

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie



Denisa Regine Novotná

Role exozomů v komunikaci mezi tukovou a srdeční tkání

The role of exosomes in communication between adipose and cardiac tissue

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel:

RNDr. Petr Zouhar, Ph.D.

Praha, 2024

Abstrakt

Extracelulární vezikuly včetně tzv. exozomů představují významný, nově identifikovaný, faktor při předávání informace mezi jednotlivými buňkami i orgány mnohobuněčného organismu. Exozomy běžně obsahují nukleové kyseliny, proteiny i celé organely. Produkce exozomů obsahujících mj. mitochondrie probíhá i v adipocytech tukové tkáně. Jelikož tuková tkáň představuje hlavní úložiště zásobních lipidů, její metabolismus a funkčnost mitochondrií v ní obsažených velice citlivě reagují např. na nutriční podmínky. Prostřednictvím produkce exozomů se mitochondrie z tukové tkáně mohou dostávat do dalších orgánů a ovlivňovat jejich metabolismus.

V poslední době se ukazuje, že významnou roli při progresi metabolického syndromu může hrát sekrece exozomů z tukové tkáně. V hypertrofované tkáni dochází k selhávání mitochondrií, kterých se adipocyty zbavují mj. jejich vylučováním v podobě exozomů. Většinu těchto exozomů s poškozenými mitochondriemi pohlcují makrofágy přímo v tukové tkáni. Část jich však může unikat do cirkulace a dostává se tak mj. až k srdci. Přijímání těchto exozomů myokardem a začleňování poškozených mitochondrií do vlastní mitochondriální sítě může mít překvapivě pozitivní účinky pro zvyšování odolnosti proti poškození při infarktu. Významou roli mohou hrát exozomy i při zbavování se nefunkčních mitochondrií hnědou tukovou tkání a dalšími buňkami. Transport mitochondrií prostřednictvím exozomů tak představuje nový potenciální cíl budoucí farmakoterapie metabolických a kardiovaskulárních onemocnění.

Klíčová slova: Exozom; mitochondrie; bílá tuková tkáň; myokardiální tkáň; buněčná komunikace

Abstract

Extracellular vesicles, including exosomes, represent an important, newly identified, factor in the information transmission between individual cells and organs of a multicellular organism. Usually, exosomes contain nucleic acids, proteins and even whole organelles such as mitochondria. The exosomes production takes place, among others, in adipocytes of adipose tissue. Because adipose tissue is the main repository of stored lipids, its metabolism and the functionality of its mitochondria react sensitively e.g. to nutritional conditions.

Recent studies have demonstrated that exosome secretion from adipose tissue may play a pivotal role in the progression of metabolic syndrome. In hypertrophied tissue, mitochondria fail, and adipocytes dispose of them by secreting them as exosomes. The majority of these

exosomes with damaged mitochondria are directly taken up by macrophages within the adipose tissue. However, a subset of them can escape into the circulation and reach the heart. The uptake of these exosomes by the myocardium and the incorporation of damaged mitochondria into its own mitochondrial network may have surprisingly positive effects for increasing resistance to damage in infarction. Furthermore, exosomes may also play an important role in ridding brown adipose tissue and other cells of dysfunctional mitochondria. Mitochondrial transport via exosomes thus represents a new potential target for future pharmacotherapy of metabolic and cardiovascular diseases.

Key words: Exosome; mitochondria; white adipose tissue; myocardial tissue; cell communication

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 26. 04. 2024

Denisa Regine Novotná

Poděkování

Za dokončení této práce a celého studia děkuji kofeinu.

Podpořeno projektem Národní institut pro výzkum metabolických a kardiovaskulárních onemocnění (Program EXCELES, ID: LX22NPO5104) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.



**Financováno
Evropskou unií**
NextGenerationEU



**NÁRODNÍ
PLÁN OBNOVY**



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

Seznam použitých zkratk

Acetyl-koenzym A (acetyl-CoA)

Adenosintrifosfátu (ATP)

Bílá tuková tkáň (WAT)

Český statistický úřad (ČSÚ)

Dýchací řetězec (ETC)

Flavoprotein (FADH₂)

Flavoprotein transportující elektrony (ETF)

Glycerol-3-fosfát dehydrogenáza (GPDH)

Hnědá tuková tkáň (BAT)

Interleukin (IL)

Makrofágy tukové tkáně (ATMs)

Malými extracelulárními vezikuly (sEV)

Mitochondriální DNA (mtDNA)

Molekuly asociované s buněčným poškozením (DAMP)

Multivezikulární tělíska (MVB)

Nikotinamidadenindinukleotid (NADH)

Penetrační proteiny (CPP)

Protein asociovaný s mikrotubuly 3 (LC3)

Proteiny tepelného šoku (HSP)

Reaktivní formy kyslíku (ROS)

Odpřahovací proteiny (UCP)

Srdeční makrofágy (cMacs)

Světová zdravotnická organizace (WHO)

The World Counts (TWC)

Tumor nekrotizující faktor (TNF)

Váčky odvozené od mitochondrií (MDV)

