (nenormálová data). Pro porovnání více skupin byla využita jednosměrná analýza rozptylu (ANOVA) pro závislé i nezávislé výběry nebo pro neparametrická data Kruskal-Wallisova jednosměrná analýza rozptylu či Friedmanova analýza rozptylu pro opakované výběry, vždy s návazností na post-hoc testy (Holm-Sidak test či Dunn test).

Pro korelační analýzu byly použity kombinované skupiny všech studovaných subjektů s kontrolními subjekty stejného věku. Korelace byly analyzovány pomocí Spearmanova nebo Pearsonova korelačního testu podle normality dat. Vícenásobná lineární regresní analýza s použitím metody zpětného postupného výběru proměnných byla provedena v kombinované skupině všech subjektů studie s použitím parametrů se statisticky významnými výsledky ze Spearmanových nebo Pearsonových korelačních testů. Hodnoty byly adjustovány na přítomnost T2DM.

Ve všech statistických testech byly p-hodnoty $<0,05$ považovány za významné.

10. VÝSLEDKY

10.1. Rozdílné míry exprese mitochondriálních genů a genů stresu endoplazmatického retikula v epikardiální tukové tkáni závisí na koronární ateroskleróze

Výsledky studie byly publikovány v roce 2021 v časopise International Journal of Molecular Sciences. Originální text článku je přiložen v příloze této dizertační práce (Kratochvílová et al. 2021).

10.1.1. Bazální charakteristika pacientů zařazených do studie

Před plánovanou kardiochirurgickou intervencí nebyly mezi skupinami (ICHS a bez ICHS) přítomny rozdíly v základních antropometrických parametrech zahrnujících věk, váhu, výšku, BMI, a obvod pasu a boků. Pouze u skupiny s přítomností ischemické choroby srdeční byla zaznamenána větší tloušťka epikardiální tukové tkáně. Dále měla tato skupina větší prevalenci T2DM, arteriální hypertenze a dyslipidémie oproti skupině bez ICHS. V biochemických parametrech se skupina s ICHS odlišovala zvýšenou glykemií na lačno a HbA_{1c}. Skupiny se však nelišily v dalších biochemických parametrech jako jsou koncentrace inzulínu a C-peptidu a lipidový profil (Tabulka 5).

Tabulka 5. Charakteristika vyšetřovaného souboru pacientů před kardiochirurgickým výkonem.

| Skupina | bez ICHS | ICHS | P |
|--------------------------------------|------------------|-------------------------------|--------------|
| Počet vyšetřovaných (f/m) | 11 (3/8) | 27 (5/22) | x |
| Věk (roky) | 59,8±4,8 | 67,6±1,65 | 0,421 |
| Váha (kg) | 80,5±3,98 | 87,7±3,07 | 0,193 |
| Výška (cm) | 172±3,09 | 175±1,55 | 0,348 |
| Body mass index (kg/m ²) | 27,1±0,96 | 28,6±0,91 | 0,339 |
| Obvod pasu (cm) | 99,2±3,53 | 104±2,42 | 0,332 |
| Obvod boků (cm) | 102±3,08 | 107±1,51 | 0,149 |
| Poměr pas/boky | 0,96±0,01 | 0,96±0,02 | 0,872 |
| Tloušťka EAT (mm) | 3,00 (2,00-3,00) | 4,00 (3,00-4,00) ^o | 0,014 |
| Celkový cholesterol (mmol/l) | 4,12±0,29 | 3,76±0,18 | 0,237 |
| Triglyceridy (mmol/l) | 1,33±0,16 | 1,45±0,18 | 1 |
| LDL cholesterol (mmol/l) | 2,36±0,24 | 1,99±0,14 | 0,163 |
| HDL cholesterol (mmol/l) | 1,25±0,12 | 1,15±0,09 | 0,126 |
| Glykémie na lačno (mmol/l) | 5,4±0,17 | 6,76±0,33 ^o | 0,011 |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 35,4±1,18 | 43,6±1,98 ^o | 0,012 |
| Inzulín (μIU/ml) | 18,4 (14,4-20,2) | 24,2 (16,7-37,5) | 0,095 |
| C peptid (ng/ml) | 2,76±0,32 | 3,05±0,22 | 0,497 |
| Diabetes mellitus (n, %) | 0 (0%) | 10 (37,0%) | 0,021 |
| Arteriální hypertenze (n, %) | 7 (63,6%) | 26 (96,3%) | 0,008 |
| Dyslipidémie (n, %) | 6 (54,5%) | 26 (96,3%) | 0,002 |

Data jsou uváděna jako průměr ± SEM nebo jako medián (interkvartilové rozpětí). Statistická významnost je stanovena nepárovým t-testem: ^op <0,05 vs. bez ICHS; ICHS – jedinci s ischemickou chorobou srdeční; bez ICHS – bez ischemické choroby srdeční, f–žena; m–muž; EAT – epikardiální tuková tkáň

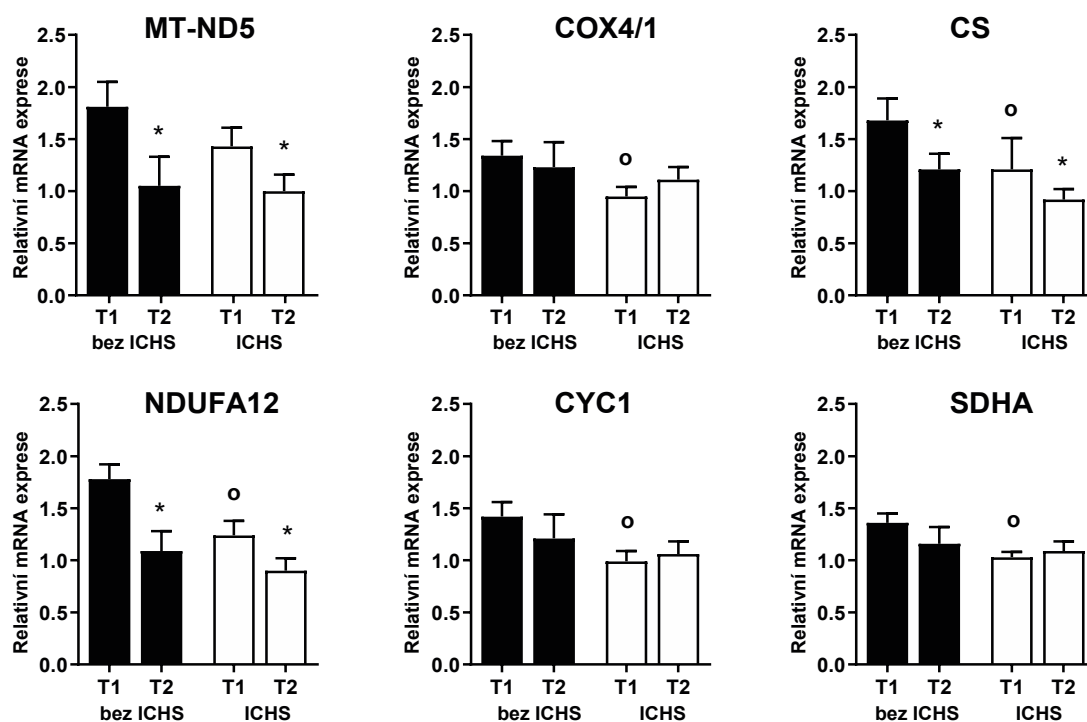
10.1.2. mRNA exprese v SAT a EAT u pacientů s ICHS i bez ICHS podstupujících plánovanou kardiochirurgickou operaci

Porovnání mitochondriální exprese v epikardiální (A) a subkutánní tukové tkáni (B) mezi skupinami ICHS a bez ICHS včetně jejich porovnání na začátku a konci operace jsou shrnuta v obrázku 7. Bazální mRNA exprese téměř všech vyšetřovaných mitochondriálních

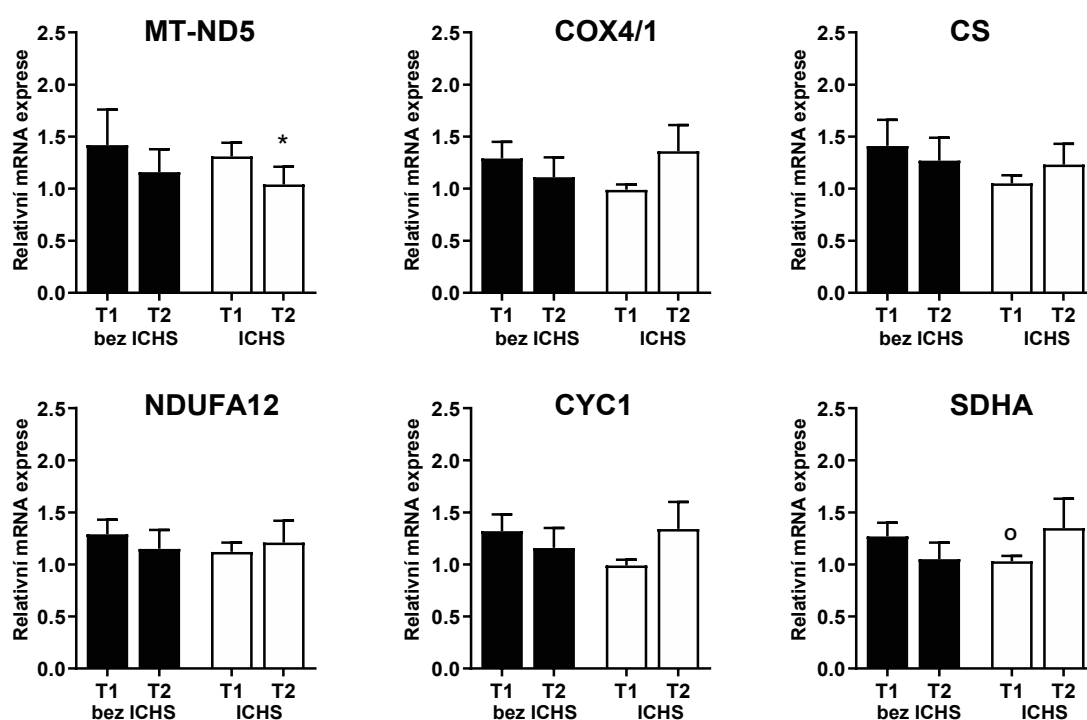
genů (NDUFA12, CS, SDHA, CYC1, COX4/1) byly významně nižší v EAT ve skupině ICHS oproti skupině bez ICHS. Jen u genu MT-ND5 byla pouze tendence nižší exprese u ICHS skupiny bez prokázané statistické významnosti. V SAT byla v předoperačním měření prokázána signifikantně nižší mRNA exprese genu SDHA v ICHS skupině oproti skupině bez ICHS. Při porovnání obou tukových tkání EAT a SAT byla pozorována vyšší mRNA exprese genu NDUFA12 v EAT u skupiny bez ICHS. Operace měla významný vliv na snížení mRNA exprese genů CS, NDUFA12 a MT-ND5 v EAT bez ohledu na skupinu. V SAT se snížila exprese MT-ND5 postoperačně u skupiny s ICHS.

Obrázek 7. mRNA exprese mitochondriálních genů v EAT (A) a SAT (B).

A) Epikardiální tuková tkáň



B) Subkutánní tuková tkáň



Data jsou uváděna jako průměr ± SEM. Statistická významnost je stanovena nepárovým t-testem a párovým t-testem (T1 vs. T2): *p < 0,05 vs. T1; ^op < 0,05 vs. bez ICHS T1. Data byla adjustována na přítomnost T2DM. Relativní mRNA exprese byla stanovena jako změna exprese v daném vzorku normalizována k endogenní kontrole beta-2-mikroglobulin. ICHS – s ischemickou chorobou srdeční; bez ICHS – bez ischemické choroby srdeční; T1-před operací; T2-po operaci.

10.1.3. mRNA exprese mitochondriálních genů v srdeční a mezižeberní svalovině

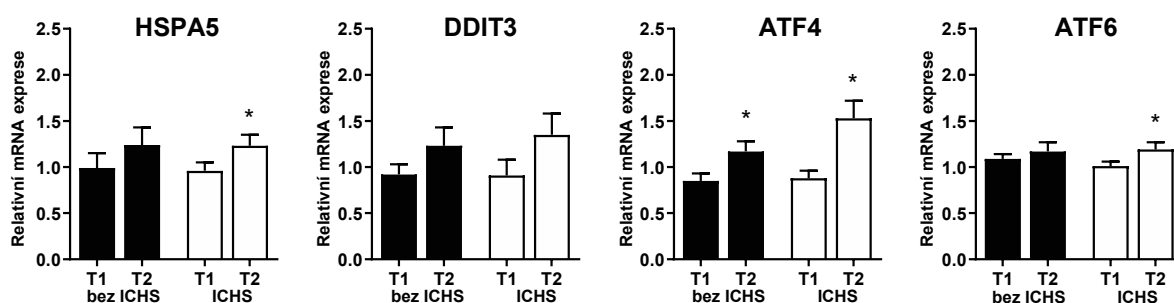
V pravé síni myokardu se u skupiny ICHS prokázala významně nižší exprese genu CS oproti skupině bez ICHS. Žádné další signifikantní rozdíly ve vyšetřovaných mitochondriálních genech nebyly zjištěny v srdeční ani mezižeberní svalovině mezi skupinami před operací ani po operaci.

10.1.4. mRNA exprese genů stresu endoplazmatického retikula

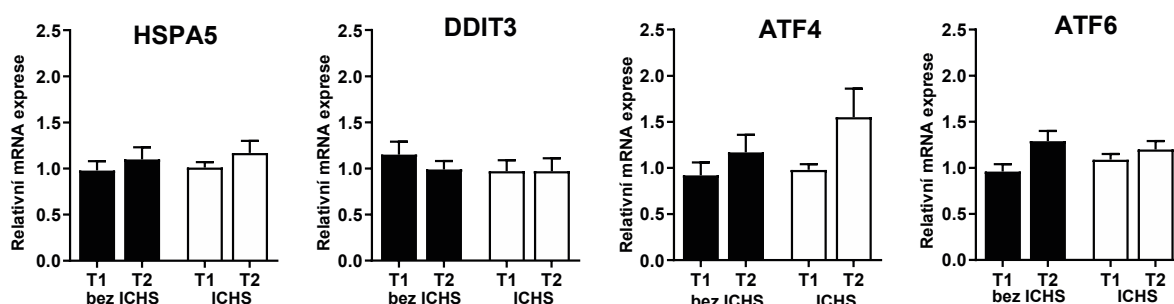
Předoperační mRNA exprese genů stresu endoplazmatického retikula neprokázala žádné rozdíly mezi skupinami v žádné z tkání s výjimkou zvýšené exprese genu DDIT3 v SAT oproti EAT u skupiny bez ICHS ($p=0,023$). Operace měla vliv pouze na EAT, ve které došlo k nárůstu mRNA exprese HSPA5 a ATF6 u skupiny s ICHS a genu ATF4 v obou skupinách (Obrázek 8).

Obrázek 8. mRNA exprese genů stresu ER v EAT (A) a SAT (B).

A) Epikardiální tuková tkáň



B) Subkutánní tuková tkáň



Data jsou uváděna jako průměr \pm SEM. Statistická významnost je stanovena nepárovým t-testem a párovým t-testem (T1 vs. T2): * $p < 0,05$ vs. T1; ° $p < 0,05$ vs. SAT bez ICHS T1. Relativní mRNA exprese byla stanovena jako změna exprese v daném vzorku normalizována k endogenní kontrole beta-2-mikroglobulin. ICHS – s ischemickou chorobou srdeční; bez ICHS – bez ischemické choroby srdeční; T1-před operací; T2-po operaci.

10.2. Role neudesinu u obezity a diabetu mellitu 2. typu: efekt akutního hladovění a redukčních váhových intervencí

Tato práce byla publikována v roce 2019 v časopise *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. Otištěné vydání tohoto článku je přiloženo v plné verzi v příloze dizertační práce (Kratochvilova et al. 2019).

10.2.1. Bazální charakteristiky pacientů zařazených do studie

Základní antropometrická a biochemická data pacientů zařazených do studie jsou shrnuta v tabulce 6. Pacienti s T2DM doporučení k zavedení duodeno-jejunálního rukávu měli před intervencí vyšší BMI, CRP, glykémii na lačno, HbA_{1c}, triglyceridy, hladiny inzulínu a leptinu v porovnání se zdravou kontrolní skupinou. Zároveň oproti zdravým jedincům měli nižší hladiny HDL cholesterolu.

Pacienti bez T2DM podstupující gastrickou plikaci měli vyšší BMI, CRP, hladinu leptinu a snížené hladiny HDL cholesterolu oproti zdravým subjektům. U pacientů s T2DM indikovaným na gastrickou plikaci byly navíc nalezeny zvýšené hladiny glykémie a HbA_{1c} oproti kontrolní skupině.

Pacienti podstupující test na funkční hypoglykémii byli před počátkem 72hodinového hladovění parametrově srovnatelní s kontrolní skupinou.

Před operací měli všichni obézní pacienti s i bez T2DM indikovaní na GP a DJBL, stejně tak i pacienti s funkční hypoglykemií, srovnatelné hladiny sérového neudesinu s kontrolními zdravými pacienty.

Tabulka 6. Charakteristika vyšetřovaného souboru pacientů před intervencemi.

| Skupina | DJBL | GP | | Akutní hladovění | Kontrolní skupina |
|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------|
| | | T2DM + | T2DM - | | |
| Počet vyšetřovaných (n) (f/m) | 15 (5/10) | 11(8/3) | 6(4/2) | 15 (7/8) | 12 (8/4) |
| Věk (roky) | 50,5±10,3 | 51,5±8,22 | 49,2±11,8 | 45,7±12,7 | 43,2±9,51 |
| Body mass index (kg/m ²) | 42,8±6,50 ^C | 43,2±4,87 ^C | 40,3±5,43 ^C | 26,5±7,20 ^{1,2,3} | 24,2±1,86 |
| Glykémie na lačno (mmol/l) | 11,4±3,34 ^C | 9,27±3,11 ^C | 5,23±0,83 ¹ | 5,16±1,07 ¹ | 4,58±0,58 |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 73,4±17,1 ^C | 60,1±16,2 ^C | 37,3±5,09 | NP | 33,2±4,09 |
| Cholesterol (mmol/l) | 4,58±0,87 | 4,70±1,13 | 5,65±3,12 | 5,12±0,74 | 5,12±1,22 |
| Triglyceridy (mmol/l) | 1,32(1,22-2,37) _C | 1,36(0,94-2,22) | 1,51(0,69-7,13) | 0,94(0,73-1,33) | 0,79(0,64-1,15) |
| HDL cholesterol (mmol/l) | 1,12±0,21 ^C | 1,21±0,25 ^C | 1,17±0,16 ^C | NP | 1,76±0,36 |
| LDL cholesterol (mmol/l) | 2,91±1,02 | 2,72±0,89 | 2,66±0,48 | NP | 2,94±1,13 |
| Inzulín (mIU/l) | 66,8(38,1-204) ^C | 53(30,2-63,7) ^C | 31,5(19,2-90,0) | 24,2(19,7-43) ¹ | 18,8(9,08-22,4) |
| Leptin (ng/ml) | 23,7±12,5 ^C | 38,7±16,6 ^C | 24,6±16,9 ^C | 10,5±8,60 ^{1,2} | 10,3±6,28 |
| C-reaktivní protein (mg/l) | 2,72(1,79-3,78) _C | 1,27(0,48-3,03) _C | 1,84(1,41-3,78) ^C | 0,22(0,12-0,50) | 0,25(0,17-0,62) |
| Neudesin mRNA expr. v SAT | 1,12±0,53 | 0,99±0,21 | 1,11±0,19 | NP | NP |
| Sérový neudesin (ng/ml) | 1,77±0,86 | 2,27±0,75 | 2,62±0,98 | 1,74±0,54 | 1,87±0,70 |

Data jsou uváděna jako průměr ± SEM nebo jako medián (mezikvartilové rozpětí). Statistická významnost je stanovena jednosměrnou analýzou rozptylu nebo neparametrickou verzí testu dle normality dat:

^Cp<0,05 vs. Kontrolní skupina; ¹p<0,05 vs. DJBL; ²p<0,05 vs. GP T2DM+; ³p<0,05 vs. GP T2DM-DJBL – duodeno-jejunální rukáv; GP – gastrická plikace; T2DM – diabetes mellitus 2.typ; NP – nezměřený parametr; f-female (žena); m-male (muž).

10.2.2. Vliv zavedení duodeno-jejunálního rukávu

U pacientů, kteří podstoupili DJBL došlo ke snížení BMI, obvodu pasu, poklesu glykémie na lačno i HbA_{1c}, celkového i LDL cholesterolu již 1 měsíc po operaci a tento proces snižování uvedených markerů ještě navýšili nebo si udrželi minimálně do 10. měsíce po implantaci (Tabulka 7).

Implantace DJBL se projevila zvýšením hladin sérového neudesinu již po 6 měsících a zvýšené hladiny byly patrné i 10 měsíců po zavedení rukávu (Obrázek 9A). mRNA exprese neudesinu nebyla tímto zákrokem ovlivněna (Tabulka 7/Obrázek 9B).

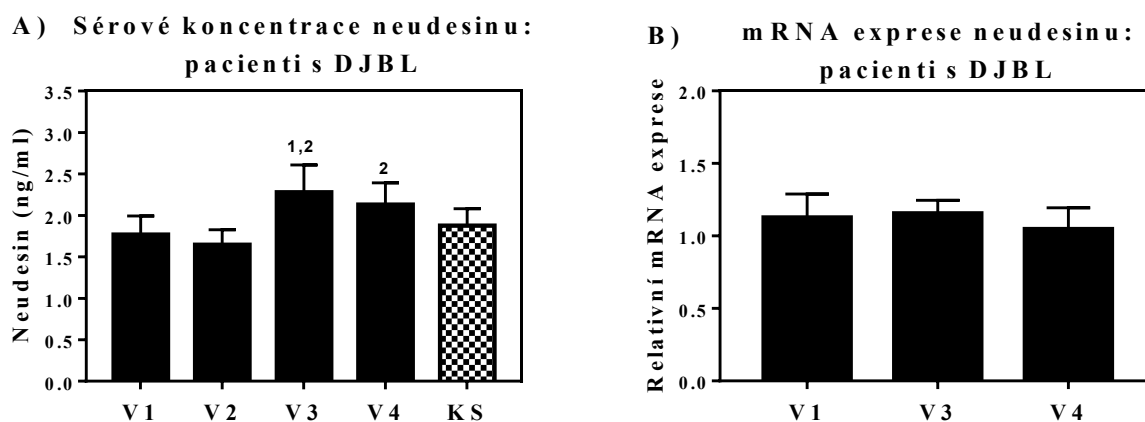
Tabulka 7. Efekt DJBL u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu.

| Skupina | Kontrolní skupina | V1 | V2 | V3 | V4 |
|--------------------------------------|-------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Počet vyšetřovaných (n) | 12 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| Věk (roky) | 43,2±9,51 | 50,5±10,3 | NP | NP | NP |
| Body mass index (kg/m ²) | 24,2±1,86 | 42,7±6,53 ^C | 40,5±6,92 ^{1,C} | 37,5±5,55 ^{1,2,C} | 36,5±4,91 ^{1,2,C} |
| Obvod pasu (cm) | 83,3±8,94 | 131±14,5 | 127±12,8 ¹ | 120±11,8 ^{1,2} | 118±11,7 ^{1,2} |
| Obvod boků (cm) | 98,6±9,09 | 131±17,4 | 127±16,7 | 122±12,7 ¹ | 120±11,5 ^{1,2} |
| Glykémie na lačno (mmol/l) | 4,58±0,58 | 11,4±3,34 ^C | 8,98±3,10 ^{1,C} | 8,47±2,19 ^{1,C} | 7,09±1,86 ^{1,C} |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 33,2±4,09 | 73,4±17,1 ^C | 63,8±15,9 ^{1,C} | 52,4±11,2 ^{1,C} | 50,0±12,6 ^{1,2,C} |
| Cholesterol (mmol/l) | 5,12±1,22 | 4,58±0,87 | 3,97±0,60 ^{1,C} | 4,29±0,73 | 3,86±0,73 ^{1,C} |
| Triglyceridy (mmol/l) | 0,79(0,64-1,15) | 1,32(1,22-2,37) ^C | 1,34(1,13-1,86) ^C | 1,39(1,10-2,00) ^C | 1,07(0,84-1,92) ¹ |
| HDL cholesterol (mmol/l) | 1,76±0,36 | 1,12±0,21 ^C | 1,01±0,15 ^{1,C} | 1,09±0,18 ^C | 1,07±0,28 ^C |
| LDL cholesterol (mmol/l) | 2,94±1,13 | 2,91±1,02 | 2,31±0,63 ¹ | 2,48±0,65 | 2,15±0,64 ¹ |
| Inzulín (mIU/l) | 18,8(9,08-22,4) | 66,8(38,1-204) ^C | 46,1(30,8-207) ^C | 51,4(38,0-234) ^C | 59,7(24,3-213) ^C |
| Leptin (ng/ml) | 10,3±6,28 | 23,7±12,5 ^C | 18,6±8,91 | 18,9±13,4 | 17,1±11,4 |
| C-reaktivní protein (mg/l) | 0,25(0,17-0,62) | 2,72(1,79-3,78) ^C | 2,48(1,59-3,6) ^C | 1,67(1,44-3,95) ^C | 1,76(1,18-2,23) ^C |
| Neudesin mRNA expr. v SAT | NP | 1,12±0,53 | NP | 1,08±0,39 | 1,13±0,43 |

Data jsou uváděna jako průměr ± SEM nebo jako medián (mezikvartilové rozpětí). Statistická významnost je stanovena jednosměrnou analýzou rozptylu nebo neparametrickou verzí testu dle normality dat: ^Cp <0,05 vs. Kontrolní skupina; ¹p <0,05 vs. V1; ²p <0,05 vs. V2

V1 – před DJBL, V2 – 1 měsíc po DJBL, V3 – 6 měsíců po DJBL, V4 – 10 měsíců po DJBL; NP – neměřený parametr. DJBL – duodeno-jejunální rukáv; T2DM – diabetes mellitus 2. typu; NP – nezměřený parametr.

Obrázek 9. A) sérové koncentrace neudesinu u pacientů s DJBL; B) mRNA exprese neudesinu (NENF) u pacientů s DJBL



Data jsou uváděna jako průměr \pm SEM. Statistická významnost je stanovena jednosměrnou analýzou rozptylu nebo neparametrickou verzí testu dle normality dat: ¹p < 0,05 vs. V1; ²p < 0,05 vs. V2; V1 – před DJBL, V2 – 1 měsíc po DJBL, V3 – 6 měsíců po DJBL, V4 – 10 měsíců po DJBL; KS – kontrolní skupina; DJBL – duodeno-jejunální rukáv.

10.2.3. Vliv gastrické plikace

Po provedení gastrické plikace došlo u obézních pacientů s i bez diabetu k poklesu BMI a snížení hladin leptinu 6 měsíců po zákroku s přetrvávajícím efektem minimálně do 12. měsíce po zákroku. 12. měsíců po výkonu došlo i k navýšení hladin HDL cholesterolu. U pacientů s T2DM došlo dále ke snížení HbA_{1c} a u pacientů bez T2DM k poklesu C-reaktivního proteinu, přičemž stejný trend prokazovali i pacienti s T2DM (Tabulka 5).

Gastrická plikace neměla efekt na sérové hladiny neudesinu (Obrázek 10). mRNA exprese neudesinu nebyla ovlivněna váhovou redukcí a nevykazovala ani žádné korelace s jeho sérovými hladinami. Rozdíly v mRNA expresi neudesinu mezi subkutánní a viscerální tukovou tkání před operací nebyly prokázány (Obrázek 11b). Pouze došlo k dočasnému navýšení mRNA exprese neudesinu 6 měsíců po provedení gastrické plikace u obézních pacientů bez T2DM v porovnání s pacienty s T2DM (Obrázek 11a).