Seznam obrázků a tabulek

Obrázek 1: Životní cyklus mitochondrií

Obrázek 2: Mitochondriální metabolismus

Obrázek 3: Exozomy vs Mikrovezikuly

Obrázek 4: Multivezikulární tělíska

Obrázek 5: Zpracování exozomu

Obrázek 6: Přenos mitochondrií

Obrázek 7: Mitofagie

Tabulka 1: přehled sEV

Obsah

| | |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| Abstrakt | 2 |
| Abstract | 2 |
| Prohlášení..... | 4 |
| Poděkování | 5 |
| Seznam použitých zkratk..... | 7 |
| Seznam obrázků a tabulek..... | 8 |
| 1. Úvod | 11 |
| 2. Pandemie civilizačních onemocnění | 12 |
| 2.1. Tuková tkáň..... | 13 |
| 2.1.1. Bílá tuková tkáň..... | 13 |
| 2.1.2. Hnědá tuková tkáň..... | 15 |
| 2.2. Role imunity v metabolickém syndromu | 16 |
| 3. Mitochondrie | 19 |
| 3.1. Mitochondrie jako semiautonomní organely | 20 |
| 3.2. Mitochondrie jako centra energetického metabolismu | 21 |
| 3.3. Reaktivní formy kyslíku | 23 |
| 3.4. Rozpřažení dýchacího řetězce | 24 |
| 4. Exozomy..... | 26 |
| 4.1. Názvosloví | 26 |
| 4.2. Vznik exozomů | 27 |
| 4.3. Povrch a obsah exozomů | 29 |
| 4.4. Exozomy po uvolnění z buňky | 30 |
| 4.4.1. Likvidace imunitním systémem | 30 |
| 4.4.2. Přijetí do dalších tkání..... | 30 |
| 4.4.3. Zpracování exozomů v cílové buňce | 31 |
| 4.5. Horizontální přenos mitochondrií exozomy a dalšími cestami | 32 |
| 5. Transport mitochondrií mezi tukovou tkání a srdcem | 35 |
| 5.2. Negativní vliv adipocytárních exozomů na srdeční tkáň..... | 36 |
| 5.3. Pozitivní vliv adipocytárních exozomů na srdeční tkáň | 36 |
| 6. Využití exozomů s mitochondriemi v praxi..... | 37 |

| | |
|--------------------------|----|
| 7. Shrnutí..... | 39 |
| Zdroje | 41 |
| Knižní zdroje..... | 41 |
| Internetové zdroje..... | 41 |
| Odborná literatura | 41 |
| Obrázky..... | 50 |

1. Úvod

Tématem předkládané disertační práce je exozomální komunikace mezi tukovou a srdeční tkání, která podle posledních poznatků může hrát významnou roli v patogenezi obezity i srdečního selhání. Metabolický syndrom a kardiovaskulární onemocnění (tedy patologie podmíněné do značné míry dysfunkcí tukové tkáně a srdce) přitom představují jednu z nejzávažnějších poruch ze zdravotnického ekonomického hlediska. V první kapitole se proto věnuji obezitě a tradičním cestám, kterými hypertrofovaná tuková tkáň přispívá k progresi metabolického syndromu (tj. zejména zvýšené sekreci lipidů a prozánětlivých cytokinů). Na subcelulární úrovni dochází při obezitě zejména k poškození mitochondrií. Proto se dále věnuji i stručné charakteristice těchto organel, a přitom zdůrazňuji aspekty celé problematiky, které budou významné pro následující specifitější kapitoly (hlavně funkci dýchacího řetězce a produkci reaktivních forem kyslíku).

Různých typů exozomů je nesčetné množství. Po obecnější kapitole o exosomech, proto téma cíleně zužuji na exozomální přenos mitochondrií, protože právě tyto organely jsou klíčové pro buněčný energetický metabolismus, jehož nerovnováha v konečném důsledku podmiňuje jak rozvoj obezity, tak poruchy v činnosti energeticky náročných orgánů včetně srdce. Ukazuje se, že právě exozomální přenos mitochondrií mezi tukovou a srdeční tkání (do kterého může zasahovat i imunitní systém, zejména makrofágy) může představovat výrazný faktor v rozvoji zmíněných patologií.

Konkrétní cíle této bakalářské práce proto jsou:

- 1) zhodnocení recentních poznatků o významu transportu mitochondrií konkrétně mezi tukovou a srdeční tkání pro rozvoj srdečních patologií;
- 2) přehled o faktorech, které tento transport přímo ovlivňují (např. činnost imunitních buněk a stravování);
- 3) posouzení možnosti budoucího využití těchto nových zjištění při vývoji terapeutických přístupů k léčbě patologií spojených s obezitou a metabolickým syndromem.

2. Pandemie civilizačních onemocnění

Obezita vzniká jako dysbalance mezi energetickým příjmem a výdejem. V důsledku rostoucí dostupnosti technologií a služeb, které nám umožňují vést sedavý život, dochází u velké části populace k poklesu energetického výdeje. Současně vlivem dostupné potravy pozvolna narůstá energetický příjem, přičemž negativní roli hraje i suboptimální složení zejména tzv. západní diety. Ta sestává z průmyslově zpracovaných kalorických potravin s vysokým obsahem tuků, nebo přidaných cukrů, které se někdy používají v potravinářství, aby zlepšily chuť nízkotučných verzí produktů (Rakhra et al., 2020). Potraviny jsou dnes často navrženy ne tak, aby byly nutričně vyvážené, ale primárně tak, aby spouštěly centra odměny v mozku a naváděly tak spotřebitele k jejich další konzumaci (Onaolapo & Onaolapo, 2018). Zároveň, pokud tělo nezíská z potravy všechny potřebné nutrienty, vede to k pocitu hladu, aby byly doplněny (Timper & Brüning, 2017). V praxi se ale často dotýčný nají dalšího nevyváženého jídla.

Proto se obezita stává celosvětovým problémem a rozmáhající se zdravotní hrozbou. Protože se dnes podle Světové zdravotnické organizace (WHO, The World Health Organization) týká každého osmého člověka, tedy miliardy lidí a další téměř 2 miliardy mají nadváhu, podobá se obezita panepidemii (WHO, 2024). Obezita není jen kosmetický problém, ale hlavní rizikový faktor, který napomáhá rozvoji chronických onemocnění, např. diabetu 2. typu, kardiovaskulárních onemocnění, spánkových poruch, muskuloskeletálních poruch, hormonální nerovnováhy a některých druhů rakoviny. Metabolické poruchy svázané s nerovnováhou energetického příjmu a výdeje (inzulínová rezistence, aterogenní dyslipidémie, centrální obezita a hypertenze) bývají shrnovány pod pojem metabolický syndrom (Fahed et al., 2022). Celosvětově umírá každý rok na potíže způsobené obezitou (hlavně diabetes, mrtvici a infarkt) skoro 4,7 milionu lidí, to je asi 8 % všech úmrtí. Pro srovnání, přibližně stejné množství obětí má znečištění ovzduší (TWC, 2024). Dalším významným okruhem poruch spjatých s metabolickým syndromem jsou i kardiovaskulární onemocnění, na něž v České republice každoročně umírá podle Českého statistického úřadu (ČSÚ) 32 % všech zemřelých. Ze srdečních onemocnění připadá asi polovina na ischemickou srdeční chorobu. Další jsou akutní infarkt myokardu a srdeční selhání. (ČSÚ, 2024)

Řešení obezity vyžaduje mnohostranný, nejen lékařský, přístup. Základem je edukace populace, pro niž je potřeba mít dostatek vědeckých informací. Ty usnadní popularizaci zdravé životosprávy a mohou posloužit i vývoji nových farmakologických a lékařských metod.

2.1. Tuková tkáň

Obezita je spojena s bytněním tukové tkáně, což je volné vazivo tvořené přibližně z poloviny adipocyty a z poloviny buňkami vaskulárního stroma (zejména preadipocyty a různé typy leukocytů v proměnlivém poměru podle metabolického stavu jedince – např., makrofágy a neutrofilny (Tchoukalova et al., 2004) – viz také kapitulu 2.2. Role imunity v metabolickém syndromu). V těle se nacházejí tři typy tukové tkáně, a sice bílá (WAT z anglického *White adipose tissue*), hnědá (BAT z anglického *Brown adipose tissue*) a běžová tuková tkáň. S obezitou a jejími negativními konsekvencemi je spojena patologie WAT, jejímž primárním úkolem je bezpečné skladování zásobních lipidů. Stimulace BAT a běžových adipocytů je naproti tomu spojována s určitými nadějemi na léčbu metabolického syndromu. V následující podkapitole se proto budu obšírněji věnovat WAT zatímco ostatní tukové tkáně poté zmíním jen velmi stručně.

2.1.1. Bílá tuková tkáň

Základní stavební jednotkou WAT jsou bílé adipocyty; kulovité unilokulární buňky (tj. vyplněné jednou velkou tukovou kapénkou, která vytěsňuje zbylé organely k buněčné membráně) (Cinti, 2011). Uvnitř kapének jsou neutrální lipidy jako tri- a diacylglyceroly, estery retinolu a cholesterolu (Greenberg&Coleman, 2011). Hlavní funkcí WAT je skladování lipidů a jejich metabolismus zahrnující syntézu triacylglycerolů. Objem těchto buněk je zase udáván balancí mezi lipogenezí a lipolýzou. Celkový počet adipocytů je výsledkem rovnováhy mezi jejich proliferací a odumíráním. Existují dva hlavní mechanismy růstu tukové tkáně: zvětšování buněk (hypertrofie) a jejich proliferace (hyperplázie) (Arner et al., 2010). Hyperplázie je zpravidla preferovaný způsob zvyšování skladovací kapacity, protože masa malých adipocytů si většinou udržuje vysokou metabolickou flexibilitu a citlivost k hormonálnímu působení (zejména inzulinu). Abnormálně hypertrofované adipocyty naopak tyto vlastnosti ztrácejí. Bez ohledu na metabolický stav, v nich probíhá ve větší míře lipolýza a sekrece mastných kyselin, což jsou procesy, které jsou po jídle u zdravých adipocytů potlačované. To u obezity vede ke zvýšenému množství mastných kyselin a dalších lipidů v cirkulaci (Kojta et al., 2020). Skladovací kapacita adipocytů není neomezená a když se vyčerpá a stávající buňky není možné více naplnit, vznikají další (EsteveRàfols, 2014). Tento mechanismus stojí za vznikem obezity.

Ačkoliv adipocyty nejsou jediné buňky, v nichž se mohou ukládat lipidy, svou kapacitou ostatní tkáň dalece předčí. Omezené množství lipidů se za určitých podmínek objevuje i v hepatocytech a myocytech. Stává se tak často právě u obézních jedinců, u nichž hypertrofovaná tuková tkáň neustále vylučuje lipidy, které se pak ukládají na jiných místech

(Rajjo et al., 2014). Tato ektopická akumulace lipidů vede k rozvoji patologií jako je snižování citlivosti k inzulinu (Morino et al., 2006). Vyčerpání skladovací kapacity tukové tkáně a ektopická akumulace lipidů v játrech a svalech je tak patrně jedním z klíčových mechanismů, který propojuje obezitu s dalšími složkami metabolického syndromu, zejména diabetem 2. typu, který je podmíněn právě inzulinovou rezistencí (Barnard, 1998). Určité množství ektopických lipidů uvnitř svalových vláken i v tukových buňkách mezi nimi se paradoxně vyskytuje i u vytrvalostních sportovců, kde se patrně jedná o pohotovostní rezervu pro aerobní energetický metabolismus a kde zmíněné problémy s citlivostí k inzulinu nejsou pozorovány (Goodpaster et al., 2001). Je zajímavé, že akumulace lipidů pozorovaná běžně v kosterním svalu neprobíhá i u srdečních buněk, kardiomyocytů. Ty totiž lipidy získávají prakticky výlučně z cirkulace, mj. prostřednictvím pohlcování na lipidy bohatých exozomů. Zastoupení tuků v lumen takových vezikulů narůstá po jídle (Garcia et al., 2019).