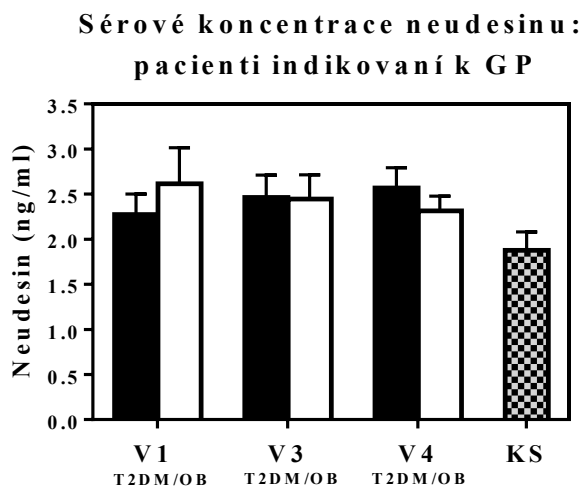
Tabulka 5. Efekt gastrické plikace u pacientů s obezitou bez a s T2DM.

| Skupiny | Kontrolní skupina | OB | | | T2DM | | |
|--------------------------------------|-------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | V1 | V2 | V3 | V1 | V2 | V3 |
| Počet subjektů (n) | 12 | 6 | 6 | 6 | 11 | 11 | 11 |
| Věk (roky) | 43,2±9,51 | 49,2±11,8 | NP | NP | 51,5±8,22 | NP | NP |
| Body mass index (kg/m ²) | 24,2±1,86 | 40,3±5,43 ^C | 33,7±6,34 ^{1, C} | 34,2±6,24 ^{1, C} | 43,2±4,87 | 35,4±5,52 ¹ | 35,1±5,57 ¹ |
| Glykémie na lačno (mmol/l) | 4,58±0,58 | 5,23±0,83 | 4,63±0,58 | 4,66±0,87 | 9,27±3,11 ^{C, *} | 7,31±2,17 ^{C, *} | 7,44±3,67 ^{C, *} |
| HbA1c (mmol/mol) | 33,2±4,09 | 37,3±5,09 | 35,0±6,26 | 32,8±3,97 | 60,1±16,2 ^C | 49,7±14,6 ^{1, C, *} | 51,1±16,1 ^{1, C, *} |
| Cholesterol (mmol/l) | 5,12±1,22 | 5,65±3,12 | 4,61±0,91 | 4,57±0,72 | 4,70±1,13 | 4,51±0,81 | 4,90±0,96 |
| Triglyceridy (mmol/l) | 0,79(0,64-1,15) | 1,51(0,69-7,13) | 1,08(0,61-1,88) | 1,01(0,60-1,75) ¹ | 1,36(0,94-2,22) | 1,34(0,78-1,55) | 1,11(0,80-2,01) |
| HDL cholesterol (mmol/l) | 1,76±0,36 | 1,17±0,16 ^C | 1,28±0,11 ^C | 1,47±0,21 ^{1, 2} | 1,21±0,25 ^C | 1,31±0,24 ^C | 1,48±0,41 ^{1, C} |
| LDL cholesterol (mmol/l) | 2,94±1,13 | 2,66±0,48 | 2,76±0,86 | 2,58±0,70 | 2,72±0,89 | 2,58±0,58 | 2,71±0,76 |
| Inzulín (mIU/l) | 18,8(9,08-22,4) | 31,5(19,2-90,0) | 27,2(11,9-45,3) | 24,4(16,4-66,5) | 53(30,2-63,7) ^C | 30,7(24,2-35,3) | 32,6(25,7-48,4) |
| Leptin (ng/ml) | 10,3±6,28 | 24,6±16,9 | 16,2±18,7 ¹ | 15,4±14,4 ¹ | 38,7±16,6 ^C | 19,8±12,1 ¹ | 20,8±10,6 ¹ |
| C-reaktivní protein (mg/l) | 0,25(0,17-0,62) | 1,84(1,41-3,78) ^C | 0,92(0,46-1,72) ¹ | 0,53(0,23-1,98) ¹ | 1,27(0,48-3,03) ^C | 0,93(0,23-1,62) | 0,81(0,36-3,89) |
| Neudesin mRNA expr. v SAT | NP | 1,11±0,19 | 1,64±0,44 | 1,14±0,37 | 0,99±0,21 | 1,08±0,32 [*] | 1,29±0,52 |

Data jsou uváděna jako průměr ± SEM nebo jako medián (mezikvartilové rozpětí). Statistická významnost je stanovena jednosměrnou analýzou rozptylu nebo neparametrickou verzí testu dle normality dat: ^Cp <0,05 vs. Kontrolní skupina; ¹p <0,05 vs. V1; ²p <0,05 vs. V2; nepárový t-test/Mann-Whitney rank sum test: *p <0,05 vs. Obézní jedinci bez T2DM.

V1 – před gastrickou plikací, V2 – 6 měsíců po gastrickou plikací, V3 – 12 měsíců po gastrické plikaci; NP – neměřený parametr. OB – obézní jedinci bez T2DM; T2DM – jedinci s diabetes mellitus 2.typu.

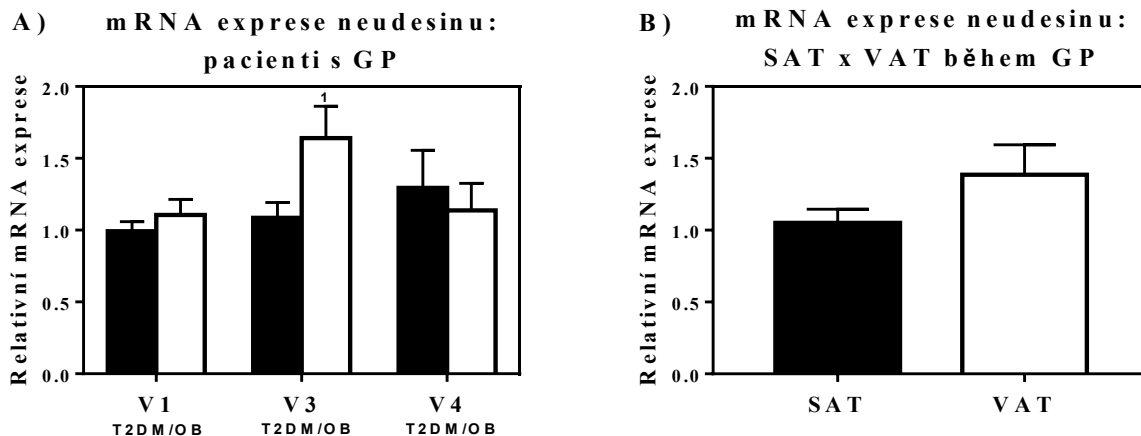
Obrázek 10. Sérové koncentrace neudesinu u pacientů indikovaných k GP.



Data jsou uváděna jako průměr \pm SEM. Statistika je vyhodnocena jednosměrnou analýzou rozptylu nebo neparametrickou verzí testu dle normality dat; dále nepárovým t-test či Mann-Whitney testem.

V1 – před gastrickou plikací, V3 – 6 měsíců po gastrickou plikací, V4 – 12 měsíců po gastrické plikací; KS – kontrolní skupina; OB – obézní jedinci bez T2DM; T2DM – jedinci s diabetes mellitus 2.typu; GP – gastrická plikace.

Obrázek 11. A) mRNA exprese neudesinu v SAT u pacientů po GP; B) mRNA exprese neudesinu v SAT vs. VAT u pacientů během GP



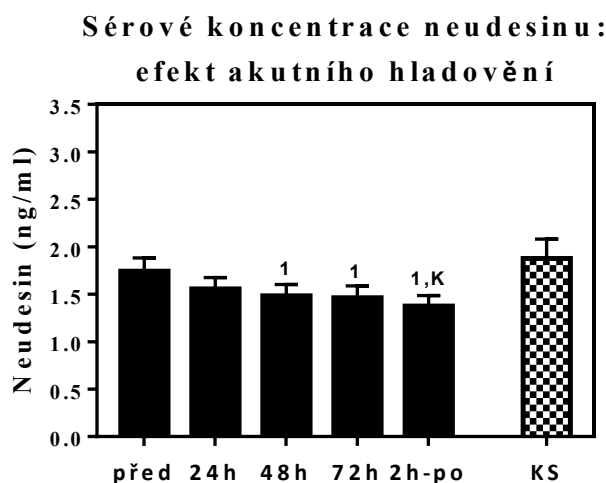
Data jsou uváděna jako průměr \pm SEM. Statistika je vyhodnocena jednosměrnou analýzou rozptylu nebo neparametrickou verzí testu dle normality dat, dále pak párový t test v porovnání tkání SAT a VAT; statistická významnost hodnocena nepárovým t-testem či Mann-Whitney testem OB x T2DM;

¹p <0,05 vs. V3-T2DM; V1 – před gastrickou plikací, V3 – 6 měsíců po gastrické plikací, V4 – 12 měsíců po gastrické plikací; OB – obézní jedinci bez T2DM; T2DM – jedinci s diabetes mellitus 2.typu; SAT – subkutánní tuková tkáň; VAT – viscerální tuková tkáň

10.2.4. Vliv akutního hladovění u pacientů s funkční hypoglykemií

Tito pacienti měli snížené hladiny sérového neudesinu po 48 i 72 hodinách lačnění a následně i 2 hodiny po realimentaci v porovnání se zdravými kontrolními subjekty (Obrázek 12).

Obrázek 12. Sérové koncentrace neudesinu: efekt akutního hladovění.



Data jsou uváděna jako průměr \pm SEM. Statistická významnost je stanovena jednosměrnou analýzou rozptylu nebo neparametrickou verzí testu dle normality dat: ¹p <0,05 vs. před; ^kp <0,05 vs. KS. KS-kontrolní skupina.

10.2.5. Vztah mezi neudesinem a dalšími sledovanými parametry

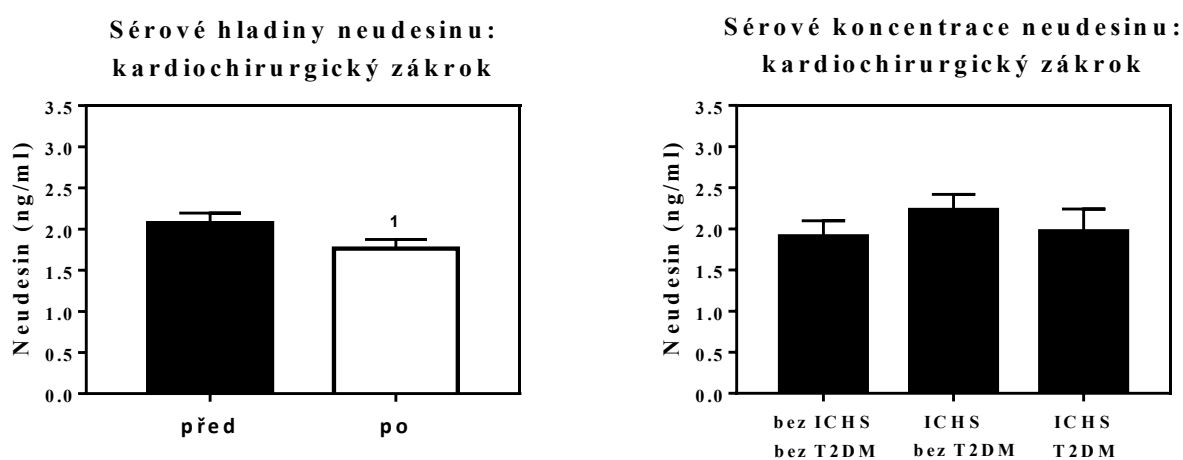
Sérové hladiny neudesinu pozitivně korelovaly s hladinami inzulínu ($R=0,434$; $p=0,001$) a negativně s BMI ($R=-0,314$; $p=0,016$) u pacientů podstupujících DJBL a s BMI ($R=-0,770$; $p=0,009$) a hladinami inzulínu ($R=-0,579$; $p=0,002$) u jedinců podstupujících akutní hladovění. Dále jsme prokázali i pozitivní korelaci mezi mRNA expresí neudesinu v subkutánní tukové tkáni a hladinou HbA_{1c} ($R=0,398$; $p=0,014$) u subjektů indikovaných na DJBL.

Hladiny neudesinu negativně korelovaly s koncentrací CRP ($R=-0,396$; $p=0,006$) u obézních pacientů s i bez T2DM ve skupině pacientů podstupujících GP, přičemž pouze u pacientů s T2DM byla přítomna negativní korelace s hladinami HbA_{1c} ($R=-0,501$; $p=0,034$). mRNA exprese neudesinu v SAT negativně korelovala s BMI ($R=-0,352$; $p=0,041$) a glykemií na lačno ($R=-0,424$; $p=0,013$) u skupiny pacientů s provedenou GP.

10.2.6. Sérové hladiny neudesinu u pacientů s nebo bez ICHS podstupujících elektivní kardiologickou operaci

Pro doplnění výsledků k dizertaci jsme změřili také sérové koncentrace neudesinu u pacientů s nebo bez ICHS podstupujících elektivní kardiologickou operaci. Hladiny sérového neudesinu byly významně vyšší před operací v porovnání s pooperačním stavem, ale mezi skupinami jsme rozdíl nezaznamenali. Nutno podotknout, že jsme pacienty tentokrát rozdělili na 3 skupiny: bez ICHS, s ICHS bez T2DM a s ICHS s T2DM (Obrázek 13).

Obrázek 13. Sérové hladiny neudesinu u pacientů indikovaných ke kardiologickému zákroku.



Data jsou uváděna jako průměr ± SEM. Statistická významnost je stanovena párovým t-testem: ¹p < 0,05 vs. před; Data mezi skupinami porovnány pomocí testu jednosměrná ANOVA. ICHS – ischemická choroba srdeční; T2DM – jedinci s diabetes mellitus 2. typu.

11. Diskuze

Obezita a s ní přidružené zdravotní komplikace jsou neustále se zvyšující hrozbou pro lidstvo. Jedná se o celosvětový problém, kdy obézních pacientů neustále přibývá a spolu s obezitou vzrůstá i nárůst v počtu nemocných s jejími metabolickými a dalšími komplikacemi jako je arteriální hypertenze, dyslipidémie, diabetes mellitus 2. typu. Přítomnost těchto komorbidit vede k rozvoji zejména chronických kardiovaskulárních onemocnění. Všechny tyto zdravotní komplikace ovlivňují jak kvalitu života těchto pacientů, tak i zvyšují jejich morbiditu a mortalitu (Dai et al. 2020). Zejména obezita a její metabolické komplikace jsou podmíněny změnami v kvalitě a množství tukové tkáně v organismu. Je také jasně prokázáno, že tato souvislost je i mezi tukovou tkání a kardiovaskulárními poruchami (Patel et al. 2017). V naší práci jsme se zaměřili zejména na patofyziologii tukové tkáně u pacientů s obezitou a změny jejich charakteristik v kontextu obezity a přítomnosti metabolických a kardiovaskulárních komplikací. Důležitým aspektem této práce je zaměření na epikardiální tukovou tkáň, která může mít velký význam při rozvoji onemocnění srdce včetně aterosklerózy koronárních tepen.

Tuková tkáň obklopující srdeční sval může zásadním způsobem ovlivnit správnou funkci tohoto orgánu. Jedná se o epikardiální a perikardiální tukovou tkáň, které obklopují srdce až z 80 %. První část této práce je zaměřena na měření změn v mRNA expresi mitochondriálních genů. Mitochondrie patří mezi nepostradatelné součásti buněčného energetického metabolismu a mají v organismu i řadu dalších důležitých funkcí. V obecné rovině je mitochondriální dysfunkce především ve svalové tkáni spojována s nedostatečnou metabolizací tkáňových lipidů a s ektopickým ukládáním mimo tukovou tkáň vedoucí k inzulinové rezistenci (Petersen et al. 2003, Sangwung et al. 2020).

V naší práci jsme potvrdili, že dysregulace funkce mitochondrií projevující se změnou exprese mitochondriálních genů se může spolupodílet i na patofyziologii ischemické choroby srdeční. Exprese mRNA pro vybrané mitochondriální geny je v epikardiální tukové tkáni podstatně nižší u pacientů s ICHS oproti pacientům bez ICHS. Zároveň v subkutánní tukové tkáni, v mezižeberním ani srdečním svalu nejsou tyto změny v expresi mitochondriální mRNA patrné. Z toho usuzujeme, že dochází k lokálním změnám, při nichž se snižuje kapacita mitochondriálního řetězce a řada dalších důležitých mitochondriálních funkcí. Jak již bylo prokázáno v řadě studií, buňky epikardiální tukové tkáně úzce komunikují a vzájemně se ovlivňují s buňkami koronárních arterií skrze endo- a parakrinní sekreci řady faktorů, jako jsou cyto-, adipo- a chemokiny, případně i dalšími mechanismy, které nejsou prozatím zcela objasněny (Kunimura et al. 2016, Matloch et al. 2018).

Pro naši studii jsme zvolili 5 významných mitochondriálních genů (NDUFA12, MT-ND5, CYC1, COX 4/1 a SDHA), které jsou součástí dýchacího řetězce mitochondrií a gen citrát syntázy, který se vyskytuje na vnější membráně mitochondrií a společně se podílí na základních funkcích mitochondrií (Hood et al. 1989, Cheng et al. 2009, Urbanová et al. 2017). Nižší mitochondriální mRNA expresi u pacientů s ICHS jsme prokázali u všech genů, vyjma MT-ND5. Výsledky naší práce tak doplňují a dále rozšiřují data od Nakajima a spol. (Nakajima et al. 2019), v níž autoři prokázali nižší kapacitu mitochondriálního řetězce v epikardiální tukové tkáni u pacientů s ICHS. Naše práce i práce Nakajimy a spol. tak společně naznačují sníženou mitochondriální aktivitu i funkci v epikardiální tukové tkáni u pacientů s ICHS, zatímco v podkožní tukové tkáni nebyly v naší práci tyto změny prokázány (Nakajima et al. 2019). Naše výsledky tak naznačují, že specifické změny v epikardiální tukové tkáni mohou být odlišné od jiných tukových dep a podílet se například na rozvoji ICHS.

Je zřejmé, že u pacientů s ischemickou chorobou srdeční se na jejím rozvoji podílí také chronická zánětlivá reakce. Tuková tkáň zejména ta metabolicky aktivnější, v tomto případě epikardiální, produkuje řadu pro- i proti- zánětlivých faktorů. Pro normální funkci EAT je mimo jiné klíčová i fyziologická funkce mitochondriální genové exprese a aktivity (Aldiss et al. 2017). Naše výsledky prokazují, že existuje vzájemný vztah mezi EAT dysfunkcí a koronární aterosklerózou (Patel et al. 2017). Zajímavé však je, že jsme u pacientů s ICHS nenalezli žádné významné rozdíly v mitochondriální genové expresi v subkutánní tukové tkáni oproti rozdílům nalezeným v epikardiální tukové tkáni, což je v souladu s již publikovanými rozdíly v zánětlivých markerech mezi těmito tkáněmi (více prozánětlivý profil viscerálního tuku). Naše výsledky tak naznačují možný blízký vztah mezi změnami v EAT a jeho vlivem na rozvoj ICHS (Vyas et al. 2021). Některé studie poukazují na podobnost zánětlivého profilu v subkutánní a perikardiální tukové tkáni, což doplňuje informaci, že epikardiální tuková tkáň je oproti perikardiální tukové tkáni metabolicky aktivnější a má jednoznačně blíže odrážející zánětlivý profil v kontextu s myokardem (Åkra et al. 2022).

V naší práci jsme kromě změn v expresi mitochondriálních genů v tukové tkáni zaznamenali snížení mRNA exprese citrát syntázy v myokardu pravé síně v ICHS skupině. Citrát syntáza je enzym katalyzující první krok Krebsova cyklu v matrix mitochondrií. Tento pokles lze tak pokládat za náznak celkového snížení mitochondriální funkce. Tyto výsledky by mohly pomoci k lepšímu porozumění vztahu mezi ICHS a dalšími onemocněními srdce jako jsou fibrilace síní či srdeční selhání (Ozcan et al. 2019). Právě obě tato onemocnění jsou velmi těsně svázána s obezitou, která významně zvyšuje riziko jejich vzniku.

Primárně jsme se zaměřili na porovnání pacientů s ICHS a bez ICHS bez ohledu na přítomnost diabetu. Tento primární cíl byl stanoven zejména z důvodu nedostatečného množství pacientů s T2DM, kteří tvořili jen 37 % ze skupiny ICHS a žádný z pacientů bez ICHS neměl diagnostikovan T2DM. Data jsme však u těchto pacientů adjustovali na přítomnost diabetu a dle našich výsledků přítomnost T2DM v naší práci nemělo žádný vliv na mRNA expresi stanovovaných mitochondriálních genů nad rámec přítomnosti, respektive nepřítomnosti ICHS. Studie, které by specificky studovaly vliv diabetu na mitochondriální funkci v EAT nejsou dosud k dispozici. Naše výsledky jsou v rozporu s dříve publikovanou prací vědců ze Švédska (Dahlman et al. 2006), kteří prokázali nižší expresi genů elektron transportního řetězce u obézních pacientů s T2DM oproti štíhlým jedincům. Jelikož se soubory pacientů výrazně liší v parametru BMI a rozsahu různých přidružených komorbidit, v naší studii jsme se zaměřili primárně na ICHS. Je těžké vyvozovat závěry ve vztahu mitochondriální exprese v epikardiální tukové tkáni a přímého vlivu T2DM, i přestože byla již publikována data prokazující silnou korelaci mezi mitochondriální dysfunkcí a metabolickými onemocněními, zahrnující obezitu a T2DM (Lee et al. 2019). Výše popsané rozdíly však mohou být významně modulovány přítomností dalších komorbidit, například obezity.

Oproti změnám v mitochondriální expresi jsme nezaznamenali rozdíly v expresi genů stresu endoplazmatického retikula v žádné z vyšetřovaných tkání ani u jedné skupiny pacientů. Souvislosti mezi kardiovaskulárními poruchami a změnami ve fyziologii endoplazmatického retikula jsou popsány, některé práce prokazují i akumulaci špatně sbalených či nesbalených proteinů v kardiomyocytech vedoucí ke stresu endoplazmatického retikula (Cominacini et al. 2015, Zhu and Zhou 2021). I přesto jsou některé výsledky ve vztahu stresu endoplazmatického retikula a ICHS nejasné a protichůdné, zejména z důvodu omezeného počtu klinických studií v porovnání s experimentálními pracemi (Liu et al. 2016). V naší studii jsme oproti některým experimentálním pracím nezaznamenali žádné zvýšení exprese genů stresu endoplazmatického retikula v žádné z vyšetřovaných tkání. Částečně by se to dalo vysvětlit faktem, že v experimentu byl stres endoplazmatického retikula primárně asociován s degenerujícími kardiomyocyty (Azfer et al. 2006). Stres endoplazmatického retikula má nezpochybnitelnou funkci u všech kardiovaskulárních poruch zahrnujících i ICHS (Mozzini et al. 2017). Z našich výsledků však vyplývá, že exprese genů stresu endoplazmatického retikula v EAT nemají v tomto případě tak zásadní vztah k ICHS jako mitochondriální dysfunkce. Tyto výsledky mRNA expresí je však třeba doplnit o další studie potvrzující tyto změny i na úrovni proteinů.

Jedním z nedávno objevených faktorů s možnou úlohou v regulaci metabolismu a energetické homeostázy je neudesin, který byl původně identifikován v centrálním nervovém systému, kde měl vliv v řadě regulačních drah zahrnujících příjem potravy, energetickou homeostázu, chování či aktivitu sympatiku (Kimura et al. 2005). Neudesin je však produkován a exprimován i v periferních tkáních jako je tuková tkáň, srdce, plíce a ledviny (Kimura et al. 2005). Jeho exprese byla také potvrzena i u řady nádorů (Ohta et al. 2015). Jeho četné funkce jsou stále intenzivně zkoumány ať již v oblasti energetického metabolismu, onkologie (Ohta et al. 2015) či syndromu polycystických ovaríí (Bozkaya et al. 2020).

Experimentální studie na neudesin knockout myších prokázala rezistenci těchto myší na dietou-indukovanou obezitu a s ní spojené metabolické komplikace. Je to vysvětlováno zvýšenou aktivitou sympatiku s dopadem na následný nárůst energetického výdeje, lipolýzou bílé tukové tkáně, produkcí tepla a oxidací volných mastných kyselin v hnědé tukové tkáni (Ohta et al. 2015). Je ale zajímavé, že intracerebroventrikulární podávání rekombinantního neudesinu snížilo příjem potravy a tělesnou hmotnost, což naznačuje jeho komplexní roli v regulaci energetické homeostázy s potenciálními rozdíly v periferních a centrálních účincích. Kromě toho bylo podávání neudesinu účinné pouze u štíhlých myší, zatímco jeho účinky na příjem potravy byly oslabeny u obézních myší s obezitou indukovanou pomocí vysokotukové diety (Byerly et al. 2013).

Přesná úloha neudesinu v regulaci energetické homeostázy tak dosud stále není definitivně stanovena. Na základě dostupné literatury, jsme neobjevili informace o potenciálních rozdílech v cirkulujících hladinách neudesinu mezi obézními a štíhlými pacienty a jeho možném vlivu a vztahu k energetickému metabolismu u lidí. To nás vedlo ke zkoumání možných rozdílů cirkulujících koncentracích neudesinu u pacientů s obezitou s přítomností nebo bez přítomnosti T2DM. V naší studii jsme však nezjistili signifikantní rozdíly v hladinách sérového neudesinu u obézních jedinců s T2DM, bez T2DM ani u zdravých štíhlých kontrolních subjektů. Pro lepší přehled a dynamický aspekt v regulaci hladin sérového neudesinu jsme do naší studie zvolili jedince podstupující tři různé intervence ovlivňující energetickou homeostázu. Obézní diabetičtí pacienti podstupující DJBL měli významně zvýšené hladiny cirkulujícího neudesinu 6 měsíců po zavedení rukávu, které přetrvávalo až do 10. měsíce, kdy došlo k vyjmutí rukávu z duodena. Zavedení rukávu vedlo dále ke snížení tělesné hmotnosti a ke zlepšení glukózové tolerance a kompenzace diabetu. V naší práci jsme prokázali pozitivní korelaci mezi sérovými hladinami neudesinu a inzulínu, což je zajímavé s ohledem na jejich společnou efektorovou dráhu včetně aktivace MAPK a PI3K signálních kaskád (Saltiel and Kahn 2001, Ohta et al. 2015). Nicméně tento potenciální přímý vztah

neudesinu a metabolického zlepšení po DJBL nepotvrzují naše výsledky pacientů s T2DM a obezitou podstupující bariatrický zákrok. U nich došlo taktéž ke snížení tělesné hmotnosti a zlepšení glukózové tolerance, podobně jako u pacientů po DJBL, ale jejich hladiny sérového neudesinu neukázaly žádné významné změny po operaci během celé 12měsíční doby pozorování. Třetí skupina pacientů zahrnovala štíhlé jedince podstupující 72hodinové akutní hladovění za účelem vyloučení organické hyperinzulinémie. U těchto pacientů došlo k poklesu sérových hladin neudesinu, což naznačuje, že některé změny energetické homeostázy jsou spojeny i se změnami sérových hladin neudesinu. Nicméně, tento vztah není konzistentní a není pozorovatelný u všech intervenčních zásahů.

Tuková tkáň byla popsána jako jeden ze zdrojů neudesinu u myši (Kimura et al. 2009). Jeho specifický receptor však nebyl doposud identifikován. Předpokládá se, že neudesin působí specificky aktivací receptoru neudesinu exprimovaného v periferních neuronech v tukové tkáni nebo v její blízkosti a potlačuje tak aktivitu sympatiku (Ohta et al. 2015). Na základě tohoto poznatku jsme stanovili mRNA exprese neudesinu v tukové tkáni pacientů po bariatrické operaci. Neprokázali jsme však žádné rozdíly mezi mRNA expresí neudesinu v SAT oproti VAT. Přesto jsme však zaznamenali přechodný nárůst mRNA exprese neudesinu v SAT 6 měsíců po operaci u obézních pacientů s T2DM v porovnání s pacienty bez T2DM. U pacientů po DJBL k žádným změnám v expresích neudesinu v SAT nedošlo. Je však zajímavé, že tato data jsou v rozporu s výsledky experimentálních studií prokazujících zvýšenou exprese neudesinu v bílé tukové tkáni u myši na HFD, přičemž v hnědé tukové tkáni se změny nepotvrdily (Ohta et al. 2015). Kimura a spoluautoři (Kimura et al. 2009) popsali pomocí kultivovaných preadipocytů 3T3-L1 potlačení adipogeneze vyvolané zvýšenou expresí mRNA neudesinu. Je tedy možné, že toto přechodné zvýšení exprese neudesinu mRNA v tukové tkáni by mohlo souviset se změnami v adipogenezi vyvolanými ztrátou hmotnosti po bariatrické operaci. K ověření takového možného propojení jsou jistě potřeba další studie.

Naše studie byla první, která popisuje změny v cirkulujících hladinách neudesinu u lidí. Primárně jsme měřili hladiny cirkulujícího neudesinu s původem v periferních orgánech, které by nemusely přímo ovlivňovat změny v CNS. Jak bylo dříve dokázáno, neudesin kromě primárního efektu v CNS má i účinky v dalších tkáních mimo CNS (Kimura et al. 2009, Han et al. 2012). V současné době nejsou k dispozici žádné experimentální údaje o podávání periferního neudesinu, a proto není možné učinit závěr, zda působení neudesinu v periferních tkáních může přispět ke zlepšení po DJBL. Důležité je, že v naší studii byly hladiny neudesinu zvýšeny pouze po DJBL, ale ne po gastrické plikaci (restriktivní bariatrická operace zmenšující objem žaludku), a to i přes vcelku srovnatelný pokles tělesné hmotnosti a zlepšení kompenzace

diabetu po obou intervencích. Tato zjištění naznačují, že změny v gastrointestinálním traktu vyvolané DJBL, např. vyloučení dvanáctníku ze vstřebávání potravy, modulace hladin žlučových kyselin nebo jiné účinky specifické pro DJBL, které se u pacientů po gastrické plikaci nevyskytují (Madsbad et al. 2014, Haluzík et al. 2018), mohly přispět ke zvýšeným hladinám neudesinu v séru. Snížené koncentrace neudesinu po akutním hladovění poukazují na možné rozdíly v regulaci neudesinu při akutních a chronických intervencích snižujících příjem potravy. Získaná data nám neumožňují jednoznačně vysvětlit rozdílné trendy mezi hladinami neudesinu v séru a jeho expresí mRNA v subkutánní tukové tkáni se zvýšenou expresí u obézních subjektů po gastrické plikaci a beze změny u jedinců po DJBL; nálezy nicméně naznačují, že tuková tkáň nemusí být primárním zdrojem systémového neudesinu, a že kromě zvýšené adipozity může v lokální regulaci produkce neudesinu v tukové tkáni hrát roli také přítomnost diabetu.

Podobné výsledky publikoval i v roce 2022 Celikkol a spol. (Çelikkol et al. 2022). Měřili se sérové hladiny neudesinu u štíhlých, obézních a těžce obézních adolescentů a sledovali jejich vztah k metabolickým komplikacím. Jejich data poukazují na významně nižší hladiny neudesinu u adolescentů s obezitou, stejně jako negativní korelaci mezi hladinami neudesinu a BMI. U pacientů s diagnostikovaným metabolickým syndromem měly hladiny neudesinu tendenci vzrůstat, ale nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi obézními adolescenty s metabolickým syndromem a bez metabolického syndromu. Tedy ani z této studie není zřejmý přímý vztah metabolických poruch a hladin neudesinu. Podobně Polkowska a spoluautoři (Polkowska et al. 2019) měřili sérové hladiny neudesinu u dětí s diabetem 1. typu, přičemž prokázali statisticky vyšší průměrné koncentrace neudesinu u diabetických dětí a zároveň významnou korelaci mezi BMI a hladinami neudesinu. U dětí s diabetem je vyšší IR než u jejich zdravých vrstevníků a tento rozdíl může vysvětlovat, proč byly hladiny neudesinu vyšší u dětí s diabetem 1. typu než u dětí bez diabetu (Polkowska et al. 2019).