WAT má rovněž významnou sekreční funkci: Vedle mastných kyselin vylučuje proteinové hormony jako resistin adiponektin (který mimochodem mj. pozitivně reguluje regeneraci srdeční tkáně (L. Wang et al., 2022) a leptin, jehož primární funkcí je sice regulace pocitu hladu, ale také zvyšuje odolnost kardiomyocytů vůči apoptóze a zlepšuje jejich schopnost substrátové oxidace (Gava et al., 2021). Působením těchto hormonů nebo poruchami citlivosti k nim tuková tkáň rovněž výrazně zasahuje do rozvoje celotělového metabolického syndromu. Bílá tuková tkáň se z hlediska distribuce dělí na subkutánní, nejzastoupenější v oblasti hýždí, stehen a břicha, a viscerální v břišní dutině, kostní dřeni a také kolem cév (Esteve Ràfols, 2014). Viscerální tuková tkáň se akumuluje zejména v oblasti břišní dutiny. Velká část krve je z ní odváděna portálním systémem přímo do jater, což je patrně důvod, proč je hypertrofie viscerální tukové tkáně úzce spojena se závažnými metabolickými poruchami (Qureshi et al., 2007). Viscerální WAT při expanzi vylučuje množství prozánětlivých molekul (viz dále) a volné mastné kyseliny, které poškozují krevní cévy a přispívají k rozvoji chronického zánětu. Ukládání určitých typů lipidů (ceramidy, cholesterol přinášený prostřednictvím lipoproteinů o nízké hustotě, čili LDL) v cévních stěnách atrahuje imunitní buňky, které tyto lipidy fagocytují a mění se při tom v tzv. pěnové buňky (Barzi, 2005). Tímto způsobem narůstají v cévních stěnách aterosklerotické pláty, které se mohou utrhnout a ucpat drobnější cévy. To má fatální následky zejména v mozku (mozková mrtvice) a věnčitých tepnách srdce (infarkt myokardu).

Subkutánní WAT je v tomto směru méně metabolicky aktivní, slouží jako mechanický obal těla a může produkovat i adipokiny, které regulují krevní tlak a působí protizánětlivě

(Akoumianakis & Antoniadis, 2017). Přednostní ukládání tuku v subkutánní spíše, než viscerální WAT je proto spojeno s menšími metabolickými riziky. Jedním z významných parametrů pro posouzení rizikovosti obezity proto může být tzv. waist-hip ratio, tedy poměr obvodu pasu (kde se akumuluje viscerální WAT) a boků (místa ukládání subkutánní WAT). Nízký poměr obvodu pasu ku obvodu boků indikuje vyšší podíl méně nebezpečné subkutánní tukové tkáně (Cameron et al., 2012). Bytnění subkutánní WAT (tzv. gynoidní nebo „hruškovitý“ typ obezity) je typické zejména pro ženy. Muži naopak ve zvýšené míře trpí sklony k nebezpečnější centrální viscerální obezitě (tzv. androidní typ) (Cameron et al., 2012).

Zatímco viscerální WAT ovlivňuje svými sekrety přímo játra, pro činnost srdce by mohla být významná tzv. epikardiální tuková tkáň, tedy depo uvnitř osrdečníku, které může vylučovat hormony i mastné kyseliny přímo do perikardiální tekutiny, odkud mají tyto látky teoreticky přístup ke kardiomyocytům (Chaldakov, 2000). Studiu tohoto tukového depa u pacientů se srdečním selháním se naše laboratoř v minulosti věnovala ve spolupráci s Institutem klinické a experimentální medicíny (Janovska, 2020). Pokračováním této spolupráce by měl být i projekt v rámci Národního institutu pro výzkum metabolických a kardiovaskulárních onemocnění (<https://cardia.ikem.cz/>), který se bude mj. věnovat obsahu exozomů v perikardiální tekutině různých skupin pacientů podstupujících operaci srdce.

2.1.2. Hnědá tuková tkáň

BAT je zvláštní typ tukové tkáně vyskytující se speciálně u placentálních savců (Cannon & Nedergaard, 2004). Pokud má WAT primární roli v ukládání lipidů, pak je BAT naopak uzpůsobena jejich rychlému spalování a produkci tepla. Oproti buňkám WAT jsou hnědé adipocyty tzv. multilokulární (tj. obsahují mnoho drobnějších tukových kapének s relativně velkým povrchem přístupným lipolytickým enzymům). Hnědé adipocyty také obsahují velké množství mitochondrií, kde mohou být mastné kyseliny uvolněné lipolýzou (ale nejen ty) rychle oxidovány (viz kapitola 3. Mitochondrie). Mitochondrie hnědých adipocytů navíc obsahují unikátní tzv. odpráhovací protein UCP1 (z angl. *Uncoupling protein 1*, viz blíže kapitolu 3.2.3. Rozpřažení dýchacího řetězce), který umožňuje uvolnit většinu energie jako teplo. Zatímco u drobných a hibernujících savců a lidských novorozenců umožňuje BAT efektivní a rychlou produkci tepla, její objev u dospělých lidí (Q. Wang et al., 2015) vzbudil naděje, že by aktivace UCP1 (např. farmakologická) mohla u obézních pacientů zvýšit energetický výdej a pomoci snižování hmotnosti.

Je zajímavé, že při adaptaci na chlad se morfoloogicky hnědé adipocyty u experimentálních hlodavců objevují i v typicky bílých tukových depech, zejména např. v subkutánní tukové tkáni. Tyto buňky označujeme za béžové (odstín mezi bílou a hnědou) či tzv. brite (z angl. brown-in-white) a proces jejich objevování ve WAT pak jako hnědnutí tukové tkáně (Rosenwald et al., 2013). Podrobnější popis problematiky BAT, hnědnutí a termogenních mechanismů je však již mimo rámec této práce.

Z hlediska souvislostí mezi tukovou a srdeční tkání je zajímavé pozorování, že k zvýšenému hnědnutí tukových dep okolo cév a srdce dochází i v důsledku některých srdečních patologických stavů (Aldiss, 2016).

Po ischemii např. v důsledku infarktu, aterosklerózy, nebo náhlé srdeční zástavy se mění vnitřní morfoloogie tukových buněk, zvyšuje se syntéza proteinu UCP1 a tukové kapénky se rozpadají na menší (L. Wang et al., 2022). WAT tak získává vnitřní strukturu připomínající BAT, spojenou se sníženou adipozitou a lepším kardiometabolickým zdravím (Rosina et al., 2022a). Krom toho nekróza buněk v důsledku ischemie, která při srdečních příhodách postihuje i jiné tkáně, vede k infiltraci makrofágů (L. Wang et al., 2022).