Za zmínku stojí i studie zabývající se vztahem mezi hladinami cirkulujícího neudesinu a onemocněním pacientek syndromem polycystických ovaríí. Yasar a spol. (Yilmaz Yasar et al. 2021) prokázali nižší hladiny neudesinu u pacientek s PCOS a jeho pozitivní korelaci s progesteronem. Spekuluje se nad možností jeho přímého vlivu v patofyziologické dráze PCOS, ačkoliv není jisté, jestli nižší hladiny neudesinu ovlivňují patogenezi PCOS nebo jsou jeho následkem. PCOS má blízký vztah s metabolickými poruchami a abnormalitami jako jsou obezita, hypertenze, dyslipidémie, přičemž zmíněné poruchy zvyšují i kardiovaskulární riziko (Cakir et al. 2013).

Z výsledků naší studie tedy vyplývá, že hladiny neudesinu v séru se zvýšily po implantaci DJBL u obézních pacientů s T2DM a snížily se po akutním hladovění u neobézních subjektů. Na druhé straně sérový neudesin nebyl ovlivněn bariatrickým výkonem restriktivního typu – gastrické plikace. Celkově naše data naznačují komplexní propojení mezi změnami energetické homeostázy a koncentracemi cirkulujícího neudesinu s odlišnými účinky akutní a chronické energetické restrikce a rozdílným vlivem procedur ovlivňujících různé části trávicího traktu.

12. Závěr

V posledních letech je na léčbu a prevenci obezity kladen zvýšený důraz, nicméně její výskyt v populaci stále stoupá. U obézních pacientů dochází ke změnám nejen množství, ale i fyziologické funkce tukové tkáně a ke zvýšené produkci prozánětlivých faktorů adipocyty i přítomnými imunokompetentními buňkami. Při zvýšených hladinách cirkulujících zánětlivých cytokinů dochází k rozvoji systémové chronické zánětlivé reakce nízkého stupně tzv. subklinického zánětu. Ten představuje podklad pro rozvoj řady komplikací obezity, včetně inzulínové rezistence a diabetes mellitus 2. typu. Tento stav je dále podpořen endokrinní dysfunkcí tukové tkáně charakterizovanou zvýšením hladin leptinu a prozánětlivých cytokinů. Dochází také k ovlivnění metabolismu na buněčné úrovni v důsledku poškození funkce mitochondrií i endoplazmatického retikula. Při narušení fyziologických dějů zejména ve viscerální tukové tkáni dochází k rozvoji metabolického syndromu charakterizovaného obezitou, inzulínovou rezistencí, T2DM, dyslipidemií a zvýšeným rizikem kardiovaskulárních komplikací.

Naše studie přinesla informace ohledně mRNA exprese mitochondriálních genů v epikardiální tukové tkáni pacientů podstupujících kardiochirurgickou operaci. Pacienti s ICHS oproti pacientům bez ICHS měli významně sníženou míru mRNA exprese mitochondriálních genů pouze v epikardiální tukové tkáni, ale nikoli v subkutánní tukové tkáni. Ani v jedné z těchto tkání nebyla přítomnost ICHS ovlivněna mRNA exprese genů stresu endoplazmatického retikula. Větší tloušťka EAT u skupiny ICHS také poukazuje na její zvětšení, které může vést k endokrinní dysfunkci a tím podpořit vznik ICHS a dalších srdečních onemocnění. Výsledky naznačují, že pacienti s ICHS mají buď menší denzitu nebo zhoršenou funkci mitochondrií. To může zásadně ovlivnit jejich energetický metabolismu a vést k řadě významných poruch. Není však známo, zda je ICHS faktorem přímo ovlivňujícím mitochondrie v epikardiální tukové tkáni, nebo se jedná o důsledek těchto změn. Je však zřejmé, že tyto patofyziologické změny jsou v úzké návaznosti.

Druhá část práce se zaměřila na neudesin, faktor primárně produkovaný v CNS, ale zároveň i v dalších tkáních, jako je tuková tkáň, s možným vlivem na regulaci energetické homeostázy. Sledovali jsme vliv různých intervencí ovlivňujících hmotnost či energetickou homeostázu na hladiny neudesinu. U pacientů podstupujících váhovou redukci zavedením DJBL byl významný nárůst sérových hladin neudesinu. U těchto pacientů zároveň došlo k poklesu BMI a ke zlepšení glykémie nalačno a HbA_{1c}, stejně jako u pacientů po bariatrické operaci (gastriické plikaci), u kterých však hladiny neudesinu nebyly ovlivněny. U pacientů po DJBL nebyly prokázány změny v mRNA expresi neudesinu v SAT. Naopak u obézních

pacientů po gastrické plikaci došlo ke snížení mRNA exprese neudesinu v SAT. Možný vztah neudesinu a energetického metabolismu naznačují snížené hladiny neudesinu u štíhlých pacientů při akutním hladovění. Změny v sérových koncentracích neudesinu jsou však u různých intervencí rozdílné a naznačují jeho komplexní vztah k regulaci energetického metabolismu.

13. Literatura

AHEAD, L. (2007). "Reduction in weight and cardiovascular disease risk factors in individuals with type 2 diabetes: one-year results of the look AHEAD trial." 2007, **30**(6): 1374-1383.

AHIMA, R. S., D. PRABAKARAN, C. MANTZOROS, D. QU, B. LOWELL, E. MARATOS-FLIER and J. S. FLIER (1996). "Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting." Nature, 1996, **382**(6588): 250-252.

ÅKRA, S., I. SELJEFLØT, B. BRAATHEN, V. BRATSETH, C. H. HANSEN, H. ARNESEN, et al. S. J. A. P. SOLHEIM (2022). "The NLRP3 inflammasome activation in subcutaneous, epicardial and pericardial adipose tissue in patients with coronary heart disease undergoing coronary by-pass surgery." 2022, **48**: 47-54.

ALDISS, P., G. DAVIES, R. WOODS, H. BUDGE, H. S. SACKS and M. E. SYMONDS (2017). "'Browning' the cardiac and peri-vascular adipose tissues to modulate cardiovascular risk." Int J Cardiol, 2017, **228**: 265-274.

ANDERSON, S., A. T. BANKIER, B. G. BARRELL, M. H. DE BRUIJN, A. R. COULSON, J. DROUIN, et al. F. J. N. SANGER (1981). "Sequence and organization of the human mitochondrial genome." 1981, **290**(5806): 457-465.

ANDRIKOPOULOS, S. (2010). "Obesity and Type 2 diabetes: Slow down!—Can metabolic deceleration protect the islet beta cell from excess nutrient-induced damage?" Mol Cell Endocrinol, 2010, **316**(2): 140-146.

ANGRISANI, L., A. SANTONICOLA, P. IOVINO, A. RAMOS, S. SHIKORA and L. KOW (2021). "Bariatric Surgery Survey 2018: Similarities and Disparities Among the 5 IFSO Chapters." Obes Surg, 2021, **31**(5): 1937-1948.

ANTONIADES, C., A. ANTONOPOULOS, D. TOUSOULIS and C. STEFANADIS (2009). "Adiponectin: from obesity to cardiovascular disease." obesity reviews, 2009, **10**(3): 269-279.

ARITA, Y., S. KIHARA, N. OUCHI, M. TAKAHASHI, K. MAEDA, J.-I. MIYAGAWA, et al. K. MIYAOKA (1999). "Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity." Biochem Biophys Res Commun, 1999, **257**(1): 79-83.

ARON-WISNEWSKY, J., J. TORDJMAN, C. POITOU, F. DARAKHSHAN, D. HUGOL, A. BASDEVANT, et al. K. CLEMENT (2009). "Human adipose tissue macrophages: m1 and m2 cell surface markers in subcutaneous and omental depots and after weight loss." J Clin Endocrinol Metab, 2009, **94**(11): 4619-4623.

AZFER, A., J. NIU, L. M. ROGERS, F. M. ADAMSKI and P. E. KOLATTUKUDY (2006). "Activation of endoplasmic reticulum stress response during the development of ischemic heart disease." Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, **291**(3): H1411-1420.

BALTHASAR, N., R. COPPARI, J. MCMINN, S. M. LIU, C. E. LEE, V. TANG, et al. B. B. LOWELL (2004). "Leptin receptor signaling in POMC neurons is required for normal body weight homeostasis." Neuron, 2004, **42**(6): 983-991.

BANERJI, M. A., M. C. BUCKLEY, R. L. CHAIKEN, D. GORDON, H. E. LEBOVITZ and J. G. KRAL (1995). "Liver fat, serum triglycerides and visceral adipose tissue in insulin-sensitive and insulin-resistant black men with NIDDM." Int J Obes Relat Metab Disord, 1995, **19**(12): 846-850.

- BASTIEN, M., P. POIRIER, I. LEMIEUX and J.-P. DESPRÉS (2014). "Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease." Progress in cardiovascular diseases, 2014, **56**(4): 369-381.
- BAUMANN, H. and J. GAULDIE (1994). "The acute phase response." Immunol Today, 1994, **15**(2): 74-80.
- BENEŠ, M., T. HUCL, P. DRASTICH, R. KEIL, Z. VLASÁKOVÁ, T. PELIKÁNOVÁ, et al. M. HALUZÍK (2016). "Endoskopický duodeno-jejunální bypass (EndoBarrier) jako nový terapeutický přístup u obézních diabetiků 2. typu: efektivita a faktory predikující optimální efekt." Gastroenterologie a hepatologie, 2016, **70**(6).
- BERGMANN, K. and G. SYPNIEWSKA (2013). "Diabetes as a complication of adipose tissue dysfunction. Is there a role for potential new biomarkers?" Clinical chemistry and laboratory medicine, 2013, **51**(1): 177-185.
- BHATTI, J. S., G. K. BHATTI and P. H. REDDY (2017). "Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria based therapeutic strategies." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 2017, **1863**(5): 1066-1077.
- BOGDANOVIC, E., N. KRAUS, D. PATSOURIS, L. DIAO, V. WANG, A. ABDULLAHI and M. G. JESCHKE (2015). "Endoplasmic reticulum stress in adipose tissue augments lipolysis." Journal of cellular and molecular medicine, 2015, **19**(1): 82-91.
- BOZKAYA, G., O. FENERCIOGLU, İ. DEMIR, A. GULER, B. ASLANIPOUR and M. CALAN (2020). "Neudesin: a neuropeptide hormone decreased in subjects with polycystic ovary syndrome." Gynecol Endocrinol, 2020, **36**(10): 849-853.
- BYERLY, M. S., R. D. SWANSON, N. N. SEMSARZADEH, P. S. MCCULLOH, K. KWON, S. AJA, et al. S. BLACKSHAW (2013). "Identification of hypothalamic neuron-derived neurotrophic factor as a novel factor modulating appetite." American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2013, **304**(12): R1085-R1095.
- CAKIR, E., M. DOĞAN, O. TOPALOĞLU, M. OZBEK, E. CAKAL, M. G. VURAL, et al. T. DELIBASI (2013). "Subclinical atherosclerosis and hyperandrogenemia are independent risk factors for increased epicardial fat thickness in patients with PCOS and idiopathic hirsutism." Atherosclerosis, 2013, **226**(1): 291-295.
- CATALANO, P. M. (2010). "Obesity, insulin resistance, and pregnancy outcome." Reproduction, 2010, **140**(3): 365-371.
- ÇELIKKOL, A., Ç. BINAY, Ö. AYÇIÇEK and S. GÜZEL (2022). "Serum Neudesin Levels in Obese Adolescents." J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2022, **14**(1): 69-75.
- CINKAJZLOVÁ, A., M. MRÁZ and M. J. J. O. E. HALUZÍK (2022). "Adipose tissue immune cells in obesity, type 2 diabetes mellitus and cardiovascular diseases." 2022, **252**(1): R1-R22.
- CINTI, S., G. MITCHELL, G. BARBATELLI, I. MURANO, E. CERESI, E. FALOIA, et al. M. S. OBIN (2005). "Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans." J Lipid Res, 2005, **46**(11): 2347-2355.
- CNOP, M., P. J. HAVEL, K. UTZSCHNEIDER, D. CARR, M. SINHA, E. BOYKO, et al. S. E. KAHN (2003). "Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex." Diabetologia, 2003, **46**(4): 459-469.

- COMINACINI, L., C. MOZZINI, U. GARBIN, A. PASINI, C. STRANIERI, E. SOLANI, et al. A. FRATTA PASINI (2015). "Endoplasmic reticulum stress and Nrf2 signaling in cardiovascular diseases." Free Radic Biol Med, 2015, **88**(Pt B): 233-242.
- COPPS, K. and M. WHITE (2012). "Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2." Diabetologia, 2012, **55**(10): 2565-2582.
- CRANDALL, J. P., W. C. KNOWLER, S. E. KAHN, D. MARRERO, J. C. FLOREZ, G. A. BRAY, et al. D. P. P. R. GROUP (2008). "The prevention of type 2 diabetes." Nature Reviews Endocrinology, 2008, **4**(7): 382.
- CROSS, D. A., P. W. WATT, M. SHAW, J. VAN DER KAAJ, C. P. DOWNES, J. C. HOLDER and P. COHEN (1997). "Insulin activates protein kinase B, inhibits glycogen synthase kinase-3 and activates glycogen synthase by rapamycin-insensitive pathways in skeletal muscle and adipose tissue." FEBS Lett, 1997, **406**(1-2): 211-215.
- DAHLMAN, I., M. FORSGREN, A. SJÖGREN, E. A. NORDSTRÖM, M. KAAMAN, E. NÄSLUND, et al. P. ARNER (2006). "Downregulation of electron transport chain genes in visceral adipose tissue in type 2 diabetes independent of obesity and possibly involving tumor necrosis factor- α ." Diabetes, 2006, **55**(6): 1792-1799.
- DAI, H., T. A. ALSALHE, N. CHALGHAF, M. RICCÒ, N. L. BRAGAZZI and J. WU (2020). "The global burden of disease attributable to high body mass index in 195 countries and territories, 1990-2017: An analysis of the Global Burden of Disease Study." PLoS Med, 2020, **17**(7): e1003198.
- DAS, P., S. BISWAS, S. MUKHERJEE and S. BANDYOPADHYAY (2016). "Association of oxidative stress and obesity with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus." Mymensingh Med J, 2016, **25**(1): 148-152.
- DE SOUZA BATISTA, C. M., R.-Z. YANG, M.-J. LEE, N. M. GLYNN, D.-Z. YU, J. PRAY, et al. M. KLIGMAN (2007). "Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity." Diabetes, 2007, **56**(6): 1655-1661.
- DEFRONZO, R. A. (1988). "The triumvirate: β -cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM." Diabetes, 1988, **37**(6): 667-687.
- DENG, J., S. LIU, L. ZOU, C. XU, B. GENG and G. XU (2012). "Lipolysis response to endoplasmic reticulum stress in adipose cells." Journal of Biological Chemistry, 2012, **287**(9): 6240-6249.
- DEYOUNG, K. L., M. E. RAY, Y. A. SU, S. L. ANZICK, R. W. JOHNSTONE, J. A. TRAPANI, et al. J. M. TRENT (1997). "Cloning a novel member of the human interferon-inducible gene family associated with control of tumorigenicity in a model of human melanoma." Oncogene, 1997, **15**(4): 453-457.
- DIVELLA, R., R. DE LUCA, I. ABBATE, E. NAGLIERI and A. DANIELE (2016). "Obesity and cancer: the role of adipose tissue and adipocyte-cytokines-induced chronic inflammation." Journal of Cancer, 2016, **7**(15): 2346.
- DRAGER, L. F., S. M. TOGEIRO, V. Y. POLOTSKY and G. LORENZI-FILHO (2013). "Obstructive sleep apnea: a cardiometabolic risk in obesity and the metabolic syndrome." J Am Coll Cardiol, 2013, **62**(7): 569-576.

- FAIN, J., H. SACKS, B. BUEHRER, S. BAHOUTH, E. GARRETT, R. WOLF, et al. MADAN (2008). "Identification of omentin mRNA in human epicardial adipose tissue: comparison to omentin in subcutaneous, internal mammary artery periadventitial and visceral abdominal depots." Int J Obes (Lond), 2008, **32**(5): 810.
- FEI, H., H. J. OKANO, C. LI, G. H. LEE, C. ZHAO, R. DARNELL and J. M. FRIEDMAN (1997). "Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues." Proc Natl Acad Sci U S A, 1997, **94**(13): 7001-7005.
- FEJFAROVÁ, V. and A. JIRKOVSKÁ (2009). "Makrovaskulární komplikace diabetu." Interní medicína pro praxi, 2009.
- FESTA, A., R. D'AGOSTINO, JR., G. HOWARD, L. MYKKANEN, R. P. TRACY and S. M. HAFFNER (2000). "Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS)." Circulation, 2000, **102**(1): 42-47.
- FOTH, C. and S. MOUNTFORT (2019). Acute Myocardial Infarction ST Elevation (STEMI). StatPearls [Internet], StatPearls Publishing.
- FOWLER, M. J. (2008). "Microvascular and macrovascular complications of diabetes." Clinical diabetes, 2008, **26**(2): 77-82.
- FRUEBIS, J., T.-S. TSAO, S. JAVORSCHI, D. EBBETS-REED, M. R. S. ERICKSON, F. T. YEN, et al. H. F. LODISH (2001). "Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice." Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001, **98**(4): 2005-2010.
- FURUKAWA, S., T. FUJITA, M. SHIMABUKURO, M. IWAKI, Y. YAMADA, Y. NAKAJIMA, et al. I. SHIMOMURA (2017). "Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome." J Clin Invest, 2017, **114**(12): 1752-1761.
- FUSTER, J. J., N. OUCHI, N. GOKCE and K. J. C. R. WALSH (2016). "Obesity-induced changes in adipose tissue microenvironment and their impact on cardiovascular disease." 2016, **118**(11): 1786-1807.
- GAIGNARD, P., M. MENEZES, M. SCHIFF, A. BAYOT, M. RAK, H. O. DE BAULNY, et al. H. J. T. A. J. O. H. G. ABIDA (2013). "Mutations in CYC1, encoding cytochrome c1 subunit of respiratory chain complex III, cause insulin-responsive hyperglycemia." 2013, **93**(2): 384-389.
- GAO, C.-L., C. ZHU, Y.-P. ZHAO, X.-H. CHEN, C.-B. JI, C.-M. ZHANG, et al. X.-R. GUO (2010). "Mitochondrial dysfunction is induced by high levels of glucose and free fatty acids in 3T3-L1 adipocytes." Mol Cell Endocrinol, 2010, **320**(1-2): 25-33.
- GHANTOUS, C., Z. AZRAK, S. HANACHE, W. ABOU-KHEIR and A. ZEIDAN (2015). "Differential role of leptin and adiponectin in cardiovascular system." International journal of endocrinology, 2015, **2015**.
- GREGOR, M. F. and G. S. HOTAMISLIGIL (2007). "Thematic review series: Adipocyte Biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease." J Lipid Res, 2007, **48**(9): 1905-1914.
- GUO, S. (2013). "Molecular basis of insulin resistance: the role of IRS and Foxo1 in the control of diabetes mellitus and its complications." Drug Discovery Today: Disease Mechanisms, 2013, **10**(1): e27-e33.

- GUO, S. (2014). "Insulin signaling, resistance, and metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms." Journal of Endocrinology, 2014, **220**(2): T1-T23.
- HAJER, G. R., T. W. VAN HAEFTEN and F. L. VISSEREN (2008). "Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases." European Heart Journal, 2008, **29**(24): 2959-2971.
- HALUZIK, M. (2005). "Adiponectin and its potential in the treatment of obesity, diabetes and insulin resistance." Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000), 2005, **6**(10): 988-993.
- HALUZÍK, M. (2013). Bariatric surgery and the mechanism of diabetes remission: are we getting there?, Oxford University Press, 2013.
- HALUZÍK, M., H. KRATOCHVÍLOVÁ, D. HALUZÍKOVÁ and M. MRÁZ (2018). "Gut as an emerging organ for the treatment of diabetes: focus on mechanism of action of bariatric and endoscopic interventions." J Endocrinol, 2018, **237**(1): R1-R17.
- HALUZÍK MARTIN, H. V., KUDLÁČKOVÁ MICHAELA, JAKUBÍKOVÁ IVA, HRÁDKOVÁ VIKTORIE, KUDLÁČKOVÁ MICHAELA and J. IVA (2020). "Léčba obezity u pacientů s diabetem a bez diabetu: současné možnosti a perspektivy." Časopis lékařů českých, 2020, **159**(3-4): 136-140.
- HAMDY, O., S. PORRAMATIKUL and E. AL-OZAIRI (2006). "Metabolic obesity: the paradox between visceral and subcutaneous fat." Current diabetes reviews, 2006, **2**(4): 367-373.
- HAN, K.-H., S.-H. LEE, S.-A. HA, H. K. KIM, C. LEE, D.-H. KIM, et al. J. W. KIM (2012). "The functional and structural characterization of a novel oncogene GIG47 involved in the breast tumorigenesis." BMC cancer, 2012, **12**(1): 274.
- HAN, K. H., S. H. LEE, S. A. HA, H. K. KIM, C. LEE, D. H. KIM, et al. J. W. KIM (2012). "The functional and structural characterization of a novel oncogene GIG47 involved in the breast tumorigenesis." BMC Cancer, 2012, **12**: 274.
- HANSSON, G. K. and A. HERMANSSON (2011). "The immune system in atherosclerosis." Nat Immunol, 2011, **12**(3): 204-212.
- HAVEL, P. J. (2002). "Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin." Curr Opin Lipidol, 2002, **13**(1): 51-59.
- HOFFSTEDT, J., E. ARNER, H. WAHRENBERG, D. ANDERSSON, V. QVISTH, P. LÖFGREN, et al. M. PALMER (2010). "Regional impact of adipose tissue morphology on the metabolic profile in morbid obesity." Diabetologia, 2010, **53**(12): 2496-2503.
- HOOD, D. A., R. ZAK and D. PETTE (1989). "Chronic stimulation of rat skeletal muscle induces coordinate increases in mitochondrial and nuclear mRNAs of cytochrome-c-oxidase subunits." Eur J Biochem, 1989, **179**(2): 275-280.
- HOSOGAI, N., A. FUKUHARA, K. OSHIMA, Y. MIYATA, S. TANAKA, K. SEGAWA, et al. I. SHIMOMURA (2007). "Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation." Diabetes, 2007, **56**(4): 901-911.
- HOTAMISLIGIL, G. S. (2006). "Inflammation and metabolic disorders." 2006.

- HOTAMISLIGIL, G. S., N. S. SHARGILL and B. M. SPIEGELMAN (1993). "Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor- : Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance." SCIENCE-NEW YORK THEN WASHINGTON-, 1993, **259**: 87-87.
- HTAY, T., K. SOE, A. LOPEZ-PEREZ, A. H. DOAN, M. A. ROMAGOSA and K. J. C. C. R. AUNG (2019). "Mortality and cardiovascular disease in type 1 and type 2 diabetes." 2019, **21**: 1-7.
- HU, F. B., J. B. MEIGS, T. Y. LI, N. RIFAI and J. E. MANSON (2004). "Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women." Diabetes, 2004, **53**(3): 693-700.
- HUSSAIN, S., M. ALRASHED, R. RAJAN, M. AL-JARALLAH, P. A. BRADY, B. SOMAN and R. J. A. O. C. C. DASHTI (2021). "Chronic coronary syndrome: a review of the literature." 2021, **3**(1): 3.
- CHAWLA, A., R. CHAWLA and S. JAGGI (2016). "Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: distinct or continuum?" Indian journal of endocrinology and metabolism, 2016, **20**(4): 546.
- CHEN, X., J. SHEN and R. J. J. O. B. C. PRYWES (2002). "The Luminal Domain of ATF6 Senses Endoplasmic Reticulum (ER) Stress and Causes Translocation of ATF6 from the ER to the Golgi*." 2002, **277**(15): 13045-13052.
- CHENG, T. L., C. C. LIAO, W. H. TSAI, C. C. LIN, C. W. YEH, C. F. TENG and W. T. J. J. O. C. B. CHANG (2009). "Identification and characterization of the mitochondrial targeting sequence and mechanism in human citrate synthase." 2009, **107**(5): 1002-1015.
- CHERIAN, S., G. D. LOPASCHUK and E. CARVALHO (2012). "Cellular cross-talk between epicardial adipose tissue and myocardium in relation to the pathogenesis of cardiovascular disease." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2012, **303**(8): E937-E949.
- CHRISTE, M., E. HIRZEL, A. LINDINGER, B. KERN, M. VON FLÜE, R. PETERLI, et al. P. W. J. I. S. R. N. LINDINGER (2013). "Obesity affects mitochondrial citrate synthase in human omental adipose tissue." 2013, **2013**.
- IACOBELLIS, G., F. ASSAEL, M. C. RIBAUDO, A. ZAPPATERRENO, G. ALESSI, U. DI MARIO and F. LEONETTI (2003). "Epicardial fat from echocardiography: a new method for visceral adipose tissue prediction." Obes Res, 2003, **11**(2): 304-310.
- IACOBELLIS, G. and A. C. BIANCO (2011). "Epicardial adipose tissue: emerging physiological, pathophysiological and clinical features." Trends Endocrinol Metab, 2011, **22**(11): 450-457.
- IACOBELLIS, G., D. CORRADI and A. M. SHARMA (2005). "Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart." Nature Reviews Cardiology, 2005, **2**(10): 536.
- JANGHORBANI, M., F. B. HU, W. C. WILLETT, T. Y. LI, J. E. MANSON, G. LOGROSCINO and K. M. REXRODE (2007). "Prospective study of type 1 and type 2 diabetes and risk of stroke subtypes: the Nurses' Health Study." Diabetes Care, 2007, **30**(7): 1730-1735.
- JESCHKE, M. G., C. C. FINNERTY, D. N. HERNDON, J. SONG, D. BOEHNING, R. G. TOMPKINS, et al. G. G. GAUGLITZ (2012). "Severe injury is associated with insulin resistance, endoplasmic reticulum stress response, and unfolded protein response." Annals of surgery, 2012, **255**(2): 370.

- JO, J., O. GAVRILOVA, S. PACK, W. JOU, S. MULLEN, A. E. SUMNER, et al. V. PERIWAL (2009). "Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth." PLoS Comput Biol, 2009, **5**(3): e1000324.
- JOHNSON, A. M. and J. M. OLEFSKY (2013). "The origins and drivers of insulin resistance." Cell, 2013, **152**(4): 673-684.
- KADENBACH, B. and M. J. M. HÜTTEMANN (2015). "The subunit composition and function of mammalian cytochrome c oxidase." 2015, **24**: 64-76.
- KADOWAKI, T., T. YAMAUCHI and N. KUBOTA (2008). "The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS." FEBS Lett, 2008, **582**(1): 74-80.
- KADOWAKI, T., T. YAMAUCHI, N. KUBOTA, K. HARA, K. UEKI and K. TOBE (2006). "Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome." J Clin Invest, 2006, **116**(7): 1784-1792.
- KAHN, S. E., R. L. HULL and K. M. UTZSCHNEIDER (2006). "Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes." Nature, 2006, **444**(7121): 840.
- KANG, K., S. M. REILLY, V. KARABACAK, M. R. GANGL, K. FITZGERALD, B. HATANO and C. H. LEE (2008). "Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPARdelta regulate macrophage polarization and insulin sensitivity." Cell Metab, 2008, **7**(6): 485-495.
- KARETOVÁ, D., J. HIRMEROVÁ and J. MATUŠKA (2018). "2017 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral arterial diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Summary of the document prepared by the Czech Society of Cardiology and the Czech Society of Angiology." Cor et Vasa, 2018, **60**(2): e183-e204.
- KARPE, F. and K. E. PINNICK (2015). "Biology of upper-body and lower-body adipose tissue [mdash] link to whole-body phenotypes." Nature Reviews Endocrinology, 2015, **11**(2): 90-100.
- KATAOKA, Y., R. SHIBATA, K. OHASHI, T. KAMBARA, T. ENOMOTO, Y. UEMURA, et al. T. NAGATA (2014). "Omentin prevents myocardial ischemic injury through AMP-activated protein kinase- and Akt-dependent mechanisms." J Am Coll Cardiol, 2014, **63**(24): 2722-2733.
- KAVÁLKOVÁ, P., M. MRÁZ, P. TRACHTA, J. KLOUČKOVÁ, A. CINKAJZLOVÁ, Z. LACINOVÁ, et al. V. J. J. E. BURDA (2016). "Endocrine effects of duodenal–jejunal exclusion in obese patients with type 2 diabetes mellitus." 2016, **231**(1): 11-22.
- KERN, P. A., M. SAGHIZADEH, J. M. ONG, R. J. BOSCH, R. DEEM and R. B. SIMSOLO (1995). "The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase." J Clin Invest, 1995, **95**(5): 2111-2119.
- KERSHAW, E. E. and J. S. FLIER (2004). "Adipose tissue as an endocrine organ." J Clin Endocrinol Metab, 2004, **89**(6): 2548-2556.
- KHOURY, J. C., D. KLEINDORFER, K. ALWELL, C. J. MOOMAW, D. WOO, O. ADEOYE, et al. J. P. BRODERICK (2013). "Diabetes mellitus: a risk factor for ischemic stroke in a large biracial population." Stroke, 2013, **44**(6): 1500-1504.