2.2. Role imunity v metabolickém syndromu

Výše jsem se stručně dotkla sekrece pro- a protizánětlivých molekul z tukové tkáně. Imunitní systém hraje obecně klíčovou úlohu při zprostředkování dopadů obezity na další orgánové soustavy. Hypertrofovaná tuková tkáň se při obezitě často nachází ve stavu chronického zánětu. Adipocyty průběžně podléhají apoptóze, s hypertrofií ale roste i riziko nekrotického odumírání adipocytů. Jak apoptotická tělíška, tak nitrobuňčný materiál uniklý z nekrotického adipocytu je odstraňován makrofágy, které zastupují hlavní složku zánětlivé odpovědi a mohou aktivovat i jiné typy leukocytů. Nekrotický materiál přitom obsahuje velké množství molekul asociovaných s buněčným poškozením (DAMP z angl. *Damage-associated molecular pattern*; např. ATP, kyselina močová a DNA), které vykazují obzvláště silné prozánětlivé účinky (Roh & Sohn, 2018). Histologicky je v hypertrofované tkáni možno pozorovat tzv. crown-like structures, což jsou shluky drobných makrofágů kolem odumírajícího adipocytu (Faria et al., 2020).

Ve WAT jsou nejčetnější tzv. rezidentní makrofágy tukové tkáně (ATMs z angl. *Adipose tissue macrophages*) s charakteristickou povrchovou molekulou CD11b (Liang et al., 2022). Další hojné bílé krvinky jsou eozinofily, žírné buňky a lymfocyty. Jejich celkové množství

koreluje s objemem WAT (Weisberg et al., 2003). V BAT jsou naopak po makrofázích nejhojnější neutrofilny (Borcherding et al., 2022).

ATMs se v tukovém tkáni mohou vyskytovat nejméně ve dvou různých typech. Tzv. M1 makrofágy likvidující nekrotický a apoptotický materiál v hypertrofovaném tuku a uvolňující prozánětlivé cytokiny (např. tumor nekrotizující faktor TNF (z angl. *Tumor necrosis factor*) a řada interleukinů (IL), např. IL-1, IL-6, IL-8 a IL-12.)), které mohou negativně ovlivňovat metabolismus okolních buněk nebo dokonce působit endokrinně na další orgány (Westerbacka et al., 2008). Také hypertrofované adipocyty, nejen imunitní buňky, sekretují prozánětlivé mediátory, jako je IL-6, a tím přispívají k chronickému zánětu. Právě ten propojuje obezitu s tzv. kardiometabolickými komorbiditami: kardiovaskulárními příhodami, aterosklerózou a diabetem 2. typu (Barzi, 2005). Naproti tomu tzv. alternativně aktivované makrofágy, či M2 zánět spíše tlumí (Orecchioni et al., 2019). Jejich zvýšené zastoupení je proto žádoucí. Poměr M1 a M2 makrofágů je další z parametrů určujících závažnost zdravotních dopadů obezity.

Při rozeznání a pohlcení subcelulárních fragmentů hraje významnou roli tyrozin kináza Merk (Lemke, 2019). Další povrchová molekula zapojené do rozeznání částic a jejich fagocytózy je heptosulfát. Jeho syntéza bývá u obézních jedinců potlačena, inhibují ji totiž meziproducty katabolismu nasycených mastných kyselin s dlouhými řetězci (Pachikian et al., 2011), které jsou ve velkém obsažené v takzvané západní dietě. Mimo apoptotických váček makrofágy likvidují i patogeny, nebo, což je významné pro téma této práce, sekretované exozomy. Aktivita makrofágů tak do jisté míry ovlivňuje množství exozomů, které se z dané tkáně (např. z WAT) dostane až do cirkulace a může tedy ovlivnit další orgány (Borcherding et al., 2022). Fagocytózou exozomu se do makrofágů dostává mimo jiné protein HSP-27 (z anglického *Heat shock proteins*) Ten pozitivně ovlivňuje homeostázu cholesterolu makrofágů (Boilard, 2018), které díky tomu lépe zachovávají cévní integritu, čímž brání např. rozvoji aterosklerózy (Milutinović et al., 2020)

Exozomy produkují i samotné bílé krvinky (leukocyty), mezi něž makrofágy patří (Ying et al., 2017). Vedle cytokinů tak tyto exozomy představují další cestu parakrinního či endokrinního působení imunitních buněk.

Srdeční makrofágy (cMacs z angl. *Cardial macrophages*) jsou rezidenční v myokardu. Nesou trojici povrchových molekul: CD11b, CD45 a F4/80 a úžeji se dělí do tří podskupin podle poměru exprese Ly6C a MHC-II (Epelman et al., 2014)(Molawi et al., 2014). Dosud nejasným způsobem cMacs ovlivňují, jaký substrát je preferenčně využíván srdečními buňkami

pro produkci ATP. Při standardním množství cMacs je využívána výhradně glukóza, při jejich nižším počtu lipidy. Deplece těchto leukocytů tedy podporuje metabolizování mastných kyselin, čímž se zvyšuje oxidační stres a pravděpodobnost poškození mitochondrií (Nicolás-Ávila et al., 2020) (viz také další kapitoly).

cMacs likvidují mj. exozomy vylučované z kardiomyocytů. Překvapivé je, že naproti situaci ve WAT, pokud chybí makrofágy v srdeční tkáni, mitochondriální materiál se nehromadí v prostoru mezi kardiomyocyty. Za takové situace je v mezibuněčném prostoru velmi málo exozomů (zejména těch s mitochondriálním obsahem). Koncentrace těchto částic naopak roste v cytoplazmě kardiomyocytů, což zhoršuje celkový stav těchto buněk (Nicolás-Ávila et al., 2020). Tento fakt naznačuje, že přítomnost cMacs je nezbytná pro proces mitofagie a uvolňování exozomů. Cytokiny těchto leukocytů totiž ovlivňují NF- κ B dráhu, která mimo jiné reguluje úroveň autofagie snižováním exprese genu ATG1 pro protein Atg1, regulátor ubiquitinilace a sestavování autofagozomu (Germic et al., 2019). Schopnost kardiomyocytů produkovat vezikuly je přitom klíčová i pro záchovu mechanických vlastností srdce. Srdeční fibroblasty produkují extracelulární matrix a profibrotické faktory při hojení, při jejich zvýšené aktivitě dochází k fibrinotěnění tkání. Exozomy, které kardiomyocyty produkují po fyzické aktivitě obsahují specifickou mikroRNA (miR-29b, miR-455), která potlačuje fibrotickou aktivitu a pomáhá tkáni zůstat pružná (Chaturvedi et al., 2015).

Vyjma čištění tkání a podporou autofagie, cMacs produkcí cytokinů, které stimulují regeneraci (IL-12, IL-17) vytvářejí vhodné prostředí pro tkáňovou obnovu jako takovou. Proto deplece vede k výrazně horšímu průběhu infekcí a delšího zotavování se po srdečních příhodách. Proto zvyšuje absence cMacs před ischemií pravděpodobnost úmrtí pacienta po reperfuzi (Nicolás-Ávila et al., 2020). Tkáň není schopná regenerovat, pružnost svalu klesá a srdce ochabuje, což může samo o sobě vést až ke kolapsu levé komory (Nicolás-Ávila et al., 2020).

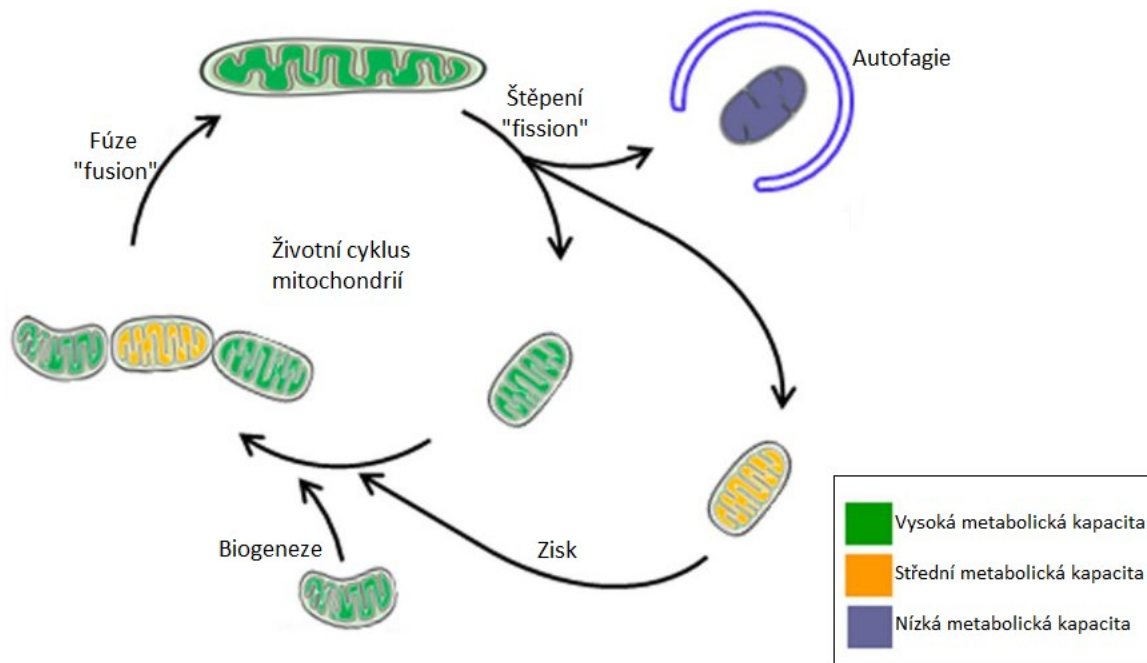
3. Mitochondrie

Obezita, coby nerovnováha mezi energetickým příjmem a výdejem, má na subcelulární úrovni úzkou souvislost s činností mitochondrií, jakožto centrálních organel buněčného energetického metabolismu. Mitochondrie představují tzv. semiautonomní organely, které patrně evolučně vznikly splynutím předka eukaryotní buňky s prokaryotním organismem z okruhu alfa proteobakterií. S tím souvisí několik typických charakteristik mitochondrií, jako jejich dvojitá membrána (odpovídající situaci u gram-negativních bakterií) a vlastní genetická informace na kruhovém mitochondriálním chromozomu, dále schopnost binárního dělení a pro exozomální transport nezbytného pučení. Mitochondrie nejsou stabilně vymezené organely. Vytvářejí v buňce dynamickou síť, přičemž jejich splývání (angl. *fusion*) a dělení (angl. *fission*) je ovlivňováno mj. energetickým stavem buňky, jak shrnuje Obrázek 1 (Zhang & Miao, 2023). Jejich celkový obsah v jedné buňce závisí na jejím typu: metabolicky inaktivní buňky (keratinocyty) jich mají málo, tkáně s vysokým metabolickým obratem (neurony, kardiomyocyty, hepatocyty) tisíce. Proto většina mitochondriálních patologií (encefalopatie, myoklonická epilepsie a dystrofie) postihuje nervovou a svalovou soustavu. Např. srdeční sval neodpočívá a jeho správná činnost je odkázaná na spolehlivou produkci energie. Navzdory celoživotnímu čelení mechanické a metabolické zátěži jsou kardiomyocyty dlouhověké buňky s minimální mírou regenerace. Specifické je, že zatímco jiné tkáně regenerují proliferací progenitorových buněk, v srdci proliferují plně diferencované kardiomyocyty. V praxi se tak snadno šíří např. abnormální mitochondrie, (Lam & Sadek, 2018) z čehož vyplývá kritická souvislost mezi mitochondriální dysfunkcí a kardiopatologiemi.