- KIMURA, I., M. KONISHI, T. ASAKI, N. FURUKAWA, K. UKAI, M. MORI, et al.M. FUJIMOTO (2009). "Neudesin, an extracellular heme-binding protein, suppresses adipogenesis in 3T3-L1 cells via the MAPK cascade." Biochem Biophys Res Commun, 2009, **381**(1): 75-80.
- KIMURA, I., Y. NAKAYAMA, M. KONISHI, K. TERASAWA, M. OHTA, N. ITOH and M. FUJIMOTO (2012). "Functions of MAPR (membrane-associated progesterone receptor) family members as heme/steroid-binding proteins." Current Protein and Peptide Science, 2012, **13**(7): 687-696.
- KIMURA, I., Y. NAKAYAMA, Y. ZHAO, M. KONISHI and N. ITOH (2013). "Neurotrophic effects of neudesin in the central nervous system." Frontiers in neuroscience, 2013, **7**: 111.
- KIMURA, I., M. YOSHIOKA, M. KONISHI, A. MIYAKE and N. ITOH (2005). "Neudesin, a novel secreted protein with a unique primary structure and neurotrophic activity." Journal of neuroscience research, 2005, **79**(3): 287-294.
- KIMURA, I., M. YOSHIOKA, M. KONISHI, A. MIYAKE and N. ITOH (2005). "Neudesin, a novel secreted protein with a unique primary structure and neurotrophic activity." J Neurosci Res, 2005, **79**(3): 287-294.
- KOENEN, T. B., R. STIENSTRA, L. J. VAN TITS, L. A. JOOSTEN, J. F. VAN VELZEN, A. HIJMANS, et al.J. DE GRAAF (2011). "The inflammasome and caspase-1 activation: a new mechanism underlying increased inflammatory activity in human visceral adipose tissue." Endocrinology, 2011, **152**(10): 3769-3778.
- KOH, E. H., J.-Y. PARK, H.-S. PARK, M. J. JEON, J. W. RYU, M. KIM, et al.I. S. PARK (2007). "Essential role of mitochondrial function in adiponectin synthesis in adipocytes." Diabetes, 2007, **56**(12): 2973-2981
- KOJIMA, S., T. FUNAHASHI, F. OTSUKA, H. MARUYOSHI, T. YAMASHITA, I. KAJIWARA, et al.S. SUGIYAMA (2007). "Future adverse cardiac events can be predicted by persistently low plasma adiponectin concentrations in men and marked reductions of adiponectin in women after acute myocardial infarction." Atherosclerosis, 2007, **194**(1): 204-213.
- KOMIYA, T., Y. TANIGAWA and S. HIROHASHI (1998). "Cloning of the novel gene intelectin, which is expressed in intestinal paneth cells in mice." Biochem Biophys Res Commun, 1998, **251**(3): 759-762.
- KOSTIS, J. B. and M. SANDERS (2005). The association of heart failure with insulin resistance and the development of type 2 diabetes, Oxford University Press, 2005.
- KRATOCHVILOVA, H., Z. LACINOVA, J. KLOUCKOVA, P. KAVALKOVA, A. CINKAJZLOVA, P. TRACHTA, et al.M. FRIED (2019). "Neudesin in obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of acute fasting and weight reducing interventions." Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy, 2019, **12**: 423.
- KRATOCHVÍLOVÁ, H., M. MRÁZ, B. J. KASPEROVÁ, D. HLAVÁČEK, J. MAHRÍK, I. LAŇKOVÁ, et al.J. TRNOVSKÁ (2021). "Different Expression of Mitochondrial and Endoplasmic Reticulum Stress Genes in Epicardial Adipose Tissue Depends on Coronary Atherosclerosis." J International journal of molecular sciences, 2021, **22**(9): 4538.

- KUMADA, M., S. KIHARA, S. SUMITSUJI, T. KAWAMOTO, S. MATSUMOTO, N. OUCHI, et al. HIRAOKA (2003). "Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men." Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, **23**(1): 85-89.
- KUNIMURA, A., H. ISHII, T. UETANI, K. HARADA, K. HIRAYAMA, S. HARATA, et al. T. MUROHARA (2016). "Impact of adipose tissue composition on cardiovascular risk assessment in patients with stable coronary artery disease." Atherosclerosis, 2016, **251**: 206-212.
- KUSMINSKI, C. M., S. SHETTY, L. ORCI, R. H. UNGER and P. E. SCHERER (2009). "Diabetes and apoptosis: lipotoxicity." Apoptosis, 2009, **14**(12): 1484-1495.
- LARSSON, B., K. SVARDSUDD, L. WELIN, L. WILHELMSEN, P. BJORNTORP and G. TIBBLIN (1984). "Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913." Br Med J (Clin Res Ed), 1984, **288**(6428): 1401-1404.
- LEAN, M. E. and G. JENNINGS (1989). "Brown adipose tissue activity in pyrexial cases of cot death." J Clin Pathol, 1989, **42**(11): 1153-1156.
- LEBOEUF, B., A. E. RENOLD and G. F. CAHILL (1962). "Studies on rat adipose tissue in vitro IX. Further effects of cortisol on glucose metabolism." Journal of Biological Chemistry, 1962, **237**(4): 988-991.
- LEE, J. H., A. PARK, K. J. OH, S. C. LEE, W. K. KIM and K. H. BAE (2019). "The Role of Adipose Tissue Mitochondria: Regulation of Mitochondrial Function for the Treatment of Metabolic Diseases." Int J Mol Sci, 2019, **20**(19).
- LEHRKE, M., U. C. BROEDL, I. M. BILLER-FRIEDMANN, M. VOGESER, V. HENSCHEL, K. NASSAU, et al. K. G. PARHOFER (2008). "Serum concentrations of cortisol, interleukin 6, leptin and adiponectin predict stress induced insulin resistance in acute inflammatory reactions." Critical Care, 2008, **12**(6): R157.
- LIGTHART, S., C. MARZI, S. ASLIBEKYAN, M. M. MENDELSON, K. N. CONNEELY, T. TANAKA, et al. W. GUAN (2016). "DNA methylation signatures of chronic low-grade inflammation are associated with complex diseases." Genome Biology, 2016, **17**(1): 255.
- LIN, B., D. MORRIS and J. CHOU (1998). "Hepatocyte nuclear factor 1alpha is an accessory factor required for activation of glucose-6-phosphatase gene transcription by glucocorticoids." DNA and cell biology, 1998, **17**(11): 967.
- LIU, L. S., M. SPELLEKEN, K. ROHRIG, H. HAUNER and J. ECKEL (1998). "Tumor necrosis factor-alpha acutely inhibits insulin signaling in human adipocytes: implication of the p80 tumor necrosis factor receptor." Diabetes, 1998, **47**(4): 515-522.
- LIU, M.-Q., Z. CHEN and L.-X. J. A. P. S. CHEN (2016). "Endoplasmic reticulum stress: a novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases." 2016, **37**(4): 425-443.
- LUQUE-CONTRERAS, D., K. CARVAJAL, D. TORAL-RIOS, D. FRANCO-BOCANEGRA and V. CAMPOS-PENA (2014). "Oxidative stress and metabolic syndrome: cause or consequence of Alzheimer's disease?" Oxidative medicine and cellular longevity, 2014, **2014**.
- MADSBAD, S., C. DIRKSEN and J. J. HOLST (2014). "Mechanisms of changes in glucose metabolism and bodyweight after bariatric surgery." Lancet Diabetes Endocrinol, 2014, **2**(2): 152-164.

- MANNA, P. and S. K. JAIN (2015). "Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies." Metabolic syndrome and related disorders, 2015, **13**(10): 423-444.
- MANTOVANI, A., A. SICA, S. SOZZANI, P. ALLAVENA, A. VECCHI and M. LOCATI (2004). "The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization." Trends Immunol, 2004, **25**(12): 677-686.
- MARTIN, R. L., E. PEREZ, Y.-J. HE, R. DAWSON and W. J. MILLARD (2000). "Leptin resistance is associated with hypothalamic leptin receptor mRNA and protein downregulation." Metabolism-Clinical and Experimental, 2000, **49**(11): 1479-1484.
- MARTÍNEZ, L. C., E. C. RAMÍREZ, A. O. TEJEDA, E. A. LAFUENTE, L. P. B. ROSALES, V. R. GONZÁLEZ, et al. J. D. J. N. GARCÍA (2007). "Bioelectrical impedance and strength measurements in patients with heart failure: comparison with functional class." 2007, **23**(5): 412-418.
- MARTYN, J. A. J., M. KANEKI and S. YASUHARA (2008). "Obesity-induced Insulin Resistance and Hyperglycemia Etiologic Factors and Molecular Mechanisms." The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 2008, **109**(1): 137-148.
- MATLOCH, Z., H. KRATOCHVÍLOVÁ, A. CINKAJZLOVÁ, M. LIPŠ, P. KOPECKÝ, M. POŘÍZKA, et al. J. KLOUČKOVÁ (2018). "Changes in Omentin Levels and Its mRNA Expression in Epicardial Adipose Tissue in Patients Undergoing Elective Cardiac Surgery: the Influence of Type 2 Diabetes and Coronary Heart Disease." Physiological research, 2018, **67**(6): 881.
- MCDONNELL, M. E., L. M. GANLEY-LEAL, A. MEHTA, S. J. BIGORNIA, M. MOTT, Q. REHMAN, et al. C. M. APOVIAN (2012). "B lymphocytes in human subcutaneous adipose crown-like structures." Obesity (Silver Spring), 2012, **20**(7): 1372-1378.
- MORENO-NAVARRETE, J. M., V. CATALÁN, F. ORTEGA, J. GÓMEZ-AMBROSI, W. RICART, G. FRÜHBECK and J. M. FERNÁNDEZ-REAL (2010). "Circulating omentin concentration increases after weight loss." Nutrition & metabolism, 2010, **7**(1): 27.
- MORINO, K., K. F. PETERSEN, S. DUFOUR, D. BEFROY, J. FRATTINI, N. SHATZKES, et al. S. SONO (2005). "Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents." J Clin Invest, 2005, **115**(12): 3587-3593.
- MOZZINI, C., L. COMINACINI, U. GARBIN and A. M. FRATTA PASINI (2017). "Endoplasmic Reticulum Stress, NRF2 Signalling and Cardiovascular Diseases in a Nutshell." Curr Atheroscler Rep, 2017, **19**(8): 33.
- NAKAJIMA, T., T. YOKOTA, Y. SHINGU, A. YAMADA, Y. IBA, K. UJIHIRA, et al. S. KINUGAWA (2019). "Impaired mitochondrial oxidative phosphorylation capacity in epicardial adipose tissue is associated with decreased concentration of adiponectin and severity of coronary atherosclerosis." Sci Rep, 2019, **9**(1): 3535.
- NATHAN, D. M. (1993). "Long-term complications of diabetes mellitus." N Engl J Med, 1993, **328**(23): 1676-1685.
- NEDERGAARD, J. and B. CANNON (2013). "How brown is brown fat? It depends where you look." Nat Med, 2013, **19**(5): 540-541.

- NEUMANN, J. (2009). "Diabetes mellitus a ischemická cévní mozková příhoda." Medicína pro praxi, 2009, **6**: 165-166.
- NILSSON, P. M., G. ENGSTRÖM, B. HEDBLAD, J. FRYSTYK, M. M. PERSSON, G. R. BERGLUND and A. FLYVBJERG (2006). "Plasma adiponectin levels in relation to carotid intima media thickness and markers of insulin resistance." Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, **26**(12): 2758-2762.
- NISOLI, E., E. CLEMENTI, M. O. CARRUBA and S. MONCADA (2007). "Defective mitochondrial biogenesis: a hallmark of the high cardiovascular risk in the metabolic syndrome?" Circ Res, 2007, **100**(6): 795-806.
- NOVAIS, A., A. C. FERREIRA, F. MARQUES, J. M. PÊGO, J. J. CERQUEIRA, A. DAVID-PEREIRA, et al. N. SOUSA (2013). "Neudesin is involved in anxiety behavior: structural and neurochemical correlates." Frontiers in behavioral neuroscience, 2013, **7**: 119.
- OAKES, S. A. and F. R. PAPA (2015). "The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology." Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, 2015, **10**: 173-194.
- OH, K.-J., D. S. LEE, W. K. KIM, B. S. HAN, S. C. LEE and K.-H. BAE (2017). "Metabolic Adaptation in Obesity and Type II Diabetes: Myokines, Adipokines and Hepatokines." 2017, **18**(1): 8.
- OHTA, H., I. KIMURA, M. KONISHI and N. ITOH (2015). "Neudesin as a unique secreted protein with multi-functional roles in neural functions, energy metabolism, and tumorigenesis." Frontiers in molecular biosciences, 2015, **2**: 24.
- OHTA, H., M. KONISHI, Y. KOBAYASHI, A. KASHIO, T. MOCHIYAMA, S. MATSUMURA, et al. I. KIMURA (2015). "Deletion of the neurotrophic factor neudesin prevents diet-induced obesity by increased sympathetic activity." Sci Rep, 2015, **5**: 10049.
- OUCHI, N., S. KIHARA, T. FUNAHASHI, Y. MATSUZAWA and K. WALSH (2003). "Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease." Curr Opin Lipidol, 2003, **14**(6): 561-566.
- OZCAN, C., Z. LI, G. KIM, V. JEEVANANDAM and N. URIEL (2019). "Molecular Mechanism of the Association Between Atrial Fibrillation and Heart Failure Includes Energy Metabolic Dysregulation Due to Mitochondrial Dysfunction." J Card Fail, 2019, **25**(11): 911-920.
- PAN, D. A., S. LILLIOJA, A. D. KRIKETOS, M. R. MILNER, L. A. BAUR, C. BOGARDUS, et al. L. H. STORLIEN (1997). "Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action." Diabetes, 1997, **46**(6): 983-988.
- PATEL, V. B., S. SHAH, S. VERMA and G. Y. OUDIT (2017). "Epicardial adipose tissue as a metabolic transducer: role in heart failure and coronary artery disease." Heart Fail Rev, 2017, **22**(6): 889-902.
- PATNI, N. and A. GARG (2015). "Congenital generalized lipodystrophies [mdash] new insights into metabolic dysfunction." Nature Reviews Endocrinology, 2015, **11**(9): 522-534.
- PELIKÁNOVÁ, T. and V. BARTOŠ (2018). Praktická diabetologie, Maxdorf.
- PETERSEN, K. F., D. BEFROY, S. DUFOUR, J. DZIURA, C. ARIYAN, D. L. ROTHMAN, et al. G. I. SHULMAN (2003). "Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance." Science, 2003, **300**(5622): 1140-1142.

- POGGI, M., J. JAGER, O. PAULMYER-LACROIX, F. PEIRETTI, T. GREMEAUX, M. VERDIER, et al. M. C. ALESSI (2009). "The inflammatory receptor CD40 is expressed on human adipocytes: contribution to crosstalk between lymphocytes and adipocytes." Diabetologia, 2009, **52**(6): 1152-1163.
- POLKOWSKA, A., I. E. PASIEROWSKA, M. PASŁAWSKA, E. PAWLUCZUK and A. BOSSOWSKI (2019). "Assessment of Serum Concentrations of Adropin, Afamin, and Neudesin in Children with Type 1 Diabetes." Biomed Res Int, 2019, **2019**: 6128410.
- PRADHAN, A. D., J. E. MANSON, N. RIFAI, J. E. BURING and P. M. RIDKER (2001). "C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus." JAMA, 2001, **286**(3): 327-334.
- RAMJI, D. P. and P. J. B. J. FOKA (2002). "CCAAT/enhancer-binding proteins: structure, function and regulation." 2002, **365**(3): 561-575.
- RAVUSSIN, E. and S. R. SMITH (2002). "Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus." Ann N Y Acad Sci, 2002, **967**(1): 363-378.
- REAVEN, G. M. (1988). "Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease." Diabetes, 1988, **37**(12): 1595-1607.
- REILLY, J. J., E. METHVEN, Z. C. MCDOWELL, B. HACKING, D. ALEXANDER, L. STEWART and C. J. KELNAR (2003). "Health consequences of obesity." Arch Dis Child, 2003, **88**(9): 748-752.
- RESNICK, H. E., M. I. HARRIS, D. B. BROCK and T. B. HARRIS (2000). "American Diabetes Association diabetes diagnostic criteria, advancing age, and cardiovascular disease risk profiles: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey." Diabetes Care, 2000, **23**(2): 176-180.
- RHEE, E.-J., M. H. SEO, J. D. KIM, W. S. JEON, S. E. PARK, C.-Y. PARK, et al. W.-Y. LEE (2013). "Metabolic health is more closely associated with coronary artery calcification than obesity." PLoS One, 2013, **8**(9): e74564.
- RIZZA, R., L. MANDARINO and J. GERICH (1982). "Cortisol-induced insulin resistance in man: impaired suppression of glucose production and stimulation of glucose utilization due to a postreceptor defect of insulin action." J Clin Endocrinol Metab, 1982, **54**(1): 131.
- ROBBINS, A. L. and D. B. SAVAGE (2015). "The genetics of lipid storage and human lipodystrophies." Trends in molecular medicine, 2015, **21**(7): 433-438.
- ROTHWELL, N. J. and M. J. STOCK (1997). "A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis." Obes Res, 1997, **5**(6): 650-656.
- RUBAN, A., A. D. MIRAS, M. A. GLAYSHER, A. P. GOLDSTONE, C. G. PRECHTL, N. JOHNSON, et al. J. P. TEARE (2022). "Duodenal-jejunal Bypass Liner for the management of Type 2 Diabetes Mellitus and Obesity: A Multicenter Randomized Controlled Trial." Ann Surg, 2022, **275**(3): 440-447.
- RUBERG, F. L., Z. CHEN, N. HUA, S. BIGORNIA, Z. GUO, K. HALLOCK, et al. Y. QIAO (2010). "The relationship of ectopic lipid accumulation to cardiac and vascular function in obesity and metabolic syndrome." Obesity (Silver Spring), 2010, **18**(6): 1116-1121.

- SAELY, C. H., A. LEIHERER, A. MUENDLEIN, A. VONBANK, P. REIN, K. GEIGER, et al. H. DREXEL (2016). "Coronary patients with high plasma omentin are at a higher cardiovascular risk." Data in brief, 2016, **6**: 158-161.
- SAHAKYAN, K. R., V. K. SOMERS, J. P. RODRIGUEZ-ESCUADERO and ET AL. (2015). "Normal-weight central obesity: Implications for total and cardiovascular mortality." Annals of Internal Medicine, 2015, **163**(11): 827-835.
- SÁINZ, N., J. BARRENETXE, M. J. MORENO-ALIAGA and J. A. MARTÍNEZ (2015). "Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin." Metabolism, 2015, **64**(1): 35-46.
- SALTIEL, A. R. and C. R. KAHN (2001). "Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism." Nature, 2001, **414**(6865): 799-806.
- SANGWUNG, P., K. F. PETERSEN, G. I. SHULMAN and J. W. KNOWLES (2020). "Mitochondrial Dysfunction, Insulin Resistance, and Potential Genetic Implications." Endocrinology, 2020, **161**(4).
- SHETTY, G. K., G. MATARESE, F. MAGKOS, H.-S. MOON, X. LIU, A. M. BRENNAN, et al. C. S. MANTZOROS (2011). "Leptin administration to overweight and obese subjects for six months increases free leptin concentrations but does not alter circulating hormones of the thyroid and IGF axes during weight loss induced by a mild hypocaloric diet." European journal of endocrinology/European Federation of Endocrine Societies, 2011, **165**(2): 249.
- SHIBATA, R., N. OUCHI, K. OHASHI and T. MUROHARA (2017). "The role of adipokines in cardiovascular disease." Journal of cardiology, 2017, **70**(4): 329-334.
- SHIMADA, K., T. MIYAZAKI and H. DAIDA (2004). "Adiponectin and atherosclerotic disease." Clin Chim Acta, 2004, **344**(1-2): 1-12.
- SHOU, J., L. ZHOU, S. ZHU and X. ZHANG (2015). "Diabetes is an independent risk factor for stroke recurrence in stroke patients: a meta-analysis." Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases, 2015, **24**(9): 1961-1968.
- SHULMAN, G. I. (2014). "Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease." New England Journal of Medicine, 2014, **371**(12): 1131-1141.
- SCHAUER, P. R., S. R. KASHYAP, K. WOLSKI, S. A. BRETHAUER, J. P. KIRWAN, C. E. POTHIER, et al. D. L. BHATT (2012). "Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes." N Engl J Med, 2012, **366**(17): 1567-1576.
- SJÖSTRÖM, L., K. NARBRO, C. D. SJÖSTRÖM, K. KARASON, B. LARSSON, H. WEDEL, et al. B. J. N. E. J. O. M. CARLSSON (2007). "Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects." 2007, **357**(8): 741-752.
- SKURK, T., C. ALBERTI-HUBER, C. HERDER and H. HAUNER (2007). "Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2007, **92**(3): 1023-1033.
- STEFAN, N., F. SCHICK and H.-U. HÄRING (2017). "Causes, characteristics, and consequences of metabolically unhealthy normal weight in humans." Cell Metab, 2017, **26**(2): 292-300.
- STENBERG, E., L. F. DOS REIS FALCÃO, M. O'KANE, R. LIEM, D. J. POURNARAS, P. SALMINEN, et al. A. THORELL (2022). "Correction to: Guidelines for Perioperative Care in

- Bariatric Surgery: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS) Society Recommendations: A 2021 Update." *World J Surg*, 2022, **46**(4): 752.
- SUEMATSU, N., H. TSUTSUI, J. WEN, D. KANG, M. IKEUCHI, T. IDE, et al. N. HAMASAKI (2003). "Oxidative stress mediates tumor necrosis factor- α -induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in cardiac myocytes." *Circulation*, 2003, **107**(10): 1418-1423.
- SUN, H., P. SAEEDI, S. KARURANGA, M. PINKEPANK, K. OGURTSOVA, B. B. DUNCAN, et al. C. PRACTICE (2022). "IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045." 2022, **183**: 109119.
- SUTHERLAND, L. N., L. C. CAPOZZI, N. J. TURCHINSKY, R. C. BELL and D. C. WRIGHT (2008). "Time course of high-fat diet-induced reductions in adipose tissue mitochondrial proteins: potential mechanisms and the relationship to glucose intolerance." *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2008, **295**(5): E1076-E1083.
- TAN, Y.-L., X.-L. ZHENG and C.-K. TANG (2015). "The protective functions of omentin in cardiovascular diseases." *Clinica Chimica Acta*, 2015, **448**: 98-106.
- THORELL, A., J. NYGREN and O. LJUNGQVIST (1999). "Insulin resistance: a marker of surgical stress." *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 1999, **2**(1): 69-78.
- TIEMESSEN, M. M., A. L. JAGGER, H. G. EVANS, M. J. VAN HERWIJNEN, S. JOHN and L. S. TAAMS (2007). "CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce alternative activation of human monocytes/macrophages." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, **104**(49): 19446-19451.
- TRAN, K.-V., O. GEALEKMAN, A. FRONTINI, M. C. ZINGARETTI, M. MORRONI, A. GIORDANO, et al. A. SBARBATI (2012). "The vascular endothelium of the adipose tissue gives rise to both white and brown fat cells." *Cell Metab*, 2012, **15**(2): 222-229.
- TUN, N. N., G. ARUNAGIRINATHAN, S. K. MUNSHI and J. M. PAPPACHAN (2017). "Diabetes mellitus and stroke: a clinical update." *World journal of diabetes*, 2017, **8**(6): 235.
- URBANOVÁ, M., M. MRÁZ, V. ĎUROVCOVÁ, P. TRACHTA, J. KLOUČKOVÁ, P. KAVALKOVA, et al. L. J. P. R. WENCHICH (2017). "The effect of very-low-calorie diet on mitochondrial dysfunction in subcutaneous adipose tissue and peripheral monocytes of obese subjects with type 2 diabetes mellitus." 2017, **66**(5): 811-822.
- VAIDYA, V., N. GANGAN and J. SHEEHAN (2015). "Impact of cardiovascular complications among patients with Type 2 diabetes mellitus: a systematic review." *Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research*, 2015, **15**(3): 487-497.
- VYAS, V., H. BLYTHE, E. G. WOOD, B. SANDHAR, S. J. SARKER, D. BALMFORTH, et al. M. P. LONGHI (2021). "Obesity and diabetes are major risk factors for epicardial adipose tissue inflammation." *JCI Insight*, 2021, **6**(16).
- WAJCHENBERG, B. L. (2000). "Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome." *Endocr Rev*, 2000, **21**(6): 697-738.
- WAJCHENBERG, B. L. (2000). "Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome." *Endocr Rev*, 2000, **21**(6): 697-738.
- WANG, J., J. LEE, D. LIEM and P. J. G. PING (2017). "HSPA5 Gene encoding Hsp70 chaperone BiP in the endoplasmic reticulum." 2017, **618**: 14-23.

- WANG, X., W. BAO, J. LIU, Y.-Y. OUYANG, D. WANG, S. RONG, et al. P. YAO (2013). Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes, *Am Diabetes Assoc*, 2013.
- WATFORD, W. T., B. D. HISSONG, J. H. BREEM, Y. KANNO, L. MUUL and J. J. O'SHEA (2004). "Signaling by IL-12 and IL-23 and the immunoregulatory roles of STAT4." *Immunol Rev*, 2004, **202**: 139-156.
- WEISBERG, S. P., D. MCCANN, M. DESAI, M. ROSENBAUM, R. L. LEIBEL and A. W. FERRANTE (2003). "Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue." *J Clin Invest*, 2003, **112**(12): 1796-1808.
- WENSVEEN, F. M., V. JELENCIC, S. VALENTIC, M. SESTAN, T. T. WENSVEEN, S. THEURICH, et al. B. POLIC (2015). "NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance." *Nat Immunol*, 2015, **16**(4): 376-385.
- WHO. (2021). "Diabetes fact sheet 2021." Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- WORTEL, I. M., L. T. VAN DER MEER, M. S. KILBERG, F. N. J. T. I. E. VAN LEEUWEN and METABOLISM (2017). "Surviving stress: modulation of ATF4-mediated stress responses in normal and malignant cells." 2017, **28**(11): 794-806.
- WORTIS, H. H., M. TEUTSCH, M. HIGER, J. ZHENG and D. C. PARKER (1995). "B-cell activation by crosslinking of surface IgM or ligation of CD40 involves alternative signal pathways and results in different B-cell phenotypes." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, **92**(8): 3348-3352.
- WU, J., P. BOSTRÖM, L. M. SPARKS, L. YE, J. H. CHOI, A.-H. GIANG, et al. G. SCHAART (2012). "Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human." *Cell*, 2012, **150**(2): 366-376.
- YAN, Y. X., H. B. XIAO, S. S. WANG, J. ZHAO, Y. HE, W. WANG and J. DONG (2016). "Investigation of the Relationship Between Chronic Stress and Insulin Resistance in a Chinese Population." *J Epidemiol*, 2016.
- YILMAZ YASAR, H., M. DEMIRPENCE, A. COLAK, M. ZEYTINLI, E. YASAR and A. TAYLAN (2021). "Serum neudesin levels in patients with polycystic ovary syndrome." *Ginekol Pol*, 2021.
- YUDKIN, J. S., C. STEHOUWER, J. EMEIS and S. COPPACK (1999). "C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction." *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19**(4): 972-978.
- 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*, 1994, **372**(6505): 425-432.
- ZHU, H. and H. ZHOU (2021). "Novel Insight into the Role of Endoplasmic Reticulum Stress in the Pathogenesis of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury." *Oxid Med Cell Longev*, 2021, **2021**: 5529810.
- ZOICO, E., S. RUBELE, A. DE CARO, N. NORI, G. MAZZALI, F. FANTIN, et al. M. ZAMBONI (2019). "Brown and Beige Adipose Tissue and Aging." *Frontiers in Endocrinology*, 2019, **10**.

ZUMBACH, M. S., M. W. BOEHME, P. WAHL, W. STREMMEL, R. ZIEGLER and P. P. NAWROTH (1997). "Tumor necrosis factor increases serum leptin levels in humans." J Clin Endocrinol Metab, 1997, **82**(12): 4080-4082.

14. Přílohy

14.1. 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, dne

Helena Kratochvílová

Podpis

14.2. Identifikační záznam

KRATOCHVÍLOVÁ, Helena. Molekulární mechanismy propojení dysfunkce tukové tkáně a aterosklerotických komplikací. [*Molecular mechanisms linking adipose tissue dysfunction and atherosclerotic complications*]. Praha, 2023. 112 stran, 4 přílohy. Dizertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, IKEM. Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

14.3. Seznam publikovaných článků a abstrakt

H Index = 10; počet citací = 245

Publikace vztahující se k tématu práce

Publikace v časopisech s IF:

KRATOCHVÍLOVÁ, H., MRÁZ, M., KASPEROVÁ, B.J., HLAVÁČEK, D., MAHRÍK, J., LAŇKOVÁ, I., CINKAJZLOVÁ, A., MATLOCH, Z., LACINOVÁ, Z., TRNOVSKÁ, J., IVÁK, P., NOVODVORSKÝ, P., NETUKA, I., HALUZÍK, M. Different expression of mitochondrial and endoplasmic reticulum stress genes in epicardial adipose tissue depends on coronary atherosclerosis. *International journal of molecular sciences*. 2021, **22**(9), art. no. 4538. ISSN 1661-6596. e-ISSN 1422-0067. IF 5.924.

KRATOCHVÍLOVÁ, H., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., KAVALKOVA, P., CINKAJZLOVÁ, A., TRACHTA, P., KRIZOVA, J., BENEŠ, M., DOLEZALOVA, K., FRIED, M., VLASÁKOVÁ, Z., PELIKÁNOVÁ, T., ŠPIČÁK, J., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Neudesin in obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of acute fasting and weight reducing interventions. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: Targets and therapy*. 2019, **12**(March 28), 423-430. ISSN 1178-7007. e-ISSN 1178-7007. IF 3.168.

Abstrakta přednášek/posterů:

KRATOCHVÍLOVÁ H., CINKAJZLOVÁ A., LACINOVÁ Z., KLOUČKOVÁ J., LAŇKOVÁ I., PAVLOVIČOVÁ R., ČECHOVÁ M., LIPŠ M., KOPECKÝ P., POŘÍZKA M., LINDNER J., MRÁZ M., HALUZÍK M. (2019). „Změny expresního profilu tukové a svalové tkáně u pacientů s diabetes mellitus 2. typu a ischemickou chorobou srdeční.“ DMEV – 55. Diabetologické dny. 10. -13. dubna 2019 – Luhačovice. 22: 27 (Podporováno: MZO 00023001 and RVO VFN64165).

KRATOCHVÍLOVÁ H., CINKAJZLOVÁ A., LACINOVÁ Z., KLOUČKOVÁ J., LIPŠ M., KOPECKÝ P., POŘÍZKA M., LINDNER J., MRÁZ M., HALUZÍK M. (2019). „mRNA expression profile changes in adipose tissue and muscle tissue in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease“ DIABETOLOGIA – 55th Annual Meeting of European-Association-for-the-Study-of-Diabetes (EASD), 16. – 20. září 2019 Barcelona (Supported by MZO 00023001 and RVO VFN64165).

KRATOCHVÍLOVÁ H., CINKAJZLOVÁ A., LACINOVÁ Z., KLOUČKOVÁ J., LAŇKOVÁ I., LIPŠ M., KOPECKÝ P., POŘÍZKA M., LINDNER J., MRÁZ M., HALUZÍK M. (2019). „Změny expresního profilu tukové a svalové tkáně u pacientů s diabetes mellitus 2. typu a ischemickou chorobou srdeční.“ 20. studentská vědecká konference 1. lékařské fakulty UK. 23.5.2019, sborník SVK, str.19, A205 Podporováno: MZO 00023001 and RVO VFN64165).

KRATOCHVÍLOVÁ H., CINKAJZLOVÁ A., LACINOVÁ Z., KLOUČKOVÁ J., LAŇKOVÁ I., PAVLOVIČOVÁ R., ČECHOVÁ M., LIPŠ M., KOPECKÝ P., POŘÍZKA M., LINDNER j., MRÁZ M., HALUZÍK M.: Změny expresního profilu tukové a svalové tkáně u pacientů s diabetes mellitus 2. typu a ischemickou chorobou srdeční. *Obezitologie a bariatrie* 2019, **7**. - 9. 11. 2019, Brno, str. 26 (Podporováno: MZO 00023001 and RVO VFN64165).

KRATOCHVÍLOVÁ H., CINKAJZLOVÁ A., LACINOVÁ Z., KLOUČKOVÁ J., KAVÁLKOVÁ P., LAŇKOVÁ I., ČECHOVÁ M., PAVLOVIČOVÁ R., TRACHTA P., KŘÍŽOVÁ J., ŠKRHA J., BENEŠ M., ŠPIČÁK J., VLASÁKOVÁ Z., PELIKÁNOVÁ T., MRÁZ M., HALUZÍK M. (2018). "Vliv obezity a diabetes mellitus 2. typu na sérové koncentrace a mRNA exprese neudesinu: účinek akutního a endoskopicky zaváděného duodenojejunálního bypassu " DMEV - 54. Diabetologické dny 25.4.-28.4.2018 - Luhačovice. 21: 44-45.

KRATOCHVÍLOVÁ H., CINKAJZLOVÁ A., LACINOVÁ Z., KLOUČKOVÁ J., KAVÁLKOVÁ P., LAŇKOVÁ I., ČECHOVÁ M., PAVLOVIČOVÁ R., TRACHTA P., KŘÍŽOVÁ J., ŠKRHA J., BENEŠ M., ŠPIČÁK J., DOLEŽALOVÁ K., FRIED M., VLASÁKOVÁ Z., PELIKÁNOVÁ T., MRÁZ M., HALUZÍK M. (2018) "Vliv obezity a diabetes mellitus 2. typu na sérové koncentrace a mRNA exprese neudesinu: účinek akutního hladovění a endoskopicky zaváděného duodeno-jejunálního bypassu." Obezitologie a bariatrie - 15.-17.11.2018. Plzeň.

KRATOCHVÍLOVÁ H., CINKAJZLOVÁ A., LACINOVÁ Z., KLOUČKOVÁ J., KAVÁLKOVÁ P., PAVLOVIČOVÁ R., ČECHOVÁ M., TRACHTA P., KOSÁK M., BENEŠ M., VLASÁKOVÁ Z., PELIKÁNOVÁ T., MRÁZ M., HALUZÍK M. Vliv zavedení duodeno-jejunálního bypassu na subklinický zánět u obézních pacientů s diabetes mellitus 2. Type. In *Proceedings of the DMEV – 53. Diabetologické dny, 5.-8.4.2017 – Luhačovice, 2017.*

Publikace v časopisech bez IF:

KRATOCHVÍLOVÁ, H., HRÁDKOVÁ, V., HALUZÍK, M. Molekulární mechanismy propojení dysfunkce tukové tkáně a aterosklerotických komplikací. *Československá fyziologie*. 2020, 69(2), 43-55. ISSN 1210-6313. e-ISSN 2570-9178.

KRATOCHVÍLOVÁ, H., CINKAJZLOVÁ, A., LACINOVÁ, Z., HALUZÍK, M. Tuková tkáň, zánět a metabolické komplikace obezity. *Československá fyziologie*. 2018, 67(1), 4-12. ISSN 1210-6313.

Publikace bez vztahu k tématu práce

Publikace v časopisech s IF:

ANDERLOVA, K., CINKAJZLOVÁ, A., SIMJAK, P., KLOUČKOVÁ, J., KRATOCHVÍLOVÁ, H., LACINOVÁ, Z., TOUSKOVA, V., KREJCI, H., MRÁZ, M., PARIZEK, A., HALUZÍK, M., KRSEK, M. Association between gestational diabetes mellitus and bioavailability of insulin-like growth factors and role of their binding proteins. *Growth hormone & IGF research*. 2022, 67(December), art. no. 101511. e-ISSN 1532-2238. ISSN 1096-6374. IF: 2.125 (2021).

MATLOCH, Z., MRÁZ, M., KASPEROVÁ, BJ., KRATOCHVÍLOVÁ, H., SVOBODA, P., PLEYEROVÁ, I., ROSOLOVÁ, K., NORMAN, S., HLAVÁČEK, D., MAHRÍK, J., IVÁK, P., LACINOVÁ, Z., NETUKA, I., HALUZÍK, M. Decreased Epicardial CTRP3 mRNA Levels in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Coronary Artery Disease Undergoing Elective Cardiac Surgery: A Possible Association with Coronary Atherosclerosis. *International journal of molecular sciences*. 2022, 23(17), art. no. 9988. e-ISSN 1422-0067. ISSN 1661-6596. IF: 6.208 (2021).

KLÍMOVÁ, J., MRÁZ, M., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LACINOVÁ, Z., NOVÁK, K., MICHALSKÝ, D., KVASNIČKA, J., HOLAJ, R., HALUZÍKOVÁ, D., DOLEŽALOVÁ, P.R., ZÍTEK, M., KRÁTKÁ, Z., TODOROVÁ, V., WIDIMSKÝ, J., HALUZÍK, M., ZELINKA, T., PETRÁK, O. Gene Profile of Adipose Tissue of Patients with Pheochromocytoma/Paraganglioma. *Biomedicines*. 2022, 10(3), 586. IF 6.081

TRNOVSKÁ, J., SVOBODA, P., PELANTOVA, H., KUZMA, M., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KASPEROVÁ, BJ., DVOŘÁKOVÁ, I., ROSOLOVÁ, K., MALÍNSKÁ, H., HÜTTL, M., MARKOVÁ, I., OLIYARNYK, O., MELCOVA, M., ŠKOP, V., MRÁZ, M., STEMBERKOVA-HUBACKOVA, S., HALUZÍK, M. Complex Positive Effects of SGLT-2 Inhibitor Empagliflozin in the Liver, Kidney and Adipose Tissue of Hereditary Hypertriglyceridemic Rats: Possible Contribution of Attenuation of Cell Senescence and Oxidative Stress. *International journal of molecular sciences*. 2021, 22(19), art. no. 10606. ISSN 1661-6596. e-ISSN 1422-0067. IF 5.924.

CINKAJZLOVÁ, A., ANDERLOVÁ, K., ŠIMJÁK, P., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KREJČÍ, H., PAŘÍZEK, A., MRÁZ, M., KRŠEK, M., HALUZÍK, M. Subclinical inflammation and adipose tissue lymphocytes in pregnant females with gestational diabetes mellitus. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2020, 105(11), e3892-e3902, dgaa528. ISSN 0021-972X. e-ISSN 1945-7197. IF 5.958.

JANOVSKA, P., MELENOVSKÝ, V., SVOBODOVA, M., HAVLENOVÁ, T., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, HALUZÍK, M., HOŠKOVÁ, E., PELIKÁNOVÁ, T., KAUTZNER, J., MONZO, L., JURČOVÁ, I., ADAMCOVA, K., LENKOVA, L., BURESOVA, J., ROSSMEISL, M., KUDA, O., CAJKA, T., KOPECKY, J. Dysregulation of epicardial adipose tissue in cachexia due to heart failure: the role of natriuretic peptides and cardiolipin. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 2020, 11(6), 1614-1627. ISSN 2190-5991. e-ISSN 2190-6009. IF 12.910.

PETRÁK, O., KLÍMOVÁ, J., MRÁZ, M., HALUZÍKOVÁ, D., PETRÁKOVÁ DOLEŽALOVÁ, R., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LACINOVÁ, Z., NOVÁK, K., MICHALSKÝ, D., WALDAUF, P., HOLAJ, R., WIDIMSKÝ, J., ZELINKA, T., HALUZÍK, M. Pheochromocytoma with adrenergic biochemical phenotype shows decreased GLP-1 secretion and impaired glucose tolerance. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2020, 105(6), 1878-1887. ISSN 0021-972X. e-ISSN 1945-7197. IF 5.958.

ROZSÍVALOVÁ, K., PIERZYNOVÁ, A., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LINDNER, J., LIPŠ, M., KOTULÁK, T., IVÁK, P., NETUKA, I., HALUZÍK, M., KUČERA, T. Increased Number of Mast Cells in Epicardial Adipose Tissue of Cardiac Surgery Patients With Coronary Artery Disease. *Physiological research*. 2020, 69(4), 621-631. ISSN 0862-8408. e-ISSN 1802-9973. IF 1.881.

TOMASOVA, P., CERMAKOVA, M., PELANTOVA, H., VECKA, M., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LIPS, M., LINDNER, J., IVÁK, P., NETUKA, I., SEDIVA, B., HALUZÍK, M., KUZMA, M. Lipid Profiling in Epicardial and Subcutaneous Adipose Tissue of Patients with Coronary Artery Disease. *Journal of proteome research*. 2020, 19(10), 3993-4003. ISSN 1535-3893. e-ISSN 1535-3907. IF 4.466.

ANDERLOVA, K., CINKAJZLOVÁ, A., SIMJAK, P., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LACINOVÁ, Z., KAVALKOVA, P., KREJCI, H., MRÁZ, M., PARIZEK, A., HALUZÍK, M., KRSEK, M. Insulin-like growth factor axis in pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Physiological research*. 2019, 68(5), 807-816. ISSN 0862-8408. e-ISSN 1802-9973. IF 1.881.

CINKAJZLOVÁ, A., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., KAVALKOVA, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KRIZOVA, J., TRACHTA, P., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Increased intestinal permeability in patients with short bowel syndrome is not affected by parenteral nutrition. *Physiological research*. 2019, 68(5), 817-825. ISSN 0862-8408. e-ISSN 1802-9973. IF 1.881.

HOLUBOVA, M., HRUBA, L., POPELOVA, A., BENCZE, M., PRAZIENKOVA, V., GENGLER, S., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, HALUZÍK, M., ZELEZNA, B., KUNES, J., HOLSCHER, C., MALETINSKA, L. Liraglutide and a lipidized analog of prolactin-releasing peptide show neuroprotective effects in a mouse model of beta-amyloid pathology. *Neuropharmacology*. 2019, 144(January 2019), 377-387. ISSN 0028-3908. e-ISSN 1873-7064. IF 5.250.

MRÁZ, M., CINKAJZLOVÁ, A., KLOUČKOVÁ, J., LACINOVÁ, Z., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LIPS, M., PORIZKA, M., KOPECKY, P., PIERZYNOVA, A., KUCERA, T., MELENOVSKÝ, V., STRÍŽ, I., LINDNER, J., HALUZÍK, M. Coronary artery disease is associated with an increased amount of T lymphocytes in human epicardial adipose tissue. *Mediators of inflammation* [online]. 2019, 2019(February 2019), art. no. 4075086. ISSN 0962-9351. e-ISSN 1466-1861. IF 4.711.

MRÁZ, M., CINKAJZLOVÁ, A., KLOUČKOVÁ, J., LACINOVÁ, Z., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LIPS, M., PORIZKA, M., KOPECKY, P., LINDNER, J., KOTULÁK, T., NETUKA, I., HALUZÍK, M. Dendritic cells in subcutaneous and epicardial adipose tissue of subjects with type 2 diabetes, obesity, and coronary artery disease. *Mediators of inflammation* [online]. 2019, 2019(May 9), art. no. 5481725. ISSN 0962-9351. e-ISSN 1466-1861. IF 4.711.

PIERZYNOVA, A., SRAMEK, J., CINKAJZLOVÁ, A., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LINDNER, J., HALUZÍK, M., KUCERA, T. The number and phenotype of myocardial and adipose tissue CD68+ cells is associated with cardiovascular and metabolic disease in heart surgery patients. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases*. 2019, 29(9), 946-955. ISSN 0939-4753. e-ISSN 1590-3729. IF 4.222.

TOMASOVA, P., CERMAKOVA, M., PELANTOVA, H., VECKA, M., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LIPS, M., LINDNER, J., SEDIVA, B., HALUZÍK, M., KUZMA, M. Minor lipids profiling in subcutaneous and epicardial fat tissue using LC/MS with an optimized preanalytical phase. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. 2019, 1113(April 15), 50-59. ISSN 1570-0232. e-ISSN 1873-376X. IF 3.205.

CINKAJZLOVÁ, A., MRÁZ, M., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., KAVALKOVA, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, TRACHTA, P., KRIZOVA, J., HALUZIKOVA, D., SKRHA, J., PAPEZOVA, H., HALUZÍK, M. Angiopoietin-like protein 3 and 4 in obesity, type 2 diabetes mellitus, and malnutrition: the effect of weight reduction and realimentation. *Nutrition and diabetes* [online]. 2018, 8(April), art. no. 21. ISSN 2044-4052. IF 5.097.

HALUZÍK, M., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, HALUZIKOVA, D., MRÁZ, M. Gut as an emerging organ for the treatment of diabetes: focus on mechanism of action of bariatric and endoscopic interventions. *Journal of endocrinology*. 2018, 237(1), R1-R17. ISSN 0022-0795. e-ISSN 1479-6805. IF 4.286.

MATLOCH, Z., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, CINKAJZLOVÁ, A., LIPS, M., KOPECKY, P., PORIZKA, M., HALUZIKOVA, D., LINDNER, J., MRÁZ, M., KLOUČKOVÁ, J., LACINOVÁ, Z., HALUZÍK, M. Changes in omentin levels and its mRNA expression in epicardial adipose tissue in patients undergoing elective cardiac surgery: the influence of type 2 diabetes and coronary heart disease. *Physiological research*. 2018, 67(6), 881-890. ISSN 0862-8408. IF 1.881.

SIMJAK, P., CINKAJZLOVÁ, A., ANDERLOVA, K., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LACINOVÁ, Z., KAVALKOVA, P., KREJCI, H., MRÁZ, M., PARIZEK, A., KRSEK, M., HALUZÍK, M. Changes in plasma concentrations and mRNA expression of hepatokines fetuin A, fetuin B and FGF21 in physiological pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Physiological research*. 2018, 67(Supplement 3), S531-S542. ISSN 0862-8408. IF 1.881.

Abstrakta přednášek/posterů:

TRNOVSKÁ, J., SVOBODA, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KASPEROVÁ, BJ., DVOŘÁKOVÁ, I., ROSOLOVÁ, K., MRÁZ, M., VACUROVÁ, E., ŠTEMBERKOVÁ-HUBÁČKOVÁ, S., NEUŽIL, J., HALUZÍK, M. Mitochondriálně cílený tamoxifen zlepšuje poruchy metabolismu spojené s obezitou a diabetem u myšího modelu. Poster. *Obezitologie a bariatricie 2021*. virtuální. 25.11.2021 - 26.11.2021. Zorg. Česká obezitologická společnost. In: *Obezitologie a bariatricie 2021: abstrakty*. Praha: Galén, 2021, s. 45-46. ISBN 978-80-908428-0-9.

TRNOVSKÁ, J., SVOBODA, P., PELANTOVÁ, H., KUZMA, M., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KASPEROVÁ, BJ., DVOŘÁKOVÁ, I., ROSOLOVÁ, K., MALÍNSKÁ, H., HÜTTL, M., MARKOVÁ, I., OLIYARNYK, O., MELČOVÁ, M., ŠKOP, V., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Vliv SGLT-2 inhibitoru empagliflozinu na tělesnou hmotnost, metabolismus tukové tkáně a markery buněčné senescence u experimentálního modelu metabolického syndromu. Poster. *Obezitologie a bariatricie 2021*. virtuální. 25.11.2021 - 26.11.2021. Zorg. Česká obezitologická společnost. In: *Obezitologie a bariatricie 2021: abstrakty*. Praha: Galén, 2021, s. 46. ISBN 978-80-908428-0-9.

HRÁDKOVÁ, V., KASALICKÝ, M., RAJNOCHOVÁ BLOUDÍČKOVÁ, S., LAŇKOVÁ, I., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, MRÁZ, M., DVOŘÁKOVÁ, K., SLABÁ, Š., MENDEL, J., VIKLICKÝ, O., FRONĚK, J., HALUZÍK, M. Laparoskopická sleeve gastrektomie jako bridging k transplantaci ledviny. *56. diabetologické dny [online]*. Luhačovice, CZ, 22.10.2020 - 24.10.2020. Zorg. Česká diabetologická společnost. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2020, 23(suppl. 1), 13-14. ISSN 1211-9326.

HRÁDKOVÁ, V., KASALICKÝ, M., RAJNOCHOVÁ BLOUDÍČKOVÁ, S., LAŇKOVÁ, I., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, MRÁZ, M., DVOŘÁKOVÁ, K., SLABÁ, Š., MENDEL, J., VIKLICKÝ, O., FRONĚK, J., HALUZÍK, M. Laparoscopic Sleeve Gastrectomy as Bridge to Kidney Transplantation: Pilot Study in Subjects with Renal Failure and Obesity. Poster. *80th Scientific Sessions ADA*. 12.06.2020 - 16.06.2020. Zorg. American Diabetes Association. *Diabetes*. 2020, 69(Supplement 1), abstr. no. 1982-P. ISSN 0012-1797.

KRATOCHVÍLOVÁ, H., KASPEROVÁ, BJ., LACINOVÁ, Z., LAŇKOVÁ, I., PAVLOVIČOVÁ, R., ČECHOVÁ, M., TRNOVSKÁ, J., NETUKA, I., IVÁK, P., MAHRÍK, J., HLAVÁČEK, D., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. CTRP3, nový adipokin s protizánětlivými a kardioprotektivními vlastnostmi u pacientů s kardiovaskulárním postižením a diabetes mellitus 2. typu. *56. diabetologické dny [online]*. Luhačovice, CZ, 22.10.2020 - 24.10.2020. Zorg. Česká diabetologická společnost. *Diabetologie – Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2020, **23**(suppl. 1), 15-16. ISSN 1211-9326.

KRATOCHVÍLOVÁ, H., KASPEROVÁ, BJ., LACINOVÁ, Z., LAŇKOVÁ, I., TRNOVSKÁ, J., NETUKA, I., IVÁK, P., MAHRÍK, J., HLAVÁČEK, D., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Ctrp3, a new anti-inflammatory and cardioprotective adipokine in patients with cardiovascular diseases and type 2 diabetes. Poster. *56th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)*. online, 21.09.2020 - 25.09.2020. Zorg. European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*. 2020, **63**(Supplement 1), S255-S255, abstr. no. 531. ISSN 0012-186X. e-ISSN 1432-0428.

KRATOCHVÍLOVÁ, H., KASPEROVÁ, BJ., LACINOVÁ, Z., LAŇKOVÁ, I., TRNOVSKÁ, J., NETUKA, I., IVÁK, P., MAHRÍK, J., HLAVÁČEK, D., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. CTRP3, a Novel Adipokine with Anti-inflammatory and Cardioprotective Properties, in Patients with Cardiovascular Diseases and Type 2 Diabetes Mellitus. *80th Scientific Sessions ADA*. 12.06.2020 - 16.06.2020. Zorg. American Diabetes Association. *Diabetes*. 2020, **69**(Supplement 1), abstr. no. 91-OR. ISSN 0012-1797.

MRÁZ, M., LEVY, B., LAŇKOVÁ, I., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, CINKAJZLOVÁ, A., BENEŠ, M., KORNER, J., VLASÁKOVÁ, Z., ŠPIČÁK, J., PELIKÁNOVÁ, T., HALUZÍK, M. Endoscopic duodenal submucosal laser ablation for the treatment of type 2 diabetes mellitus - results of first-in-human pilot study. *13th International Conference On Advanced Technologies & Treatments For Diabetes (ATTD)*. Madrid, ES, 19.02.2020 - 22.02.2020. Zorg. Kenes Group. *Diabetes technology and therapeutics*. 2020, **22**(Supplement 1), A206-A206, abstr. no. ID 818. ISSN 1520-9156. e-ISSN 1557-8593.

PIERZYNOVA, A., SRAMEK, J., KUCERA, T., CINKAJZLOVÁ, A., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, HALUZÍK, M., LINDNER, J. Myocardial and adipose tissue macrophage populations and crown-like structures are associated with cardiovascular and metabolic disease in heart surgery human patients. *19. Congress Abstracts International Federation of Associations of Anatomists*. London, 09.08.2019 - 11.08.2019. *Journal of Anatomy*. 2020, **236**(Supplement 1), 179-179. ISSN 0021-8782. e-ISSN 1469-7580.

SVOBODA, P., DAVIDOVÁ, E., TRNOVSKÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, MELČOVÁ, M., MRÁZ, M., HUBÁČKOVÁ, S., NEUŽIL, J., HALUZÍK, M. Mitochondriálně cílený tamoxifen inhibuje in vitro adipogenezi. *56. diabetologické dny [online]*. Luhačovice, CZ, 22.10.2020 - 24.10.2020. Zorg. Česká diabetologická společnost. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2020, **23**(suppl. 1), 21. ISSN 1211-9326.

TRNOVSKÁ, J., DAVIDOVA, E., SVOBODA, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, MRÁZ, M., HUBACKOVA, S., NEUZIL, J., HALUZÍK, M. Mitochondrially Targeted Tamoxifen Improves Diet-Induced Obesity and Diabetes and Reduces Adipose Tissue Senescence in Experimental Mice. *80th Scientific Sessions ADA*. 12.06.2020 - 16.06.2020. *Diabetes*. 2020, **69**(Supplement 1), abstr. no. 179-OR. ISSN 0012-1797.

TRNOVSKÁ, J., DAVIDOVÁ, E., SVOBODA, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, MRÁZ, M., HUBÁČKOVÁ, S., NEUŽIL, J., HALUZÍK, M. Mitochondriálně cílený tamoxifen zlepšuje poruchy metabolismu spjené s obezitou a diabetem u myšího modelu. 56. diabetologické dny [online]. Luhačovice, CZ, 22.10.2020 - 24.10.2020. Zorg. Česká diabetologická společnost. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2020, 23(suppl. 1), 24. ISSN 1211-9326.

TRNOVSKÁ, J., DAVIDOVA, E., SVOBODA, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, MRÁZ, M., HUBACKOVA, S., NEUZIL, J., HALUZÍK, M. Mitochondrially targeted tamoxifen improves diet-induced obesity and diabetes and reduces adipose tissue senescence in experimental mice. Poster. 56th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). 21.09.2020 - 25.09.2020. Zorg. European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*. 2020, 63(Supplement 1), S249-S249, abstr. no. 518. ISSN 0012-186X. e-ISSN 1432-0428.

KŘÍŽOVÁ, J., TRACHTA, P., CINKAJZLOVÁ, A., MRÁZ, M., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KOTRLÍKOVÁ, E., HALUZÍK, M. Angiopietin-like protein 3 a 4 u malnutričních pacientů, nemocných s DM 2. typu a obezitou: vliv realimentace a redukce hmotnosti. XXXIV. mezinárodní kongres SKVIMP: doporučené postupy v klinické výživě - přínosy a úskalí. Hradec Králové, CZ. 05.04.2018 - 07.04.2018. In: *Správnou výživou k zotavení: věda, důkazy a praxe*. Plzeň: Euroverlag, 2019, s. 77. ISBN 978-80-7177-928-5.

MRÁZ, M., MARCOVITCH, I., LAŇKOVÁ, I., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, CINKAJZLOVÁ, A., BENEŠ, M., KORNER, J., VLASÁKOVÁ, Z., ŠPIČÁK, J., PELIKÁNOVÁ, T., HALUZÍK, M. Endoscopic duodenal submucosal laser ablation for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Results of First-in-Human Pilot Study. *ADA 2019. 79th Scientific Session*. San Francisco, US. 08.06.2019 - 10.06.2019. Zorg. American Diabetes Association. In: *ADA 2019. 79th Scientific Session: abstracts [online]*. Alexandria: American Diabetes Association, 2019, s. 1131-P.

MRÁZ, M., LEVY, B., LAŇKOVÁ, I., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, CINKAJZLOVÁ, A., BENEŠ, M., KORNER, J., VLASÁKOVÁ, Z., ŠPIČÁK, J., PELIKÁNOVÁ, T., HALUZÍK, M. Endoscopic duodenal submucosal laser ablation for the treatment of type 2 diabetes: results of first-in-human pilot study. 55th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Barcelona, ES, 16.09.2019 - 20.09.2019. *Diabetologia*. 2019, 62(Supplement 1), S390-S391, abstr. no. 804. ISSN 0012-186X. e-ISSN 1432-0428.

MRÁZ, M., MARCOVITCH, I., LAŇKOVÁ, I., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, CINKAJZLOVÁ, A., BENEŠ, M., KORNER, J., VLASÁKOVÁ, Z., ŠPIČÁK, J., PELIKÁNOVÁ, T., HALUZÍK, M. Endoscopic duodenal submucosal laser ablation for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Results of First-in-Human Pilot Study. *ADA 2019. 79th Scientific Session*. San Francisco, US, 07.06.2019 - 11.06.2019. Zorg. American Diabetes Association. *Diabetes*. 2019, 68(Supplement 1), abstr. no. 1131-P. ISSN 0012-1797. e-ISSN 1939-327X.

MRÁZ, M., MARCOVITCH, I., LAŇKOVÁ, I., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, CINKAJZLOVÁ, A., BENEŠ, M., VLASÁKOVÁ, Z., ŠPIČÁK, J., PELIKÁNOVÁ, T., HALUZÍK, M. Endoskopická laserová ablace duodenálních submukózních plexů (DiaGone™) v léčbě diabetes mellitus 2. typu – pilotní výsledky. *55. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 10.04.2019 - 13.04.2019. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2019, **22**(Suppl. 1), 30. ISSN 1211-9326.

TRNOVSKÁ, J., HÜTTL, M., MARKOVÁ, I., OLIYARNYK, O., MALÍNSKÁ, H., MIKLÁNKOVÁ, D., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, SVOBODA, P., CINKAJZLOVÁ, A., LAŇKOVÁ, I., HALUZÍK, M. Srovnání vlivu SGLT inhibitorů na metabolické parametry a inzulinovou senzitivitu u zvířecího modelu metabolického syndromu. *55. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 10.04.2019 - 13.04.2019. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2019, **22**(Suppl. 1), 34. ISSN 1211-9326.

TRNOVSKÁ, J., HÜTTL, M., MARKOVÁ, I., OLIYARNYK, O., MALÍNSKÁ, H., MIKLÁNKOVÁ, D., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, SVOBODA, P., LAŇKOVÁ, I., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Comparison of SGLT inhibitors in an animal model of metabolic syndrome: effect on metabolic parameters and insulin sensitivity. *55th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)*. Barcelona, ES, 16.09.2019 - 20.09.2019. Zorg. European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*. 2019, **62**(Supplement 1), S235, abstr. no. 481. ISSN 0012-186X. e-ISSN 1432-0428.

TRNOVSKÁ, J., HÜTTL, M., MARKOVÁ, I., OLIYARNYK, O., MALÍNSKÁ, H., MIKLÁNKOVÁ, D., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, SVOBODA, P., CINKAJZLOVÁ, A., LAŇKOVÁ, I., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Comparison of the Effects of Three SGLT2 Inhibitors on Metabolic Parameters and Insulin Sensitivity in a Nondiabetic Rat Model of Metabolic Syndrome. *ADA 2019. 79th Scientific Session*. San Francisco, US, 07.06.2019 - 11.06.2019. Zorg. American Diabetes Association. *Diabetes*. 2019, **68**(Supplement 1), abstr. no. 1962-P. ISSN 0012-1797. e-ISSN 1939-327X.

ANDERLOVÁ, K., SIMJAK, P., CINKAJZLOVÁ, A., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LACINOVÁ, Z., KAVÁLKOVÁ, P., KREJCI, H., MRÁZ, M., HALUZÍK, M., KRSEK, M. IGFs and IGF-binding proteins in pregnancy and gestational diabetes mellitus. Poster. *78th Scientific Sessions of the American Diabetes Association*. Orlando, US, 21.06.2018 - 26.06.2018. Zorg. American Diabetes Association. *Diabetes*. 2018, **67**(Suppl. 1), A379, abstr. no. 1412-P. ISSN 0012-1797.

CINKAJZLOVÁ, A., ANDERLOVA, K., SIMJAK, P., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KREJCI, H., PARIZEK, A., MRÁZ, M., KRSEK, M., HALUZÍK, M. Association of gestational diabetes with low-grade inflammation and lymphocyte populations in subcutaneous and visceral adipose tissue. *54th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)*. Berlin, DE, 01.10.2018 - 05.10.2018. Zorg. European-Association-for-the-Study-of-Diabetes. *Diabetologia*. 2018, **61**(Supplement 1), S460-S461, abstr. no. 435. ISSN 0012-186X. e-ISSN 1432-0428.

CINKAJZLOVÁ, A., ANDERLOVÁ, K., ŠIMJÁK, P., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, ČECHOVÁ, M., PAVLOVIČOVÁ, R., KREJČÍ, H., MRÁZ, M., PAŘÍZEK, A., KRŠEK, M., HALUZÍK, M. Subklinický zánět a zastoupení lymfocytů v podkožní a viscerální tukové tkáni: vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus. *54. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 25.04.2018 - 28.04.2018. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2018, **21**(Suppl. 1), 19. ISSN 1211-9326.

CINKAJZLOVÁ, A., ANDERLOVÁ, K., SIMJAK, P., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KREJCI, H., MRÁZ, M., HALUZÍK, M., KRSEK, M. Subclinical inflammation and lymphocytes in subcutaneous and visceral adipose tissue - the influence of pregnancy and gestational diabetes mellitus. Poster. *78th Scientific Sessions of the American Diabetes Association*. Orlando, US, 21.06.2018 - 26.06.2018. Zorg. American Diabetes Association. *Diabetes*. 2018, **67**(Suppl. 1), A379, abstr. no. 1413-P. ISSN 0012-1797.