Kromě toho mitochondrie fungují (spolu s endoplazmatickým retikulem) jako rezervoáry vápenatých iontů, důležitých signálních molekul a regulátorů enzymatické aktivity. Skrze produkty zde probíhajících biochemických drah (Krebsův cyklus, část cyklu močoviny, beta oxidace mastných kyselin, syntéza mitochondriální DNA) (Guo et al., 2013) ovlivňují mitochondrie redoxní prostředí uvnitř buněk, zejména skrze produkci reaktivních forem kyslíku (ROS z anglického *Reactive oxygen species*) a na ní závislých změn pH.

Mitochondrie jsou zapojené také do syntézy látek, které zprostředkovávají přenos elektronů v mitochondriálním dýchacím řetězci (ETC angl. *Electron transporting chain*), jako železo-sírných komplexů a ubichinonu (Y. Wang et al., 2015).

Obrázek 1: Životní cyklus mitochondrií



Když mitochondriím poklesne z důvodu poškození, nebo stárnutí membránový potenciál, pučením se oddělí od zbytku sítě (angl. fission), jsou pohlceny autofagozomem a lyzovány. Přečasně oddělené, nebo získané mitochondrie se do mitochondriální sítě fúzí začleňují (angl. fusion). (upraveno podle Zhang & Miao, 2023)

3.1. Mitochondrie jako semiautonomní organely

Mitochondriální DNA (mtDNA) tvoří asi 1% genetické informace organismu a u člověka kóduje, mimo jiné, 13 ze 70 proteinů dýchacího řetězce. Mutace či poškození v kódující oblasti mtDNA vede k selhání energického metabolismu. Replikace mtDNA je zajišťována specifickou jaderně kódovanou DNA polymerázou γ , která má oproti jiným eukaryotním polymerázám nižší přesnost přepisu genetické informace (Longley et al., 2001). Spolu s vystavením mtDNA zvýšenému množství ROS (viz dále) způsobuje tato polymeráza vysokou mutační rychlost mtDNA (ta je 10 až 20krát vyšší, než je tomu u jaderné DNA (Brown et al., 1979).

Původní teorie stárnutí (Berkeley, 1956) předpokládala, že hromadění mutací v mitochondriálních genech podjednotek dýchacího řetězce vede k horší funkci dýchacího řetězce a vzniku většího množství ROS, které pak dále zvyšují mutační rychlost. Tento předpoklad se v pozdějších experimentech ale spíše nepotvrdil (Azzouz et al., 2004). Přesto není jejich akumulace prospěšná.

Zatímco geny jaderného genomu jsou v každé diploidní buňce organismu zastoupeny ve dvou kopiích získaných kombinací genetické informace obou rodičů, mitochondriální DNA se předává téměř výhradně po mateřské linii a v buňce je zastoupena v tisících kopiích. Případná mutace mtDNA tedy může být v buňce zastoupena jakýmkoli podílem v rozpětí 0-100% (tzv. heteroplazmie). Fenotypový projev však taková mutace získává až od určitého hraničního zastoupení (např. (Maassen et al., 2004). Hromadění mutací mtDNA buňky zabraňují odstraňováním mitochondrií s vadnou mtDNA procesem mitofagie, což je zvláštní typ autofagie (Torralba et al., 2016), který je zapojen i do vzniku extracelulárních váčků nesoucích mitochondrie, jak bude ještě zmíněno níže.

3.2. Mitochondrie jako centra energetického metabolismu

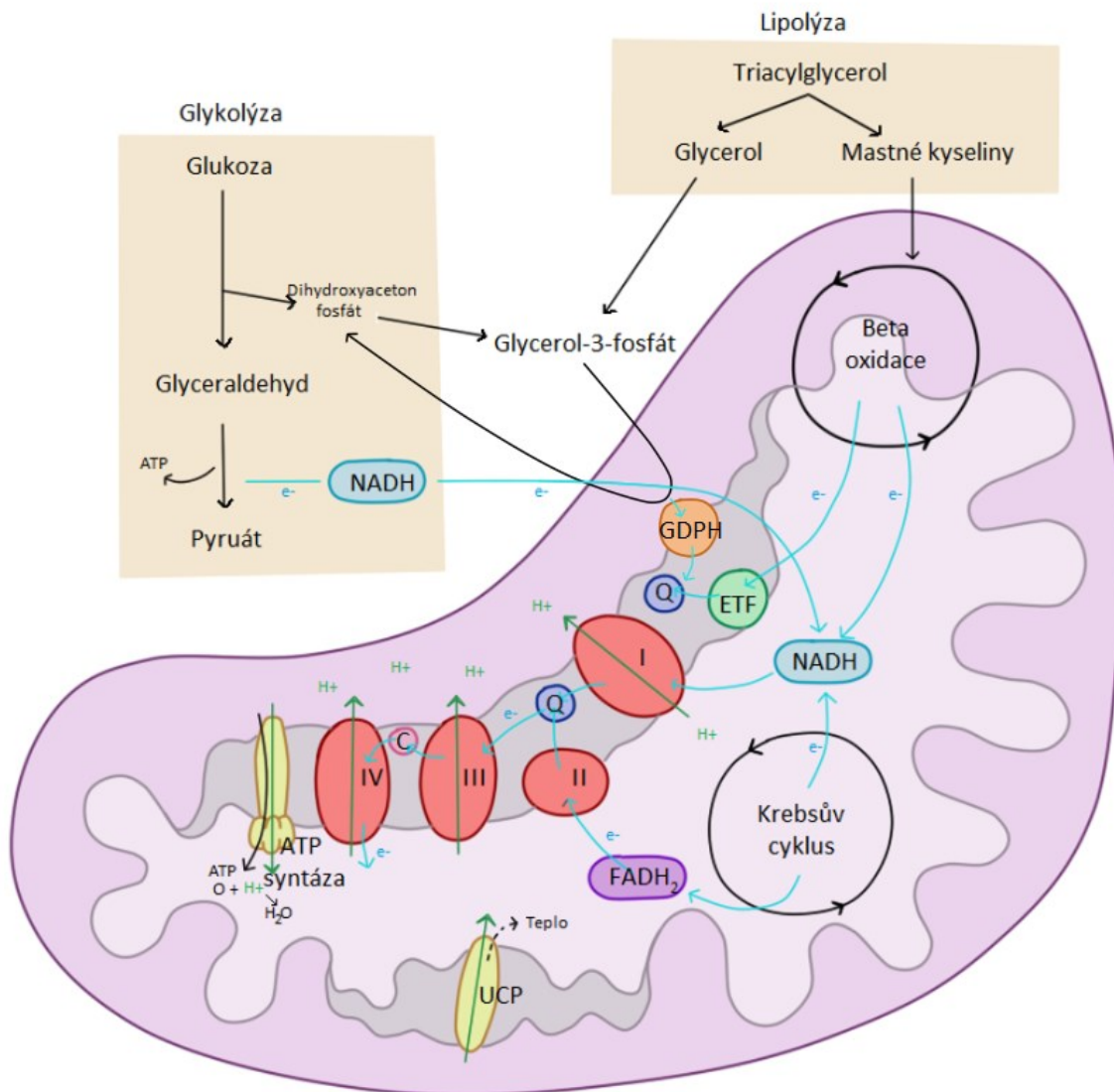
Mitochondrie se označují za buněčné elektrárny, protože jsou místem průběhu katabolických procesů, zejména elektron transportního neboli dýchacího řetězce (ETC z anglického *Electron transporting chain*), Krebsova cyklu a beta oxidace, a produkují většinu buněčného adenosintrifosfátu (ATP).