MRÁZ, M., HARANT, K., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, CINKAJZLOVÁ, A., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., LACINOVÁ, Z., BENEŠ, M., VLASÁKOVÁ, Z., DOLEŽALOVÁ, K., FRIED, M., PELIKÁNOVÁ, T., HALUZÍK, M. The influence of metabolic surgery and endoscopy on serum proteome in subject with obesity and type 2 diabetes mellitus. Poster. *78th Scientific Sessions of the American Diabetes Association*. Orlando, US, 21.06.2018 - 26.06.2018. Zorg. American Diabetes Association. *Diabetes*. 2018, **67**(Suppl. 1), A520, abstr. no. 1974-P. ISSN 0012-1797.

MRÁZ, M., CINKAJZLOVÁ, A., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LIPS, M., KOPECKY, P., PORIZKA, M., LINDER, J., HALUZÍK, M. The role of epicardial adipose tissue lymphocytes in low-grade inflammation and coronary artery disease. Poster. *78th Scientific Sessions of the American Diabetes Association*. Orlando, US, 21.06.2018 - 26.06.2018. Zorg. American Diabetes Association. *Diabetes*. 2018, **67**(Suppl. 1), A125, abstr. no. 469-P. ISSN 0012-1797.

MRÁZ, M., CINKAJZLOVÁ, A., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, PAVLOVIČOVÁ, R., ČECHOVÁ, M., LIPŠ, M., KOPECKÝ, P., POŘÍZKA, M., LINDER, J., HALUZÍK, M. Vztah lymfocytů epikardiální tukové tkáně k ischemické chorobě srdeční u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu. *54. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 25.04.2018 - 28.04.2018. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2018, **21**(Suppl. 1), 25. ISSN 1211-9326.

MRÁZ, M., HARANT, K., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, CINKAJZLOVÁ, A., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., LACINOVÁ, Z., BENEŠ, M., VLASÁKOVÁ, Z., DOLEŽALOVÁ, K., FRIED, M., PELIKÁNOVÁ, T., HALUZÍK, M. Vliv chirurgických a endoskopických metabolických intervencí na sérový proteom u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu. *54. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 25.04.2018 - 28.04.2018. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2018, **21**(Suppl. 1), 25-26. ISSN 1211-9326.

CINKAJZLOVÁ, A., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, KRIZOVA, J., DOLEZALOVA, K., FRIED, M., BENEŠ, M., VLASÁKOVÁ, Z., PELIKÁNOVÁ, T., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Circulating lipopolysaccharide and gut permeability in obese subjects with type 2 diabetes: the influence of surgical and endoscopic interventions. *53rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)*. Lisbon, PT, 11.09.2017 - 15.09.2017. Zorg. European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*. 2017, **60**(Supplement 1), S281, abstr. no. 618. ISSN 0012-186X. e-ISSN 1432-0428.

CINKAJZLOVÁ, A., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, ČECHOVÁ, M., PAVLOVIČOVÁ, R., TRACHTA, P., KŘÍŽOVÁ, J., DOLEŽALOVÁ, K., FRIED, M., BENEŠ, M., VLASÁKOVÁ, Z., PELIKÁNOVÁ, T., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Lipopolysaccharid vázající protein a intestinální izoforma proteinu vázajícího mastné kyseliny: efekt plikace žaludku a implantace duodenojejunálního rukávu v kontextu systémového a lokálního zánětu tukové tkáně. *53. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 05.04.2017 - 08.04.2017. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2017, **20**(Suppl. 1), 18-19. ISSN 1211-9326.

CINKAJZLOVÁ, A., LACINOVÁ, Z., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, TRACHTA, P., KRIZOVA, J., DOLEZALOVA, K., FRIED, M., BENEŠ, M., VLASÁKOVÁ, Z., PELIKÁNOVÁ, T., MRÁZ, M., HALUZÍK, M. Gastric Plication and Duodenal-jejunal Bypass Liner Implantation Reduce Systemic and Adipose Tissue Inflammation without Affecting Circulating Lipopolysaccharide Levels In Obese Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. Poster. *77th Scientific Sessions of the American Diabetes Association*. San Diego, US, 09.06.2017 - 13.06.2017. *Diabetes*. 2017, **66**(Supplement 1), A564-A564, abstr. no 2151-P. ISSN 0012-1797.

KLOUČKOVÁ, J., MRÁZ, M., KAVÁLKOVÁ, P., CINKAJZLOVÁ, A., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, TRACHTA, P., KŘÍŽOVÁ, J., LACINOVÁ, Z., HALUZÍK, M. Exenatid zlepšuje prozánětlivý expresivní profil v periferních monocytech u pacientů s diabetes mellitus 2. typu. *53. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 05.04.2017 - 08.04.2017. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2017, **20**(Suppl. 1), 24. ISSN 1211-9326.

KLOUČKOVÁ, J., MRÁZ, M., KAVÁLKOVÁ, P., CINKAJZLOVÁ, A., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LACINOVÁ, Z., HALUZÍK, M. Exenatide Ameliorates Proinflammatory Expression Profile in Peripheral Monocytes of Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. Poster. *77th Scientific Sessions of the American Diabetes Association*. San Diego, US, 09.06.2017 - 13.06.2017. *Diabetes*. 2017, **66**(Supplement 1), A309-A309, abstr. no. 1159-P. ISSN 0012-1797.

MRÁZ, M., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., CINKAJZLOVÁ, A., **KRATOCHVÍLOVÁ, H.**, LACINOVÁ, Z., SRAMKOVA, P., DOLEZALOVA, K., FRIED, M., HALUZÍK, M. The Effect of Jejunal Diversion, a Novel Malabsorptive Procedure, on Weight Reduction and Metabolic Control in Obese Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. Poster. *77th Scientific Sessions of the American Diabetes Association*. San Diego, US, 09.06.2017 - 13.06.2017. *Diabetes*. 2017, **66**(Supplement 1), A563-A563, abstr. no. 2147-P. ISSN 0012-1797.

MRÁZ, M., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., CINKAJZLOVÁ, A., KRATOCHVÍLOVÁ, H., LACINOVÁ, Z., SRAMKOVA, P., DOLEŽALOVA, K., FRIED, M., HALUZÍK, M. Jejunal diversion, a novel malabsorbitive procedure, improves metabolic control and augments the incretin effect in obese subjects with type 2 diabetes. *53rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)*. Lisbon, PT, 11.09.2017 - 15.09.2017. Zorg. European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*. 2017, **60**(Supplement 1), S397-S398, 859. ISSN 0012-186X. e-ISSN 1432-0428.

MRÁZ, M., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., CINKAJZLOVÁ, A., KRATOCHVÍLOVÁ, H., LACINOVÁ, Z., DOLEŽALOVÁ, K., FRIED, M., KAČER, P., HALUZÍK, M. FAHFAs, nové lipidy s antidiabetickým účinkem, u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu: vliv metabolické chirurgie. *53. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 05.04.2017 - 08.04.2017. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2017, **20**(Suppl. 1), 28. ISSN 1211-9326.

MRÁZ, M., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., CINKAJZLOVÁ, A., KRATOCHVÍLOVÁ, H., LACINOVÁ, Z., DOLEŽALOVA, K., FRIED, M., KAČER, P., HALUZÍK, M. FAHFAs, Novel Antidiabetic Lipids, in Subjects with Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus: The Influence of Metabolic Surgery. Poster. *77th Scientific Sessions of the American Diabetes Association*. San Diego, US, 09.06.2017 - 13.06.2017. *Diabetes*. 2017, **66**(Supplement 1), A538-A539, abstr. no. 2044-P. ISSN 0012-1797.

MRÁZ, M., KLOUČKOVÁ, J., KAVÁLKOVÁ, P., CINKAJZLOVÁ, A., KRATOCHVÍLOVÁ, H., LACINOVÁ, Z., ČECHOVÁ, M., PAVLOVIČOVÁ, R., ŠRÁMKOVÁ, P., DOLEŽALOVÁ, K., FRIED, M., HALUZÍK, M. Efekt jejunální diverze, nového typu malabsorpční operace, na redukci hmotnosti a metabolickou kompenzaci u obézních pacientů s diabetes mellitus 2. typu. *53. diabetologické dny*. Luhačovice, CZ, 05.04.2017 - 08.04.2017. Zorg. Česká diabetologická společnost ČLS JEP. *Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa*. 2017, **20**(Suppl. 1), 28-29. ISSN 1211-9326.

14.4. Plné verze publikovaných článků tvořící podklad dizertační práce

Article

Different Expression of Mitochondrial and Endoplasmic Reticulum Stress Genes in Epicardial Adipose Tissue Depends on Coronary Atherosclerosis

Helena Kratochvílová^{1,2}, Miloš Mráz^{2,3}, Barbora J. Kasperová³, Daniel Hlaváček⁴, Jakub Mahřík⁵, Ivana Laňková³, Anna Cinkajzlová^{1,2}, Zdeněk Matloch⁶, Zdeňka Lacinová^{1,2}, Jaroslava Trnovská¹, Peter Ivák⁴, Peter Novodvorský^{1,3,7}, Ivan Netuka⁴ and Martin Haluzík^{1,2,3,*}

- ¹ Centre for Experimental Medicine, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videňská 1958, 140 21 Prague 4, Czech Republic; krth@ikem.cz (H.K.); AnnaCinkajzlova@seznam.cz (A.C.); lacz@ikem.cz (Z.L.); troj@ikem.cz (J.T.); p.novodvorsky@sheffield.ac.uk (P.N.)
- ² First Faculty of Medicine, Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Charles University and General University Hospital, U Nemocnice 499/2, 128 08 Nové Město, Prague, Czech Republic; mrzm@ikem.cz
- ³ Department of Diabetes, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videňská 1958, 140 21 Prague 4, Czech Republic; kapb@ikem.cz (B.J.K.); laki@ikem.cz (I.L.)
- ⁴ Department of Cardiac Surgery, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videňská 1958, 140 21 Prague 4, Czech Republic; hlada@ikem.cz (D.H.); ivap@ikem.cz (P.I.); ivne@ikem.cz (I.N.)
- ⁵ Department of Anesthesia and Resuscitation, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videňská 1958, 140 21 Prague 4, Czech Republic; mawj@ikem.cz
- ⁶ Shackleton Department of Anaesthesia UHS NHS UK, Southampton General Hospital, Southampton SO14, UK; zmatloch@yahoo.com
- ⁷ Department of Oncology & Metabolism, University of Sheffield, Sheffield S0114, UK
- * Correspondence: halm@ikem.cz; Tel.: +42-03-605-4108; Fax: +42-02-2496-5719



Citation: Kratochvílová, H.; Mráz, M.; Kasperová, B.J.; Hlaváček, D.; Mahřík, J.; Laňková, I.; Cinkajzlová, A.; Matloch, Z.; Lacinová, Z.; Trnovská, J.; et al. Different Expression of Mitochondrial and Endoplasmic Reticulum Stress Genes in Epicardial Adipose Tissue Depends on Coronary Atherosclerosis. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 4538. <https://doi.org/10.3390/ijms22094538>

Academic Editor: Anastasios Lympereopoulos

Received: 26 March 2021

Accepted: 22 April 2021

Published: 26 April 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The aim of our study was to analyze mitochondrial and endoplasmic reticulum (ER) gene expression profiles in subcutaneous (SAT) and epicardial (EAT) adipose tissue, skeletal muscle, and myocardium in patients with and without CAD undergoing elective cardiac surgery. Thirty-eight patients, 27 with (CAD group) and 11 without CAD (noCAD group), undergoing coronary artery bypass grafting and/or valvular surgery were included in the study. EAT, SAT, intercostal skeletal muscle, and right atrium tissue and blood samples were collected at the start and end of surgery; mRNA expression of selected mitochondrial and ER stress genes was assessed using qRT-PCR. The presence of CAD was associated with decreased mRNA expression of most of the investigated mitochondrial respiratory chain genes in EAT, while no such changes were seen in SAT or other tissues. In contrast, the expression of ER stress genes did not differ between the CAD and noCAD groups in almost any tissue. Cardiac surgery further augmented mitochondrial dysfunction in EAT. In our study, CAD was associated with decreased expression of mitochondrial, but not endoplasmic reticulum stress genes in EAT. These changes may contribute to the acceleration of coronary atherosclerosis.

Keywords: coronary artery disease; epicardial fat; mitochondrial dysfunction; endoplasmic reticulum stress; gene expression; diabetes mellitus; inflammation; cardiac surgery

1. Introduction

Cardiovascular diseases are the most common cause of death worldwide [1]. The rising prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and obesity worldwide is significantly contributing to increased cardiovascular risk. Both disorders are closely interconnected with other diseases, such as arterial hypertension and hyperlipidemia, leading to the development of atherosclerosis and myocardial ischemia due to coronary artery disease (CAD).

A close association between CAD and the quality, volume, and overall layout of adipose tissue is well-established [2]. Yet, not all adipose tissue compartments play an equally important role in the development of CAD. It is, in particular, the epicardial adipose tissue depot, localized in the vicinity of coronary arteries and producing a vast array of endocrine- and paracrine-acting adipo-, cyto-, and chemokines and other factors, that seems to be primarily involved in coronary atherosclerosis and the development of not only CAD, but also other cardiac pathologies [3–6].

Mitochondrial metabolism is an essential component of cellular energetic homeostasis, and its derangements play an important role in a number of diseases, including obesity, T2DM, and CAD. The amount of energy in the form of adenosine triphosphate (ATP) depends on the expression of genes in each of the four main enzymatic complexes [7]. Obese patients with insulin resistance and with T2DM were found to have reduced expression of mitochondrial complexes [8]. Decreased expression of mitochondrial membrane proteins was also detected in patients with heart failure, highlighting the importance of mitochondrial function for myocardial remodeling [9].

Mitochondrial oxidative stress coexists with endoplasmic reticulum (ER) stress [10]. ER stress is an evolutionary conserved mechanism of mammalian cells closely connected with different pathologies, including inflammation, atherosclerosis, heart failure, obesity, and T2DM [11,12]. The main functions of ER are protein synthesis and folding, quality control and secretion of proteins, synthesis of fatty acids and phospholipids, assembly of lipid barriers, and metabolism of saccharides [12]. A large number of different signaling pathways from the ER are able to initiate modulations of organism homeostasis. Mutations of genes important for the correct function of ER or changes in their mRNA expression can lead to ER stress and subsequent disorders [13,14].

Whether and how ER and mitochondrial stress interact is unknown. Their occurrence in epicardial adipose tissue and potential contribution to coronary atherosclerosis remain largely unexplored. Based on the prevalence of both ER and mitochondrial dysfunction in subcutaneous and visceral adipose tissue in obesity, T2DM, and CAD, as well as the recently suggested importance of epicardial adipose tissue in coronary atherosclerosis, we hypothesized that both mitochondrial and ER stress will be present in EAT of patients with CAD. To this end, we performed a comparison of mRNA expression of selected mitochondrial and ER genes in subcutaneous and epicardial adipose tissue, skeletal muscle, and right atrial myocardium in subjects undergoing elective cardiac surgery with and without established CAD.

2. Results

2.1. Anthropometric and Biochemical Characteristics

At baseline, no differences between the CAD and noCAD groups in any of anthropometric characteristics were present, including age, weight, height, BMI, and waist and hip circumference, except for greater epicardial adipose tissue thickness in patients with CAD (Table 1). Additionally, patients with CAD had a higher prevalence of T2DM, arterial hypertension, and dyslipidemia, as well as increased fasting blood glucose and HbA_{1c} compared to the noCAD group, while showing no difference in serum insulin, C-peptide, or lipid parameters (Table 1).

Table 1. Baseline characteristics of study subjects. Normally distributed data are shown as the mean \pm SEM. Non-parametric data are shown as the median (interquartile range). Statistical significance is from an unpaired *t*-test; *p* < 0.05 vs. no CAD, statistically significant comparisons are highlighted in bold.

| Group | noCAD | CAD | P |
|--------------------------------------|------------------|------------------|-------|
| No. of subjects (f/m) | 11 (3/8) | 27 (5/22) | x |
| Age (year) | 59.8 \pm 4.8 | 67.6 \pm 1.65 | 0.421 |
| Weight (kg) | 80.5 \pm 3.98 | 87.7 \pm 3.07 | 0.193 |
| Height (cm) | 172 \pm 3.09 | 175 \pm 1.55 | 0.348 |
| Body mass index (kg/m ²) | 27.1 \pm 0.96 | 28.6 \pm 0.91 | 0.339 |
| Waist circumference (cm) | 99.2 \pm 3.53 | 104 \pm 2.42 | 0.332 |
| Hip circumference (cm) | 102 \pm 3.08 | 107 \pm 1.51 | 0.149 |
| Waist/hip ratio | 0.96 \pm 0.01 | 0.96 \pm 0.02 | 0.872 |
| Epicardial adipose tissue (mm) | 3.00 (2.00–3.00) | 4.00 (3.00–4.00) | 0.014 |
| Total cholesterol (mmol/L) | 4.12 \pm 0.29 | 3.76 \pm 0.18 | 0.237 |
| Triglycerides (mmol/L) | 1.33 \pm 0.16 | 1.45 \pm 0.18 | 1 |
| LDL cholesterol (mmol/L) | 2.36 \pm 0.24 | 1.99 \pm 0.14 | 0.163 |
| HDL cholesterol (mmol/L) | 1.25 \pm 0.12 | 1.15 \pm 0.09 | 0.126 |
| Fasting glucose (mmol/L) | 5.4 \pm 0.17 | 6.76 \pm 0.33 | 0.011 |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 35.4 \pm 1.18 | 43.6 \pm 1.98 | 0.012 |
| Insulin (μ IU/mL) | 18.4 (14.4–20.2) | 24.2 (16.7–37.5) | 0.095 |
| C-peptide (ng/mL) | 2.76 \pm 0.32 | 3.05 \pm 0.22 | 0.497 |
| T2DM (n, %) | 0 (0%) | 10 (37.0%) | 0.021 |
| Arterial hypertension (n, %) | 7 (63.6%) | 26 (96.3%) | 0.008 |
| Dyslipidemia (n, %) | 6 (54.5%) | 26 (96.3%) | 0.002 |

CAD, coronary artery disease; T2DM, type 2 diabetes mellitus; f, female; m, male.

2.2. Mitochondrial and Endoplasmic Reticulum Stress Gene mRNA Expression in Adipose Tissue, Myocardium, and Intercostal Muscle

2.2.1. Mitochondrial Gene mRNA Expression in SAT and EAT

Basal mRNA expression of almost all assessed mitochondrial genes (*NDUFA12*, *CS*, *SDHA*, *CY1C1*, *COX4I1*) in EAT was significantly lower in the CAD compared to the noCAD group (Figure 1). At the same time, *MT-ND5* mRNA expression showed a similar tendency, but the difference did not reach statistical significance. In contrast, in SAT of CAD patients, decreased baseline mRNA expression was found only for *SDHA* (Figure 1), while the expression of other mitochondrial genes did not differ between the groups. When comparing both adipose tissue depots, only *NDUFA12* showed differences between EAT and SAT, with higher expression in EAT in the noCAD group (*p* = 0.004). Surgery tended to decrease the mRNA expression of all mitochondrial genes in EAT, regardless of CAD, with *CS*, *NDUFA12*, and *MT-ND5* showing significant differences. In contrast, no such pattern was present in SAT, with only *MT-ND5* expression in CAD subjects being significantly reduced post-operatively (Figure 1). None of these changes could be seen when comparing diabetic and nondiabetic subjects (data not shown).

2.2.2. Mitochondrial Gene mRNA Expression in the Myocardium and Intercostal Muscle

In the right atrial myocardium, mRNA expression of *CS* was significantly lower in the CAD compared to the noCAD group (*p* = 0.036), while no other significant differences in the myocardium or ICM could be observed before or after the surgical procedure between the groups in any of the other examined mitochondrial genes (data not shown).

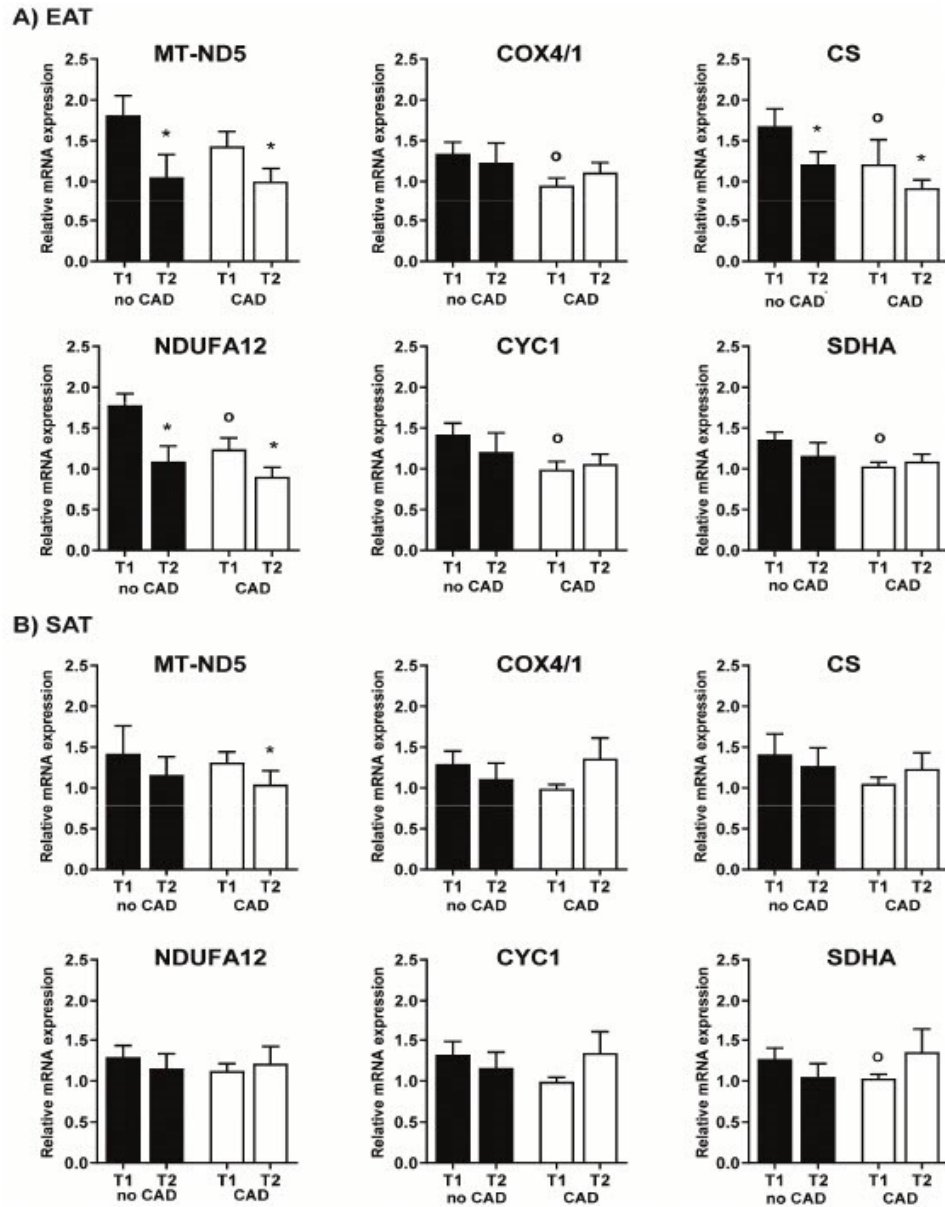


Figure 1. Mitochondrial gene mRNA expression in epicardial (EAT, **A**) and subcutaneous (SAT, **B**) adipose tissue. Values are shown as the mean \pm SEM. Statistical significance is from an unpaired *t*-test and paired *t*-test (T1 vs. T2); * $p < 0.05$ vs. T1.; $p < 0.05$ vs. no CAD T1. Values were adjusted for the presence of type 2 diabetes mellitus. Relative mRNA expression = changes in gene expression in a given sample relative to the reference sample (beta2-microglobulin). CAD, coronary artery disease; T1, beginning of the surgery; T2, end of the surgery; CS, citrate synthase; NDUFA12, NADH dehydrogenase subunit; SDHA, succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A; COX4/1, cytochrome c oxidase subunit 4/1; CYC1, cytochrom c 1; MT-ND5, NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5.

2.2.3. Endoplasmic Reticulum Stress Gene mRNA Expression

At baseline, the expression of all assessed ER stress genes did not show any differences between the groups in any tissue, except for significantly higher mRNA expression of *DDIT3* in SAT compared to EAT in noCAD subjects ($p = 0.023$). Surgery affected only EAT, with increased expression of *HSPA5* and *ATF6* in CAD and *ATF4* in both CAD and no CAD groups (Figure 2—data for SAT and EAT and data for ICM and RA are not shown).

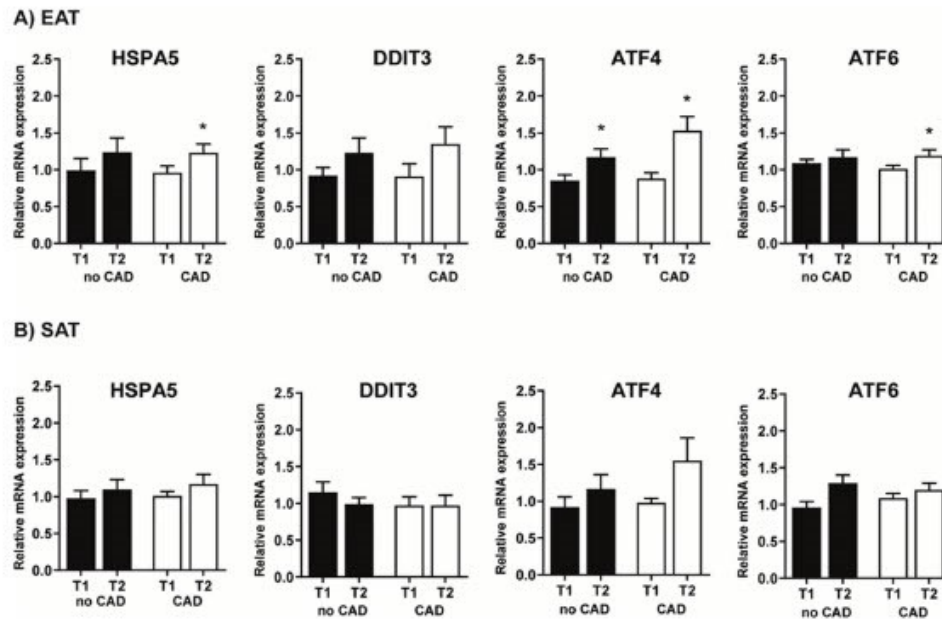


Figure 2. ER stress gene mRNA expression in epicardial (EAT, A) and subcutaneous (SAT, B) adipose tissue. Values are shown as the mean \pm SEM. Statistical significance is from an unpaired *t*-test and paired *t*-test (T1 vs. T2); * $p < 0.05$ vs. T1; $p < 0.05$ vs. no CAD T1. Relative mRNA expression = changes in gene expression in a given sample relative to the reference sample (beta2-microglobulin). CAD, coronary artery disease; T1, beginning of the surgery; T2, end of the surgery; *HSPA5*, heat shock protein family A (Hsp70) member 5; *DDIT3*, DNA damage inducible transcript 3; *ATF4*, activating transcription factor 4; *ATF6*, activating transcription factor 6.

3. Discussion

Adipose tissue surrounds the heart on 80% of its surface and forms up to 20% of total heart weight [2,15]. This adipose tissue around the myocardium is divided into epicardial and pericardial adipose tissue [2]. Our study focused primarily on epicardial adipose tissue. The presented data demonstrate that mitochondrial mRNA expression in EAT is substantially and consistently lower in patients with CAD compared to subjects without CAD, while SAT and other examined tissues do not show the same results. In contrast, no change in mRNA expression of ER stress genes was observed throughout the study.

For our study, we have chosen six main mitochondrial genes (*CS*, *NDUFA12*, *MT-ND5*, *CY1C1*, *COX 4/1*, and *SDHA*), which have a primary role in mitochondrial respiratory chain complexes, and thus in mitochondrial function. Lower expression in EAT in patients with compared to without CAD was demonstrated in all selected mitochondrial genes except *MT-ND5*. These findings are in line with previous data published by Nakajima et al., who showed lower mitochondrial respiratory capacity in EAT in CAD patients [16]. Here, we confirm and complement these data based on mitochondrial activity with the results from gene expression. Correct mitochondrial gene expression and function has been

linked to the retention of healthy anti-inflammatory and anti-atherosclerotic phenotype of epicardial adipose tissue [17,18]. Our data thus further strengthen the suggested close relationship between EAT dysfunction and coronary atherosclerosis [2]. Interestingly, no such changes could be seen in SAT, expanding the previously reported difference in pro-inflammatory status between EAT and SAT, also to mitochondrial gene expression, and again underscoring the relevance of EAT in the development of CAD. To these results, we can also add the observed decreased mRNA expression of citrate synthase in the right atrial myocardium in the CAD group, which suggests a reduction in all-over mitochondrial content. These findings might contribute to a better understanding of the interconnection between CAD and other cardiac pathologies, as mitochondrial dysfunction was shown to be associated with diseases, such as atrial fibrillation and heart failure [19,20].

Our study primarily compared subjects with and without CAD, regardless of T2DM, as diabetes was present only in 37% of CAD subjects and in none of the subjects without CAD. However, after adjusting for its presence, our data show that T2DM did not influence mRNA expression of investigated mitochondrial genes. Although data on mitochondrial function of EAT, specifically in T2DM, are virtually non-existent, this seems to be in contrast with the results of Dahlman et al., who observed a downregulation of electron transport chain genes in visceral adipose tissue of obese T2DM subjects relative to non-obese healthy subjects [21]. However, as their and our cohort differ significantly with respect to BMI, comorbidities, and other factors, no clear conclusions can be drawn from this discrepancy, and further research on larger T2DM cohorts is needed to gather more information about the relationship between mitochondrial dysfunction in EAT and T2DM.

Surprisingly, we did not detect any relevant mRNA changes in ER stress genes, either in EAT or in any other investigated tissue, regardless of the presence of CAD. It is well-known that cardiovascular disorders are associated with disturbances in ER and abnormal accumulation of misfolded proteins in cardiomyocytes [22], although the available results on the relationship of ER stress with CAD are conflicting [23]. In contrast to previous studies on mice, we did not find any upregulation of ER stress genes, which might be at least partially explained by the fact that the available murine data show the association of ER stress primarily with degenerating cardiomyocytes [24]. This together with our other data suggests that EAT-associated ER stress might not play as important of a role in the development of CAD as mitochondrial dysfunction. At this stage, we were not able to confirm the mRNA findings with data on proteins, which nevertheless remains a plan for the near future.

Cardiac surgery, usually coupled with extracorporeal circulation, comprises an intense stressor for the organism, and is associated with increased systemic and local inflammatory and metabolic responses [25]. Here, we show that, in EAT, mRNA expression of half of the six mitochondrial genes decreased substantially after cardiac surgery, regardless of the presence of CAD, while this was the case for only one gene in SAT of the CAD group. This finding further strengthens the differences between SAT and EAT with regards to mitochondrial dysfunction. Interestingly, in spite of a comparable baseline expression of ER stress genes, cardiac surgery increased the expression of three out of four genes assessed in EAT of CAD subjects, and only one gene in EAT of noCAD subjects (while having no effect in SAT of both groups), suggesting that CAD-derived EAT might still be more susceptible to ER stress than the one not associated with coronary atherosclerosis.

In summary, in our study, CAD was associated with mitochondrial dysfunction in EAT, as assessed by decreased expression of mitochondrial genes, but not with ER stress. Further studies are needed to confirm these findings in larger cohorts and to define the exact mechanisms of interaction between EAT mitochondrial dysfunction and CAD, which may lead to the identification of novel therapeutic targets and strategies in the treatment of CAD.

4. Materials and Methods

4.1. Study Subjects

This study included 38 patients undergoing elective cardiac surgery with cardiopulmonary bypass (coronary artery bypass grafting (CABG) in 13 subjects, valve replacement in 17 subjects, and combination of CABG and valve replacement in eight subjects). Patients were divided into two groups according to the presence of CAD, assessed by previous selective coronarography—11 subjects without CAD (noCAD group: three females and eight males) and 27 subjects with CAD (CAD group: five females and 22 males). Ten of the participating patients had T2DM, 33 had arterial hypertension treated with antihypertensives, and 32 had dyslipidemia treated with statins. None of the patients suffered from acute or chronic kidney disease, malignancy, thyroid disease, or acute infection. All participants signed written informed consent prior to enrollment into the study. The study was approved by the Human Ethics Review Board, Institute for Clinical and Experimental Medicine and Thomayer Hospital, Prague, Czech Republic, and was performed in accordance with the guidelines proposed in the Declaration of Helsinki (2000) of the World Medical Association. Elective cardiac surgery was performed after overnight fasting and was started between 7–8 AM in all subjects. Ten patients received infusion of dobutamine and norepinephrine perioperatively, with a maximum dose of 7 µg/kg/min and 0.2 µg/kg/min, respectively, with the treatment duration from 8 to 33 h.

4.2. Anthropometric Examination and Blood and Tissue Sampling

All subjects included in the study were measured and weighted, and their body mass index (BMI) was calculated one day prior to surgery. Waist and hip circumferences were measured, and their ratio was calculated. Blood samples for biochemical and hormonal measurements were taken after overnight fasting prior to initiation of anesthesia (beginning of surgery) and at the end of surgery. Blood samples were centrifuged for 10 min at 3000×g within 30 min after withdrawal. Serum samples were subsequently stored in aliquots at −80 °C until further analysis. The thickness of EAT was measured by transthoracic echocardiography in front of the right ventricular wall from the parasternal long axis (PLAX) view. Samples of subcutaneous (thoracic region, sternotomy site) (SAT) and epicardial (anterior interventricular sulcus or right margin of the heart) adipose tissue (EAT), intercostal muscle (ICM), and the myocardial right atrium (RA) for mRNA expression analysis were taken at the start and end of the surgery from approximately the same location in all patients. Tissue samples (50–100 mg) were collected with 1 mL of RNAlater® reagent (Ambion® Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) and stored at −80 °C until further analysis.

4.3. Hormonal and Biochemical Assays

Serum levels of cytokines were measured by a multiplex assay MILLIPLEX MAP Human High Sensitivity T Cell Panel and Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel (HSTCMAG-28SK-05, HCYTOMAG-60K-06, Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Sensitivity for IFN-γ was 0.8 pg/mL, for IL-10 0.56 pg/mL, for IL23 3.25 pg/mL, for MIP-1α 0.94 pg/mL, for MIP-1β 0.67 pg/mL, for IL-6 0.9 pg/mL, for IL-8 0.4 pg/mL, for MCP1 1.9 pg/mL, and for TNF-α 0.7 pg/mL. The intra- and inter-assay variabilities for all assays were between 5.0 and 15.0%. C-reactive protein (CRP) levels were measured by a high sensitivity assay (Bender Med Systems, Vienna, Austria), with a sensitivity of 3 pg/mL. Routine biochemical parameters were measured at the Department of Biochemistry, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic by standard laboratory methods. LDL cholesterol was calculated using the Friedewald equation. Insulin levels were measured by an RIA kit (Cis Bio International, Gif-sur-Yvette, France). Sensitivity was 2.0 µIU/mL.

5. Quantitative Real-Time PCR

5.1. Determination of mRNA Expression

Samples of SAT, EAT, ICM, and RA were homogenized on a MagNA Lyser instrument with MagNA Lyser Green beads (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Total RNA from homogenized tissue was extracted on a MagNA Pure instrument using a Magna Pure Compact RNA Isolation kit (tissue) (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). The RNA concentration was determined from absorbance at 260 nm on a NanoPhotometer (Implen, Munchen, Germany). Reverse transcription was performed using 0.25 µg of total RNA to synthesize the first strand cDNA using random primers per the instructions of the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Gene expression of inflammatory, mitochondrial, and endoplasmic reticulum stress genes was performed on a ViiA7 Instrument (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) using TaqMan[®] gene expression assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). A mix of TaqMan[®] Universal PCR Master Mix II, NO AmpErase[®] UNG (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), nuclease-free water (Fermentas Life Science, Lithuania), and specific TaqManGene expression assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) was used for the reaction. Beta-2 microglobulin (*B2M*) was used as the endogenous reference. The formula $2^{-\Delta\Delta C_t}$ was used to calculate relative gene expression. The complete determination process is described in detail elsewhere [26].

5.2. Mitochondrial and Endoplasmic Reticulum Stress Genes

For our study, we have chosen the most abundant genes of the mitochondrial respiratory chain (Supplementary Table S1). Citrate synthase (*CS*), which is considered a marker of total mitochondria, is a tricarboxylic acid cycle enzyme that catalyzes the synthesis of citrate from oxaloacetate and acetyl coenzyme A (acetyl-CoA), and is located in the mitochondrial matrix [27,28]. Other study genes are located in the inner mitochondrial membrane, including nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen (NADH) dehydrogenase subunit (*NDUFA12*) and mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 5 (*MT-ND5*), which are both part of an enzymatic complex NADH-coenzymeQ₁₀ reductase (Complex I), succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A (*SDHA*), which encodes a major subunit of succinate-ubiquinone oxidoreductase (complex II), cytochrome c oxidase subunit 4/1 (*COX4I*), which is part of cytochrome c oxidase (complex IV) [29], and cytochrom c 1 (*CYC1*), which is a respiratory subunit of ubiquinol cytochrome c reductase (complex III) [30] [31].

Assessed genes of ER stress include *HSPA5*, *DDIT3*, *ATF4*, and *ATF6* (Supplementary Table S2). *ATF4* is a stress-induced transcription factor and one of the master regulators of the cellular stress response that promotes adaptation of cells to a limited availability of nutrients [32]. *ATF6* is a transcription factor located in the ER membrane and sensing ER stress. Without stress conditions, *ATF6* occurs as a 90 kDa trans-membrane glycoprotein (p90ATF6). Under stress conditions, the protein is cleaved to give a 50 kDa protein (p50ATF6), which will get into the cell nucleus, where it directly affects the expression of the uncoupling protein response target genes [33]. The protein encoded by the *HSPA5* gene is a member of the heat shock protein 70 (HSP70) family. It is localized in the lumen of the endoplasmic reticulum (ER) and is involved in the folding and assembly of proteins in the ER [34]. The *DDIT3*-encoded protein is implicated in adipogenesis and erythropoiesis, is activated by endoplasmic reticulum stress, and promotes apoptosis [35].

6. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed, and graphs were drawn using SigmaPlot 13.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). Results are expressed as means ± standard errors of the mean (SEM) or median (interquartile range), according to the normality of the data. Normality of all data was assessed by the Shapiro–Wilk test. An unpaired *t*-test, Mann–Whitney rank sum test, paired test, or Wilcoxon signed rank test were used for the assessment of intra- and intergroup differences, as appropriate. Correlations were

analyzed using Spearman's or Pearson's correlation test, according to the normality of the data. Multiple linear regression analysis using a backward stepwise variable selection method was performed in the combined group of all study subjects, using parameters with significant results from Spearman or Pearson correlation tests. Values were adjusted for the presence of T2DM. In all statistical tests, p -values < 0.05 were considered significant.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms22094538/s1>, Table S1: Mitochondrial genes assessed in the study, Table S2: Endoplasmic reticulum stress genes assessed in the study.

Author Contributions: Conceptualization, M.H. and M.M.; methodology, H.K., Z.L. and J.T.; patient examination and sampling of biological material, D.H., J.M., Z.M., P.I. and I.N.; biochemical and molecular biological analysis, H.K., B.J.K., I.L., A.C., Z.L. and J.T.; data analysis, H.K. and M.M.; statistics, H.K. and A.C.; writing—original draft preparation, H.K.; writing—review and editing, M.M. and P.N.; visualization, H.K.; supervision, I.N. and M.H.; project administration, H.K. and Z.L.; funding acquisition, M.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was supported by the Ministry of Health, Czech Republic—conceptual development of the research organization (Institute for Clinical and Experimental Medicine—IKEM, IN 00023001), RVO VFN64165, and the Ministry of Health of the Czech Republic, grant Nr. NV19-02-00118.

Institutional Review Board Statement: The study was approved on the 13 June 2018 with approval number G-18-36 by Human Ethics Review Board, Institute for Clinical and Experimental Medicine and Thomayer Hospital, Prague, Czech Republic, and was performed in accordance with the guidelines proposed in the Declaration of Helsinki (2000) of the World Medical Association.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: All data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Conflicts of Interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

References

- Wang, H.; Naghavi, M.; Allen, C.; Barber, R.M.; Bhutta, Z.A.; Casey, D.C.; Charlson, E.J.; Chen, A.Z.; Coates, M.M.; Coggeshall, M.; et al. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* **2016**, *388*, 1459–1544. [\[CrossRef\]](#)
- Patel, V.B.; Shah, S.; Verma, S.; Oudit, G.Y. Epicardial adipose tissue as a metabolic transducer: Role in heart failure and coronary artery disease. *Heart Fail. Rev.* **2017**, *22*, 889–902. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kunimura, A.; Ishii, H.; Uetani, T.; Harada, K.; Hirayama, K.; Harata, S.; Shibata, Y.; Kawashima, K.; Shimbo, Y.; Takayama, Y.; et al. Impact of adipose tissue composition on cardiovascular risk assessment in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis* **2016**, *251*, 206–212. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kim, S.-H.; Chung, J.-H.; Kwon, B.-J.; Song, S.-W.; Choi, W.-S. The Associations of Epicardial Adipose Tissue with Coronary Artery Disease and Coronary Atherosclerosis. *Int. Heart J.* **2014**, *55*, 197–203. [\[CrossRef\]](#)
- Matloch, Z.; Kratochvílová, H.; Cinkajzlová, A.; Lips, M.; Kopecký, P.; Pořízka, M.; Haluzíková, D.; Lindner, J.; Mráz, M.; Kloučková, J.; et al. Changes in Omentin Levels and Its mRNA Expression in Epicardial Adipose Tissue in Patients Undergoing Elective Cardiac Surgery: The Influence of Type 2 Diabetes and Coronary Heart Disease. *Physiol. Res.* **2018**, *67*, 881–890. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mazurek, T.; Zhang, L.; Zalewski, A.; Mannion, J.D.; Diehl, J.T.; Arafat, H.; Sarov-Blat, L.; O'Brien, S.; Keiper, E.A.; Johnson, A.G.; et al. Human Epicardial Adipose Tissue Is a Source of Inflammatory Mediators. *Circulation* **2003**, *108*, 2460–2466. [\[CrossRef\]](#)
- Reinecke, E.; Smeitink, J.A.; van der Westhuizen, F.H. OXPHOS gene expression and control in mitochondrial disorders. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) Mol. Basis Dis.* **2009**, *1792*, 1113–1121. [\[CrossRef\]](#)
- Højlund, K.; Mogensen, M.; Sahlin, K.; Beck-Nielsen, H. Mitochondrial Dysfunction in Type 2 Diabetes and Obesity. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* **2008**, *37*, 713–731. [\[CrossRef\]](#)
- Ning, X.-H.; Zhang, J.; Liu, J.; Ye, Y.; Chen, S.-H.; From, A.H.; Bache, R.J.; A Portman, M. Signaling and expression for mitochondrial membrane proteins during left ventricular remodeling and contractile failure after myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2000**, *36*, 282–287. [\[CrossRef\]](#)
- Cao, S.S.; Kaufman, R.J. Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress in Cell Fate Decision and Human Disease. *Antioxid. Redox Signal.* **2014**, *21*, 396–413. [\[CrossRef\]](#)

11. Yao, Y.; Lu, Q.; Hu, Z.; Yufeng, Y.; Chen, Q.; Wang, Q.K. A non-canonical pathway regulates ER stress signaling and blocks ER stress-induced apoptosis and heart failure. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 1–15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Schönthal, A.H. Endoplasmic Reticulum Stress: Its Role in Disease and Novel Prospects for Therapy. *Science* **2012**, *2012*, 1–26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Ladiges, W.C. Pancreatic β -cell failure and diabetes in mice with a deletion mutation of the endoplasmic reticulum molecular chaperone gene P58IPK. *Diabetes* **2005**, *54*, 1074–1081. [[CrossRef](#)]
14. Zhang, K.; Kaufman, R.J. The unfolded protein response: A stress signaling pathway critical for health and disease. *Neurology* **2005**, *66*, S102–S109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Corradi, D.; Maestri, R.; Callegari, S.; Pastori, P.; Goldoni, M.; Luong, T.V.; Bordi, C. The ventricular epicardial fat is related to the myocardial mass in normal, ischemic and hypertrophic hearts. *Cardiovasc. Pathol.* **2004**, *13*, 313–316. [[CrossRef](#)]
16. Nakajima, T.; Yokota, T.; Shingu, Y.; Yamada, A.; Iba, Y.; Ujihira, K.; Wakasa, S.; Ooka, T.; Takada, S.; Shirakawa, R.; et al. Impaired mitochondrial oxidative phosphorylation capacity in epicardial adipose tissue is associated with decreased concentration of adiponectin and severity of coronary atherosclerosis. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 3535. [[CrossRef](#)]
17. Chechi, K.; Voisine, P.; Mathieu, L.; Laplante, M.; Bonnet, S.; Picard, E.; Joubert, P.; Richard, D. Functional characterization of the Ucp1-associated oxidative phenotype of human epicardial adipose tissue. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–15. [[CrossRef](#)]
18. Aldis, P. ‘Browning’ the cardiac and peri-vascular adipose tissues to modulate cardiovascular risk. *Int. J. Cardiol.* **2017**, *228*, 265–274. [[CrossRef](#)]
19. Montaigne, D. Mitochondrial dysfunction as an arrhythmogenic substrate: A translational proof-of-concept study in patients with metabolic syndrome in whom post-operative atrial fibrillation develops. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2013**, *62*, 1466–1473. [[CrossRef](#)]
20. Ozcan, C.; Li, Z.; Kim, G.; Jeevanandam, V.; Uriel, N. Molecular Mechanism of the Association Between Atrial Fibrillation and Heart Failure Includes Energy Metabolic Dysregulation Due to Mitochondrial Dysfunction. *J. Card. Fail.* **2019**, *25*, 911–920. [[CrossRef](#)]
21. Dahlman, I. Downregulation of electron transport chain genes in visceral adipose tissue in type 2 diabetes independent of obesity and possibly involving tumor necrosis factor- α . *Diabetes* **2006**, *55*, 1792–1799. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Cominacini, L.; Mozzini, C.; Garbin, U.; Pasini, A.; Stranieri, C.; Solani, E.; Vallerio, P.; Tinelli, I.A.; Pasini, A.F. Endoplasmic reticulum stress and Nrf2 signaling in cardiovascular diseases. *Free Radic. Biol. Med.* **2015**, *88*, 233–242. [[CrossRef](#)]
23. Liu, M.-Q.; Chen, Z.; Chen, L.-X. Endoplasmic reticulum stress: A novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol. Sin.* **2016**, *37*, 425–443. [[CrossRef](#)]
24. Azfer, A.; Niu, J.; Rogers, L.M.; Adamski, F.M.; Kolattukudy, P.E. Activation of endoplasmic reticulum stress response during the development of ischemic heart disease. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* **2006**, *291*, H1411–H1420. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Kremen, J.; Dolinkova, M.; Krajickova, J.; Blaha, J.; Anderlova, K.; Lacinova, Z.; Haluzikova, D.; Bosanska, L.; Vokurka, M.; Svacina, S.; et al. Increased Subcutaneous and Epicardial Adipose Tissue Production of Proinflammatory Cytokines in Cardiac Surgery Patients: Possible Role in Postoperative Insulin Resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2006**, *91*, 4620–4627. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Trachta, P.; Drápalová, J.; Kaválková, P.; Toušková, V.; Cinkajzlová, A.; Lacinová, Z.; Matoulek, M.; Zelinka, T.; Widimský, J.; Mráz, M.; et al. Three Months of Regular Aerobic Exercise in Patients with Obesity Improve Systemic Subclinical Inflammation Without Major Influence on Blood Pressure and Endocrine Production of Subcutaneous Fat. *Physiol. Res.* **2014**, *63*, S299–S308. [[CrossRef](#)]
27. Cheng, T.-L.; Liao, C.-C.; Tsai, W.-H.; Lin, C.-C.; Yeh, C.-W.; Teng, C.-F.; Chang, W.-T. Identification and characterization of the mitochondrial targeting sequence and mechanism in human citrate synthase. *J. Cell. Biochem.* **2009**, *107*, 1002–1015. [[CrossRef](#)]
28. Christe, M.; Hirtzel, E.; Lindinger, A.; Kern, B.; Von Flöte, M.; Peterli, R.; Peters, T.; Eberle, A.N.; Lindinger, P.W. Obesity Affects Mitochondrial Citrate Synthase in Human Omental Adipose Tissue. *ISRN Obes.* **2013**, *2013*, 1–8. [[CrossRef](#)]
29. Kadenbach, B.; Huettemann, M. The subunit composition and function of mammalian cytochrome c oxidase. *Mitochondrion* **2015**, *24*, 64–76. [[CrossRef](#)]
30. Gaignard, P.; Menezes, M.; Schiff, M.; Bayot, A.; Rak, M.; de Baulny, H.O.; Su, C.-H.; Gilleron, M.; Lombes, A.; Abida, H.; et al. Mutations in CYC1, Encoding Cytochrome c1 Subunit of Respiratory Chain Complex III, Cause Insulin-Responsive Hyperglycemia. *Am. J. Hum. Genet.* **2013**, *93*, 384–389. [[CrossRef](#)]
31. Urbanová, M.; Mráz, M.; Ďurovcová, V.; Trachta, P.; Kloučková, J.; Kaválková, P.; Haluzíková, D.; Lacinová, Z.; Hansíková, H.; Wenichich, L.; et al. The Effect of Very-Low-Calorie Diet on Mitochondrial Dysfunction in Subcutaneous Adipose Tissue and Peripheral Monocytes of Obese Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. *Physiol. Res.* **2017**, *66*, 811–822. [[CrossRef](#)]
32. Wortel, I.M.; van der Meer, L.T.; Kilberg, M.S.; van Leeuwen, F.N. Surviving Stress: Modulation of ATF4-Mediated Stress Responses in Normal and Malignant Cells. *Trends Endocrinol. Metab.* **2017**, *28*, 794–806. [[CrossRef](#)]
33. Chen, X.; Shen, J.; Prywes, R. The Luminal Domain of ATF6 Senses Endoplasmic Reticulum (ER) Stress and Causes Translocation of ATF6 from the ER to the Golgi. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 13045–13052. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Wang, J.; Lee, J.; Liem, D.; Ping, P. HSPA5 Gene encoding Hsp70 chaperone BiP in the endoplasmic reticulum. *Gene* **2017**, *618*, 14–23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Ramji, D.P.; Foka, P. CCAAT/enhancer-binding proteins: Structure, function and regulation. *Biochem. J.* **2002**, *365*, 561–575. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Neudesin in obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of acute fasting and weight reducing interventions

This article was published in the following Dove Medical Press journal:
Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy

Helena Kratochvilova,¹⁻³
Zdenka Lacinova,¹⁻³
Jana Klouckova,¹⁻³
Petra Kavalkova,^{2,3} Anna
Cinkajzlova,¹⁻³ Pavel
Trachta,⁴ Jarmila Krizova,⁴
Marek Benes,⁵ Karin
Dolezalova,⁶ Martin Fried,⁶
Zuzana Vlasakova,⁷ Terezie
Pelikanova,⁷ Julius Spicak,⁵
Milos Mraz,^{2,3,7} Martin
Haluzik^{1-3,7}

¹Centre for Experimental Medicine, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic;

²Department of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, First Faculty of Medicine, Charles

University, Prague, Czech Republic;

³Department of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, General University Hospital, Prague, Czech

Republic; ⁴Third Department of Medicine, Department of Endocrinology and Metabolism, First Faculty of Medicine, Charles

University and General University Hospital, Prague, Czech Republic;

⁵Hepatogastroenterology Department, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic;

⁶Department of Surgery, OB Clinic, Prague, Czech Republic; ⁷Diabetes Centre, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

Correspondence: Martin Haluzik
Centre for Experimental Medicine,
Institute for Clinical and Experimental
Medicine, Videňská 1958/9, 140 21
Prague 4, Czech Republic
Email martin.haluzik@ikem.cz

Context: Neudesin has recently been identified as a novel regulator of energy expenditure in experimental animals; however, its role in humans remains unexplored.

Objective: The aim of this study was to assess the effects of obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM) along with selected weight reducing interventions on serum neudesin levels and adipose tissue mRNA expression.

Patients and methods: Fifteen obese subjects with T2DM undergoing endoscopic duodenal-jejunal bypass liner (DJBL) implantation, 17 obese subjects (11 with T2DM, 6 without T2DM) scheduled for gastric plication (GP), 15 subjects with functional hypoglycemia subjected to 72-hour acute fasting (AF), and 12 healthy controls were included in the study.

Results: Baseline neudesin levels were comparable between all groups. DJBL increased neudesin at 6 and 10 months after the procedure (1.77 ± 0.86 vs 2.28 ± 1.27 vs 2.13 ± 1.02 ng/mL, $P=0.001$ for baseline vs 6 vs 10 months) along with reduction in body weight and improvement of HbA_{1c} without any effect on neudesin mRNA expression in subcutaneous adipose tissue. Conversely, GP did not affect neudesin levels despite marked reduction in body weight and improvement of HbA_{1c}. In contrast, AF decreased neudesin levels during the entire period (1.74 ± 0.54 vs 1.46 ± 0.48 ng/mL, $P=0.001$ for baseline vs 72 hours) with no impact of subsequent re-alimentation on neudesin concentrations.

Conclusion: Neudesin levels are differentially regulated during AF and chronic weight reduction induced by DJBL or GP. Further studies are needed to assess its possible significance in energy homeostasis regulation in humans.

Keywords: neudesin, obesity, type 2 diabetes mellitus, bariatric surgery, acute fasting, weight reduction, energy homeostasis

Introduction

Increasing prevalence of obesity and its metabolic complications, in particular type 2 diabetes mellitus (T2DM), represents one of the most significant challenges of current health care systems.^{1,2} It is well known that the clustering of diabetes, obesity, and other comorbidities referred to as metabolic syndrome markedly increases the risk of chronic cardiovascular complications, thus impacting both quality of life and life expectancy of patients.^{3,4} Changes in the central nervous system (CNS) including disturbances of neuropeptides regulating energy homeostasis significantly contribute to the development of obesity and its complication.⁵⁻⁷ It is thus of utmost importance to better understand the factors involved in the central regulation of energy homeostasis.


Neudesin is a newly identified factor contributing to the complex control of energy homeostasis.⁸ It was originally identified in mice embryos as a secreted protein with

submit your manuscript | www.dovepress.com

Dovepress    
<https://doi.org/10.1149/DMSO.21193259>

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy 2019:12 423-430

423

 © 2019 Kratochvilova et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <http://www.dovepress.com/terms.php> and incorporate the Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported, v3.0) License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>). By accessing the work you hereby accept the terms. Non-commercial uses of the work are permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. For permission for commercial use of this work, please see paragraphs 42 and 5 of our terms (<http://www.dovepress.com/terms.php>).

neurotrophic activity.⁹ Neudesin is a member of the membrane-associated progesterone receptor family that consists of four proteins characterized by common cytochrome 5-like heme/steroid binding domain. Of this protein family, neudesin and neuferricin are secreted proteins, whereas two other members – progesterone receptor-membrane components 1 and 2 – are located on cell membranes.¹⁰ Human neudesin has a 172 amino acid sequence with high similarity to other vertebrates.⁹ Neudesin activates mitogen-activated protein kinase (MAPK) and phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaling pathways and has been shown to play a role in neural cell differentiation, cell proliferation, and tumorigenesis.^{8,11}

Neudesin is preferentially expressed in the CNS and spinal cord where it promotes neural cell differentiation.¹² In addition to neurotrophic effects, it can influence appetite control in the hypothalamus¹³ or anxious-like behavior controlled by the dentate gyrus of the hippocampus.¹⁴ Neudesin mRNA expression was also documented in other tissues including adipose tissue, heart, lungs, and kidney.¹³

Studies suggest that neudesin plays a multifaceted role mainly in neural function and energy metabolism regulation.^{12,15} Neudesin-knockout (KO) mice were resistant to high fat diet (HFD)-induced obesity and obesity-related metabolic dysfunctions.¹⁵ By contrast, acute intracerebroventricular administration of neudesin decreased food intake and body weight and these effects were attenuated in obese mice that were fed an HFD.¹³

Taken together, experimental studies suggest that neudesin could be a novel regulator of energy homeostasis and food intake with potential role in the development of obesity and its complications. As no data concerning changes in neudesin levels in humans are available, we tested the hypothesis that serum neudesin concentrations may be affected by obesity and T2DM. To this end, we measured serum neudesin levels and its mRNA expression in subcutaneous (SAT) and visceral adipose tissue (VAT) in obese subjects with or without T2DM. We also explored the effect of acute fasting (AF) and selected weight reducing interventions on neudesin levels and its relationship to anthropometric, metabolic, and hormonal parameters to gain more insight into its possible role in the development of obesity-related metabolic disturbances.

Materials and methods

Study subjects and interventions

Fifteen obese subjects with T2DM (n=5/10; female/male [f/m]) undergoing endoscopic duodenal-jejunal bypass liner (DJBL) implantation, 17 obese subjects (11 with T2DM [8/3; f/m], 6 without T2DM [4/2; f/m]) scheduled for bariatric

surgery – gastric plication (GP), 15 subjects with functional hypoglycemia (n=7/8; f/m) subjected to 72-hour AF, and 12 healthy controls (8/4; f/m) were included in the study. Written informed consent was signed by all participants prior to enrollment. The study was approved by the Human Ethics Review Board, First Faculty of Medicine and General University Hospital, Prague, Czech Republic, and was performed in accordance with the guidelines proposed in the Declaration of Helsinki (2000) of the World Medical Association.

Anthropometric examination, blood and adipose tissue sampling

All subjects included in the study were measured and weighted, and their body mass index (BMI) was calculated. Blood samples for biochemical and hormonal measurements were taken after overnight fasting and were centrifuged for 10 minutes at 3,000×g within 30 minutes after withdrawal. Aliquots were stored at –80°C.

Samples of SAT were obtained by needle aspiration biopsy from the abdominal region or from the laparoscopic channel or laparotomy in case of surgery after overnight fasting. In subjects undergoing bariatric surgery, VAT samples were taken from the abdominal cavity at the beginning of the procedure. Tissue samples were collected to 1 mL of RNAlater[®] reagent (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and stored at –80°C until further analysis.

DJBL

Fifteen obese subjects with T2DM were included in the DJBL treatment group. Patient visits were conducted at baseline – before DJBL insertion (V1) and 1 (V2), 6 (V3), and 10 months (V4) after the implantation of DJBL. Anthropometric, serum biochemical, and hormonal parameters were measured and SAT samples were collected at each visit.

Bariatric surgery

Seventeen obese subjects (11 with T2DM, 6 without T2DM) underwent GP. Anthropometric measurements and blood and SAT samples were taken at baseline (V1), 6 (V3), and 12 months (V4b) after surgery. In addition to SAT obtained during each visit, samples of SAT and VAT were taken during surgery for the evaluation of depot-specific differences.

Fasting in subjects with functional hypoglycemia

Fifteen subjects with suspected hypoglycemic episodes underwent a supervised 72-hour fasting test to rule out organic hyperinsulinism, all of them with negative results. Serum neudesin

was measured at the beginning (T1), at 24 (T2) and 48 hours (T3) of fasting, at the end of fasting (ie, after 72 hours – T4), and at 2 hours after re-alimentation (T5).

Hormonal and biochemical assays

Serum neudesin levels were measured by sandwich enzyme immunoassays using a commercial ELISA kit (Neudesin Human ELISA, BioVendor, Brno, Czech Republic). The assays including serum dilution were carried out according to the manufacturer's protocol. Sensitivity was 0.01 ng/mL. Serum leptin concentrations were measured by the commercial ELISA kit (BioVendor). Sensitivity was 0.2 ng/mL. Serum C-reactive protein levels (hsCRP) were measured by high-sensitive ELISA (Bender Medsystems, Vienna, Austria) with a sensitivity of 3 pg/mL. Insulin concentrations were measured by RIA kit (Cis Bio International, France). Sensitivity was 2.0 µU/mL. The intra- and inter-assay variabilities were <5.0% and 10.0%, respectively.

Biochemical parameters (blood glucose, HbA_{1c}, total and HDL cholesterol, and triglycerides) were measured and LDL cholesterol was calculated by standard laboratory methods at the Department of Biochemistry, General University Hospital, Prague, Czech Republic.

Quantitative real-time PCR

SAT and VAT samples were homogenized on MagNA Lyser Instrument (Hoffman-La Roche Ltd, Basel, Switzerland). Total RNA from homogenized tissue was extracted on a MagNA Pure instrument using a MagNa Pure Compact RNA Isolation kit (tissue) (Hoffman-La Roche Ltd). RNA concentration was determined from absorbance at 260 nm on a NanoPhotometer (Implen, Munchen, Germany). Reverse transcription was performed using random primers according to the manufacturer's protocol of the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Thermo Fisher Scientific). The input amount of RNA was 0.25 µg per reaction. Gene expression was performed on a ViiA 7 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific). For reaction, a mixture of TaqMan® Universal PCR Master Mix II, NO AmpErase® UNG (Thermo Fisher Scientific), nuclease-free water (Fermentas Life Science, Vilnius, Lithuania), and specific TaqMan® Gene Expression Assays (Thermo Fisher Scientific) were used. Beta-2 microglobulin was applied as endogenous reference. The formula $2^{-\Delta\Delta Ct}$ was used to calculate the relative gene expression.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SigmaPlot 13.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Anthropometric, biochemical, and hormonal results are expressed as mean ±

SD for parametric data or median (interquartile range) for nonparametric data. One-way ANOVA/one-way repeated measures (RM) ANOVA followed by Holm–Sidak test, one-way ANOVA on ranks/one-way RM ANOVA on ranks followed by Dunn's method, unpaired *t*-test or Mann–Whitney rank sum test, and paired test or Wilcoxon signed-rank test were used for the assessment of intergroup differences, as appropriate. Spearman or Pearson correlation test was used to calculate the relationships between serum neudesin and mRNA expression and other parameters. Combined groups of all study subjects with age-matched control subjects were used for correlation analysis. Statistical significance was considered at $P < 0.05$.

Results

DJBL

Anthropometric, biochemical, and hormonal characteristics are shown in Table 1. At baseline, patients with T2DM had higher BMI, blood glucose, HbA_{1c}, CRP, triglycerides, insulin and leptin levels, and lower HDL cholesterol compared to healthy study control subjects. DJBL decreased BMI, improved glucose control and lipid profile, and reduced the levels of insulin and leptin compared to baseline (Table 2).

GP

At baseline, all subjects undergoing GP had higher BMI, leptin level, and CRP and reduced HDL cholesterol compared to control subjects, while T2DM patients had also increased blood glucose and HbA_{1c} (Tables 1 and 3). GP reduced anthropometric parameters and leptin levels and increased HDL cholesterol in both obese and T2DM subjects. In addition, T2DM subjects had lower HbA_{1c}, while obese subjects without T2DM had decreased triglycerides and CRP after the procedure (Table 3).

Functional hypoglycemia – AF test

Patients with functional hypoglycemia undergoing the AF test for 72 hours had comparable baseline fasting blood glucose and lipid levels and anthropometric parameters relative to the control subjects (Table 1).

Effect of interventions on serum neudesin levels and adipose tissue mRNA expression

At baseline, all obese subjects with and without T2DM undergoing GP or DJBL implantation, as well as subjects with functional hypoglycemia, had comparable serum neudesin levels with healthy control subjects (Table 1).

Table 1 Anthropometric and biochemical characteristics of study subjects at baseline

| Group | DJBL | GP | | AF | Controls |
|--------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------|------------------|
| | | T2DM+ | T2DM- | | |
| Subjects (n) (female/male) | 15 (5/10) | 11 (8/3) | 6 (4/2) | 15 (7/8) | 12 (8/4) |
| Age (years) | 50.5±10.3 | 51.5±8.22 | 49.2±11.8 | 45.7±12.7 | 43.2±9.51 |
| Body mass index (kg/m ²) | 42.8±6.50* | 43.2±4.87* | 40.3±5.43* | 26.5±7.20 ^{b-d} | 24.2±1.86 |
| Blood glucose (mmol/L) | 11.4±3.34* | 9.27±3.11* | 5.23±0.83* | 5.16±1.07 ^b | 4.58±0.58 |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 73.4±17.1* | 60.1±16.2* | 37.3±5.09 | NP | 33.2±4.09 |
| Cholesterol (mmol/L) | 4.58±0.87 | 4.70±1.13 | 5.65±3.12 | 5.12±0.74 | 5.12±1.22 |
| Triglycerides (mmol/L) | 1.32 (1.22–2.37)* | 1.36 (0.94–2.22) | 1.51 (0.69–7.13) | 0.94 (0.73–1.33) | 0.79 (0.64–1.15) |
| HDL cholesterol (mmol/L) | 1.12±0.21* | 1.21±0.25* | 1.17±0.16* | NP | 1.76±0.36 |
| LDL cholesterol (mmol/L) | 2.91±1.02 | 2.72±0.89 | 2.66±0.48 | NP | 2.94±1.13 |
| Insulin (mIU/L) | 66.8 (38.1–204)* | 53 (30.2–63.7)* | 31.5 (19.2–90.0) | 24.2 (19.7–43)* | 18.8 (9.08–22.4) |
| Leptin (ng/mL) | 23.7±12.5* | 38.7±16.6* | 24.6±16.9* | 10.5±8.60 ^{b,c} | 10.3±6.28 |
| CRP (mg/L) | 2.72 (1.79–3.78)* | 1.27 (0.48–3.03)* | 1.84 (1.41–3.78)* | 0.22 (0.12–0.50) | 0.25 (0.17–0.62) |
| Neudesin mRNA expression in SAT | 1.12±0.53 | 0.99±0.21 | 1.11±0.19 | NP | NP |
| Serum neudesin (ng/mL) | 1.77±0.86 | 2.27±0.75 | 2.62±0.98 | 1.74±0.54 | 1.87±0.70 |

Notes: Normally distributed data are shown as mean ± SD, nonparametric data as median (interquartile range). **P*<0.05 vs control; ^b*P*<0.05 vs DJBL; ^c*P*<0.05 vs GP T2DM+; ^d*P*<0.05 vs GP T2DM-. Statistical significance is from one-way ANOVA.

Abbreviations: DJBL, duodenal-jejunal bypass liner; GP, gastric plication; AF, acute fasting; T2DM, type 2 diabetes mellitus; NP, non-measured parameter; CRP, C-reactive protein; SAT, subcutaneous adipose tissue.

Table 2 Effect of endoscopic DJBL on anthropometric, biochemical, and hormonal characteristics

| Group | Controls | V1 | V2 | V3 | V4 |
|--------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Subjects (n) | 12 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| Age (years) | 43.2±9.51 | 50.5±10.3 | NP | NP | NP |
| Body mass index (kg/m ²) | 24.2±1.86 | 42.7±6.53* | 40.5±6.92 ^{ab} | 37.5±5.55 ^c | 36.5±4.91 ^c |
| Waist circumference (cm) | 83.3±8.94 | 131±14.5 | 127±12.8 ^b | 120±11.8 ^{bc} | 118±11.7 ^{bc} |
| Hip circumference (cm) | 98.6±9.09 | 131±17.4 | 127±16.7 | 122±12.7 ^b | 120±11.5 ^{bc} |
| Blood glucose (mmol/L) | 4.58±0.58 | 11.4±3.34* | 8.98±3.10 ^{ab} | 8.47±2.19 ^{ab} | 7.09±1.86 ^{ab} |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 33.2±4.09 | 73.4±17.1* | 63.8±15.9 ^{ab} | 52.4±11.2 ^{ab} | 50.0±12.6 ^c |
| Cholesterol (mmol/L) | 5.12±1.22 | 4.58±0.87 | 3.97±0.60 ^{ab} | 4.29±0.73 | 3.86±0.73 ^b |
| Triglycerides (mmol/L) | 0.79 (0.64–1.15) | 1.32 (1.22–2.37)* | 1.34 (1.13–1.86)* | 1.39 (1.10–2.00)* | 1.07 (0.84–1.92) ^b |
| HDL cholesterol (mmol/L) | 1.76±0.36 | 1.12±0.21* | 1.01±0.15 ^{ab} | 1.09±0.18* | 1.07±0.28* |
| LDL cholesterol (mmol/L) | 2.94±1.13 | 2.91±1.02 | 2.31±0.63 ^b | 2.48±0.65 | 2.15±0.64 ^b |
| Insulin (mIU/L) | 18.8 (9.08–22.4) | 66.8 (38.1–204)* | 46.1 (30.8–207)* | 51.4 (38.0–234)* | 59.7 (24.3–213)* |
| Leptin (ng/mL) | 10.3±6.28 | 23.7±12.5* | 18.6±8.91 | 18.9±13.4 | 17.1±11.4 |
| CRP (mg/L) | 0.25 (0.17–0.62) | 2.72 (1.79–3.78)* | 2.48 (1.59–3.6)* | 1.67 (1.44–3.95)* | 1.76 (1.18–2.23)* |
| Neudesin mRNA expression in SAT | NP | 1.12±0.53 | NP | 1.08±0.39 | 1.13±0.43 |

Notes: Normally distributed data are shown as mean ± SD and nonparametric data as median (interquartile range). **P*<0.05 vs controls, one-way ANOVA/ANOVA on ranks; ^a*P*<0.05 vs V1, one-way repeated measures ANOVA/one-way repeated measures ANOVA on ranks; ^b*P*<0.05 vs V2, one-way repeated measures ANOVA/one-way repeated measures ANOVA on ranks.

Abbreviations: NP, non-measured parameter; DJBL, duodenal-jejunal bypass liner; CRP, C-reactive protein; SAT, subcutaneous adipose tissue; V1, before DJBL; V2, 1 month after DJBL; V3, 6 months after DJBL; V4, 10 months after DJBL.

DJBL increased neudesin levels after 6 months relative to baseline and the levels remained elevated 10 months after implantation (Figure 1). GP had no effect on serum neudesin (Figure 2). Patients with functional hypoglycemia had decreased neudesin levels after 48 and 72 hours of fasting as well as 2 hours after partial re-alimentation compared to the baseline and control group (Figure 3).

Neudesin mRNA expression in SAT was not affected by weight reduction and did not show any correlation with serum neudesin levels. There was no difference in baseline neudesin mRNA expression between SAT and VAT in subjects undergoing GP (Figure 4). A temporarily higher neudesin mRNA expression in SAT was observed in obese patients without T2DM relative to those with T2DM at 6 months after GP (Figure 4).

Table 3 Effect of gastric plication on anthropometric, biochemical, and hormonal characteristics

| Group | T2DM- | | | T2DM+ | | | |
|--------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | Controls | V1 | V3 | V4b | V1 | V3 | V4b |
| Subjects (n) | 12 | 6 | 6 | 6 | 11 | 11 | 11 |
| Age (years) | 43.2±9.51 | 49.2±11.8 | NP | NP | 51.5±8.22 | NP | NP |
| Body mass index (kg/m ²) | 24.2±1.86 | 40.3±5.43* | 33.7±6.34** | 34.2±6.24** | 43.2±4.87 | 35.4±5.52* | 35.1±5.57* |
| Blood glucose (mmol/L) | 4.58±0.58 | 5.23±0.83 | 4.63±0.58 | 4.66±0.87 | 9.27±3.11** | 7.31±2.17** | 7.44±3.67** |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 33.2±4.09 | 37.3±5.09 | 35.0±6.26 | 32.8±3.97 | 60.1±16.2* | 49.7±14.6** | 51.1±16.1** |
| Cholesterol (mmol/L) | 5.12±1.22 | 5.65±3.12 | 4.61±0.91 | 4.57±0.72 | 4.70±1.13 | 4.51±0.81 | 4.90±0.96 |
| Triglycerides (mmol/L) | 0.79 (0.64-1.15) | 1.51 (0.69-7.13) | 1.08 (0.61-1.88) | 1.01 (0.60-1.75)* | 1.36 (0.94-2.22) | 1.34 (0.78-1.55) | 1.11 (0.80-2.01) |
| HDL cholesterol (mmol/L) | 1.76±0.36 | 1.17±0.16* | 1.28±0.11* | 1.47±0.21** | 1.21±0.25* | 1.31±0.24* | 1.48±0.41** |
| LDL cholesterol (mmol/L) | 1.88 (9.08-22.4) | 2.66±0.48 | 2.76±0.86 | 2.58±0.70 | 2.72±0.89 | 2.58±0.58 | 2.71±0.76 |
| Leptin (ng/mL) | 10.3±6.28 | 24.6±16.9 | 16.2±18.7* | 15.4±14.4* | 38.7±16.6* | 19.8±12.1* | 20.8±10.6* |
| CRP (mg/L) | 0.25 (0.17-0.62) | 1.84 (1.41-3.78)* | 0.92 (0.46-1.72)* | 0.53 (0.23-1.98)* | 1.27 (0.48-3.03)* | 0.93 (0.23-1.62) | 0.81 (0.36-3.89) |
| Neudesin mRNA expression in SAT | NP | 1.11±0.19 | 1.64±0.44 | 1.14±0.37 | 0.99±0.21 | 1.08±0.32* | 1.29±0.52 |

Notes: Normally distributed data are shown as mean ± SD, nonparametric data as median (interquartile range). **P*<0.05 vs controls, one-way ANOVA/ANOVA on ranks; ***P*<0.05 vs V1, one-way repeated measures ANOVA/one-way repeated measures ANOVA on ranks; †*P*<0.05 vs V2, one-way repeated measures ANOVA/one-way repeated measures ANOVA on ranks; ‡*P*<0.05 vs nondiabetic obese subjects, unpaired *t*-test/Mann-Whitney rank sum test. Abbreviations: CRP, C-reactive protein; OB, obese subjects; T2DM, type 2 diabetes mellitus; V1, before bariatric surgery; V3, 6 months after bariatric surgery; V4b, 1 year after bariatric surgery; NP, non-measured parameter; SAT, subcutaneous adipose tissue.

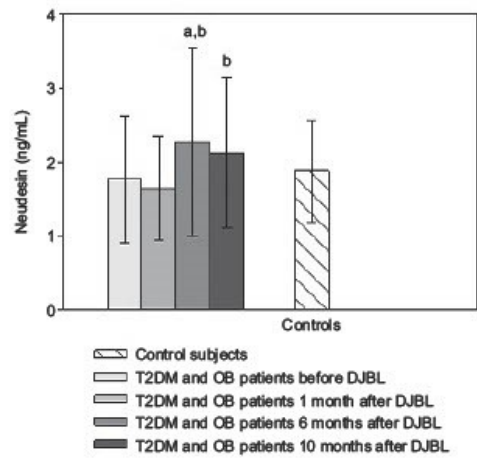


Figure 1 Serum neudesin levels: the effect of DJBL. Notes: Values are mean ± SD. Statistical significance is from one-way repeated measures ANOVA. **P*<0.05 vs V1, †*P*<0.05 vs V2. Abbreviations: OB, obese subjects; T2DM, type 2 diabetes mellitus; DJBL, duodenal-jejunal bypass liner; V1, before DJBL; V2, 1 month after DJBL; V3, 6 months after DJBL; V4, 10 months after DJBL.

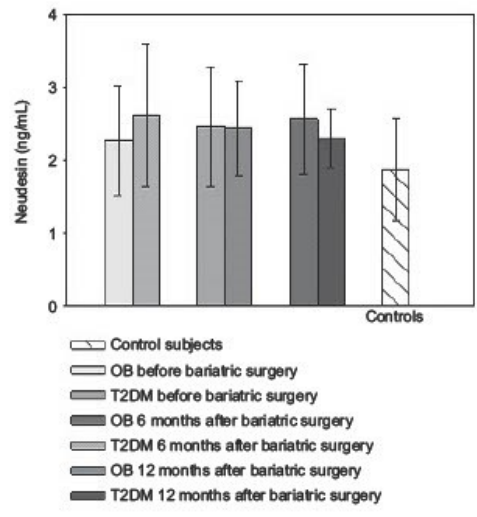


Figure 2 Serum neudesin levels: the effect of gastric plication. Notes: Values are mean ± SD. Abbreviations: OB, obese subjects; T2DM, type 2 diabetes mellitus.

Relationship of neudesin to other parameters
 Serum neudesin levels positively correlated with insulin levels (*R*=0.434, *P*=0.001) and inversely with BMI (*R*=-0.314,

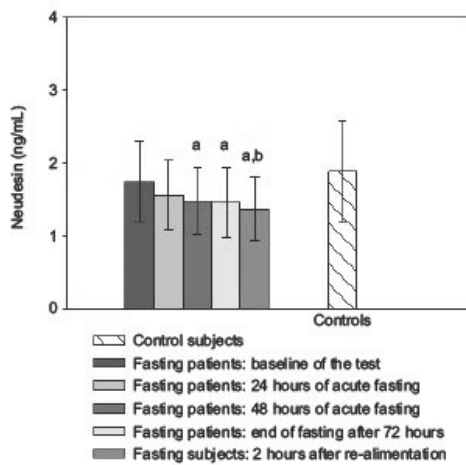


Figure 3 Serum neudesin levels: the effect of acute fasting.
Notes: Values are mean \pm SD. Statistical significance is from one-way repeated measures ANOVA. ^a $P < 0.05$ vs baseline. ^{a,b} $P < 0.05$ vs control subjects.

$P = 0.016$) in patients undergoing DJBL and with BMI ($R = -0.770$, $P = 0.009$) and insulin levels ($R = -0.579$, $P = 0.002$) in subjects undergoing the AF test. There was a positive correlation between neudesin mRNA expression in SAT and HbA_{1c} ($R = 0.398$, $P = 0.014$) in DJBL subjects.

Neudesin levels inversely correlated with CRP ($R = -0.396$, $P = 0.006$) in obese subjects with/without T2DM in the GP group, while negative correlation of neudesin levels with HbA_{1c} ($R = -0.501$, $P = 0.034$) was observed in obese patients with T2DM. Neudesin mRNA expression in SAT was inversely related to BMI ($R = -0.352$, $P = 0.041$) and blood glucose ($R = -0.424$, $P = 0.013$) across the groups undergoing GP.

Discussion

Neudesin is a novel neurotrophic factor originally identified in the CNS with multiple functions in organisms including regulation of food intake and energy homeostasis, behavior, and sympathetic activity.⁹ Similar to other hypothalamic neuropeptides that play a role in food intake and energy metabolism regulation,¹⁶ neudesin is also produced in numerous peripheral tissues including adipose tissue, heart, lung, and kidney.^{8,17} Experimental studies showed that neudesin-KO mice were resistant to diet-induced obesity and obesity-related metabolic dysfunction¹⁵ owing to increased sympathetic nervous activity with subsequent augmentation of energy expenditure, lipolysis in white adipose tissue, and heat production and free fatty acid oxidation in brown adipose

tissue.¹⁵ Interestingly, another study by Byerly et al¹³ showed that intracerebroventricular administration of recombinant neudesin decreased food intake and body weight suggesting its complex role in the regulation of energy homeostasis with potential differences in peripheral and central effects. Furthermore, neudesin administration was only efficacious in lean mice while its effects on food intake were blunted in obese mice that were fed an HFD.¹³

To the best of our knowledge, no data describing changes of circulating neudesin levels and its possible significance in the regulation of energy homeostasis in humans are available. In our study, baseline serum neudesin concentrations in obese subjects both with and without T2DM did not differ from healthy lean control subjects. To gain further insight into the dynamic regulation of serum neudesin concentrations we explored the influence of three interventions affecting energy homeostasis. In obese diabetic patients undergoing DJBL implantation circulating neudesin concentrations significantly increased 6 months after its insertion and remained elevated until month 10 when DJBL was removed. It is important to note that DJBL implantation led to a marked body weight loss and improvement of glucose control suggesting a possible interconnection of increased neudesin levels with these changes. This was further corroborated by the positive correlation between neudesin and serum insulin, which is especially interesting with regard to their common effector pathway including the activation of MAPK and PI3K signaling cascades.^{8,18} Nevertheless, the universality of a direct relationship between neudesin and metabolic state was not confirmed by our other data from obese diabetic subjects undergoing bariatric surgery. These patients, similar to DJBL patients, experienced marked weight loss and improvement in glucose control but their serum neudesin levels remained unchanged throughout the 12-month follow-up period. Finally, AF in nonobese individuals decreased neudesin levels again pointing out to its possible interconnection with energy homeostasis.

Adipose tissue has been described as one of the sources of neudesin in mice.¹⁹ To this end, we explored neudesin mRNA expression in patients undergoing bariatric surgery. Although we did not detect any differences between SAT and VAT neudesin mRNA expression, we found a transient increase in neudesin mRNA expression in SAT 6 months after GP in obese patients without T2DM, while no such change was detected in obese diabetics. Interestingly, these data differ from experimental results showing increased neudesin mRNA expression in white adipose tissue of mice that were fed an HFD.¹⁵ Using cultured 3T3-L1 preadipocytes, Kimura et al¹⁹ described suppression of adipogenesis

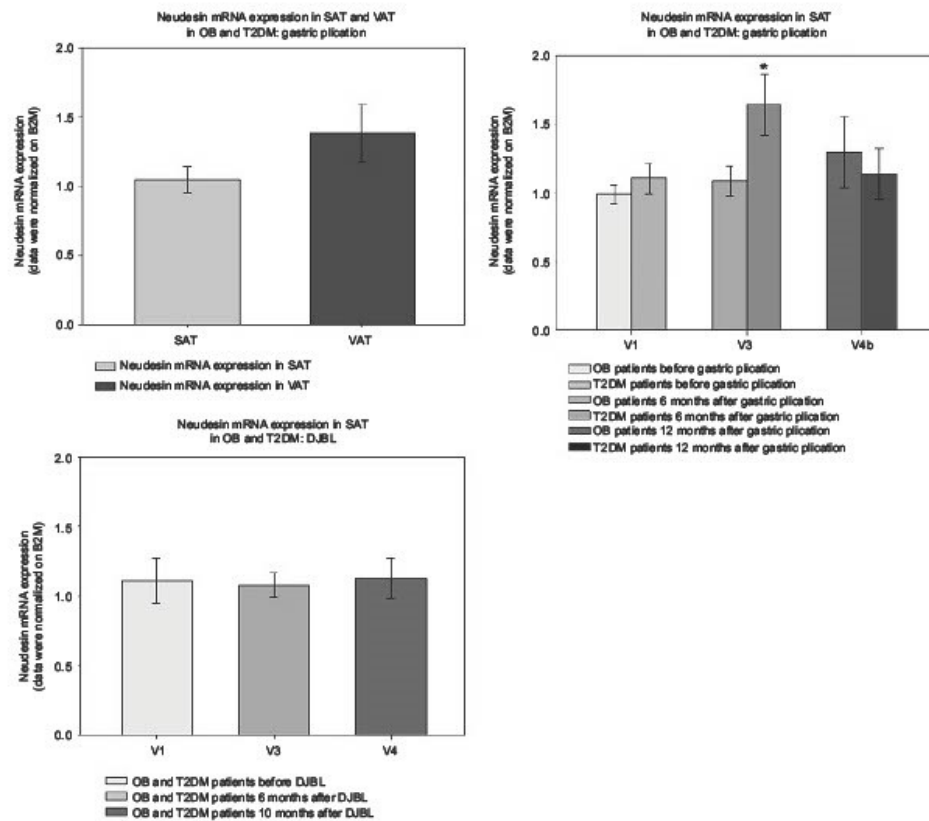


Figure 4 Neudesin mRNA expression in SAT and VAT during GP and DJBL.

Notes: Values are mean ± SD. Statistical significance is from unpaired t-test (OB vs T2DM). *P<0.05 vs OB group.

Abbreviations: DJBL, duodenal-jejunal bypass liner; OB, obese patients; T2DM, type 2 diabetes mellitus; V1, before intervention; V3, 6 months after intervention; V4, 10 months after intervention; V4b, 12 months after intervention; SAT, subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue; GP, gastric plication; B2M, beta-2 microglobulin.

induced by increased neudesin mRNA expression. It is thus plausible that this transient increase in adipose tissue neudesin mRNA expression could be connected to changes in adipogenesis induced by weight loss after bariatric surgery. Further studies are certainly needed to verify such a possible interconnection.¹⁹

As our study is the first to describe changes in circulating neudesin levels in humans, caution is necessary in data interpretation. Firstly, we measured circulating levels of neudesin that are very likely of peripheral origin and may not reflect its changes in the CNS. Currently, no experimental data with peripheral neudesin administration are available and it is thus not possible to conclude if actions of neudesin

in peripheral tissues can contribute to the improvements after DJBL. Importantly, in our study, neudesin levels were increased only after DJBL but not after GP (a restrictive-type bariatric procedure) despite comparable drop in body weight and improvement in glucose control after both interventions. These findings suggest that changes in the gastrointestinal tract induced by DJBL, eg, duodenal exclusion, modulation of bile acids or other DJBL-specific effects that are not present in patients after GP^{20,21} could have contributed to increased serum neudesin levels. Decreased neudesin concentrations after AF point out to possible differences in the regulation of neudesin under acute vs chronic interventions decreasing food intake. The obtained data do not enable us to explain

the different trends between serum neudesin levels and its mRNA expression in SAT with increased expression in obese GP subjects and no change in DJBL individuals; the findings nevertheless suggest that adipose tissue is not the primary source of systemic neudesin and that, in addition to increased adiposity, diabetic state might play a role in local adipose tissue regulation of neudesin production.

Taken together, serum neudesin levels increased after DJBL implantation in obese patients with T2DM and decreased after AF in nonobese subjects. On the other hand, serum neudesin was not affected by the restrictive-type bariatric procedure of GP. Overall, our data suggest a complex interconnection between changes in energy homeostasis and circulating neudesin concentrations with distinct effects of acute vs chronic energy restriction and differential influence of procedures affecting different parts of the digestive tract.

Acknowledgments

An abstract of this paper was presented at the American Diabetes Association (ADA) 78th Scientific Sessions, June 22–26, 2018, Orlando, FL, USA, and has been published.²² This study was supported by the Ministry of Health, Czech Republic – Conceptual Development of Research Organization (“Institute for Clinical and Experimental Medicine – IKEM, IN 00023001” and RVO VFN 64165).

Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

- O’Rahilly S. Science, medicine, and the future. non-insulin dependent diabetes mellitus: the gathering storm. *BMJ*. 1997;314(7085):955–959.
- Hruby A, Hu FB. The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*. 2015;33(7):673–689.
- Reaven G. Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation*. 2002;106(3):286–288.
- Reaven G. Syndrome X. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2001;3(4):323–332.
- Seoane-Collazo P, Fernø J, Gonzalez F, et al. Hypothalamic-autonomic control of energy homeostasis. *Endocrine*. 2015;50(2):276–291.
- Lau J, Herzog H. CART in the regulation of appetite and energy homeostasis. *Front Neurosci*. 2014;8:313.
- Farooqi IS, O’Rahilly S. 20 years of leptin: human disorders of leptin action. *J Endocrinol*. 2014;223(1):T63–T70.
- Ohta H, Kimura I, Konishi M, Itoh N. Neudesin as a unique secreted protein with multi-functional roles in neural functions, energy metabolism, and tumorigenesis. *Front Mol Biosci*. 2015;2:24.
- Kimura I, Yoshioka M, Konishi M, Miyake A, Itoh N. Neudesin, a novel secreted protein with a unique primary structure and neurotrophic activity. *J Neurosci Res*. 2005;79(3):287–294.
- Kimura I, Nakayama Y, Konishi M, et al. Functions of MAPR (membrane-associated progesterone receptor) family members as heme/steroid-binding proteins. *Curr Protein Pept Sci*. 2012;13(7):687–696.
- Han KH, Lee SH, Ha SA, et al. The functional and structural characterization of a novel oncogene GIG47 involved in the breast tumorigenesis. *BMC Cancer*. 2012;12(1):274.
- Kimura I, Nakayama Y, Zhao Y, Konishi M, Itoh N. Neurotrophic effects of neudesin in the central nervous system. *Front Neurosci*. 2013;7:111.
- Byerly MS, Swanson RD, Semsarzadeh NN, et al. Identification of hypothalamic neuron-derived neurotrophic factor as a novel factor modulating appetite. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2013;304(12):R1085–R1095.
- Novais A, Ferreira AC, Marques F, et al. Neudesin is involved in anxiety behavior: structural and neurochemical correlates. *Front Behav Neurosci*. 2013;7:119.
- Ohta H, Konishi M, Kobayashi Y, et al. Deletion of the neurotrophic factor neudesin prevents diet-induced obesity by increased sympathetic activity. *Sci Rep*. 2015;5:10049.
- Sun WW, Zhu P, Shi YC, et al. Current views on neuropeptide Y and diabetes-related atherosclerosis. *Diab Vasc Dis Res*. 2017;14(4):277–284.
- Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661–671.
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414(6865):799–806.
- Kimura I, Konishi M, Asaki T, et al. Neudesin, an extracellular heme-binding protein, suppresses adipogenesis in 3T3-L1 cells via the MAPK cascade. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;381(1):75–80.
- Haluzik M, Kratochvílová H, Haluzíková D, Mráz M. Gut as an emerging organ for the treatment of diabetes: focus on mechanism of action of bariatric and endoscopic interventions. *J Endocrinol*. 2018;237(1):R1–R17.
- Madsbad S, Dirksen C, Holst JJ. Mechanisms of changes in glucose metabolism and bodyweight after bariatric surgery. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2(2):152–164.
- Kratochvílová H, Lacinova Z, Klouckova J, et al. Neudesin, a Novel Regulator of Energy Metabolism in Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus—The Effect of Acute Fasting and Endoscopic Duodenal-jejunal Bypass Liner Implantation [abstract]. *Diabetes*. 2018;67(Suppl 1). Available from: http://diabetes.diabetesjournals.org/content/67/Supplement_1/2449-PUB.

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy

Dovepress

Publish your work in this journal

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy is an international, peer-reviewed open-access journal committed to the rapid publication of the latest laboratory and clinical findings in the fields of diabetes, metabolic syndrome and obesity research. Original research, review, case reports, hypothesis formation, expert

opinion and commentaries are all considered for publication. The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

Submit your manuscript here: <https://www.dovepress.com/diabetes-metabolic-syndrome-and-obesity-targets-and-therapy-journal>