Zdrojem ATP je zejména elektrochemický gradient protonů na vnitřní mitochondriální membráně, který pohání ATP-syntázu. Protonový gradient je vytvářen jednotlivými komplexy ETC. Energetické substráty (lipidy, sacharidy) jsou v buňce oxidovány procesy glykolýzy, beta-oxidace a Krebsova cyklu, přičemž odevzdávají elektrony elektronovým přenašečům (volnému nikotinamidadenin dinukleotidu NAD⁺ a flavinadenin dinukleotidu FAD, který je integrální součástí některých komplexů dýchacího řetězce), které tím redukuje.

Beta-oxidace probíhá v cytosolu prokaryot, nebo právě v mitochondriích eukaryot. (Což souvisí s prokaryotickým původem mitochondrií.) Dlouhé řetězce mastných kyselin se postupně zkracují v jednotlivých cyklech této čtyřkrokové biochemické dráhy, během které se redukuje koenzymy NADH a FADH₂ a vzniká acetyl-koenzym A (acetyl-CoA), tedy výchozí substrát pro Krebsův cyklus. Jiným zdrojem acetyl-CoA je glykolýza, během které se glukóza mění na pyruvát, který je záhy metabolizován na acetyl-CoA. Acetyl-CoA je základní substrát Krebsova cyklu, ve kterém vznikají další molekuly NADH a FADH, které přenášejí H⁺ do ETC. Tyto elektrony jsou následně předány skrze komplexy I a II do dýchacího řetězce, kde na základě elektrochemického gradientu koenzymem Q a cytochromem C předávány na komplexy III a IV. Při průchodu elektronů přes komplexy I, III a IV je jejich energie využívána k přenosu H⁺ z matrix do mezimembránového prostoru (podrobněji např. učebnici biochemie Voet et Voet a Obrázek 2). Vzniká tak koncentrační gradient, který se vyrovnává transportem protonů zpět

do matrix skrze ATP-syntázu za vzniku ATP a vody (případně za vzniku tepla skrze protein z rodiny UCP, podrobněji v kapitole Rozpřažení dýchacího řetězce.)

Obrázek 2: Mitochondriální metabolismus



Mitochondriální část katabolismu mastných kyselin, beta oxidace, probíhá z části v mezimembránovém prostoru a z části v matrix. Nejprve acyl-CoA dehydrogenáza odštěpuje z řetězce mastných kyselin dva vodíky pro redukci FAD⁺ na FADH₂. Na dvojnou vazbu záhy aduje enoyl-CoA hydratáza vodu. Hydroxyacyl-CoA dehydrogenáza dále odštěpuje další atom vodíku z řetězce mastné kyseliny a iont je využitý k redukci NAD⁺ na NADH. Poslední reakcí je štěpení thiolázou, čímž se z řetězce mastné kyseliny uvolní acetyl-CoA. Nyní o dva uhlíky zkrácený zbytek mastné kyseliny znovu vstupuje do cyklu beta oxidace a proces se opakuje,

dokud se mastná kyselina zcela nerozštěpí. Acetyl-CoA, který je následně zpracováván ve sledu reakcí souhrnně zvaných Krebsův cyklus za vzniku dalších molekul NADH a FADH₂, je produkován také glykolýzou. NADH, částečně vzniklé v matrix v Krebsově cyklu, částečně sem transportované z cytosolu pomocí GPDH, následně elektrony předává komplexu I. Elektrony ze sukcinátu, meziprojektu Krebsova cyklu, vstupují do ETC přes komplex II. Konečně část elektronů z beta oxidace vstupuje do ETC prostřednictvím flavoproteinu transportujícího elektrony (komplex ETF – z angl. Electron-transport flavoprotein). Komplexy I, II a ETF předávají elektrony dále na ubichinon (koenzym Q), který je předává komplexu III. Odtud se prostřednictvím cytochromu c dostávají na komplex IV, kde reagují se svým konečným akceptorem kyslíkem za vzniku vody. Průchodem elektronů některými komplexy jsou z matrix do mezimembránového prostoru čerpány protony, které pak pohání ATP-syntázu.

3.3. Reaktivní formy kyslíku

Syntéza ATP prostřednictvím ETC je výrazně efektivnější, než anaerobní oxidace (zatímco je z molekuly glukózy je při plné oxidaci až na oxid uhličitý možné získat pomocí ETC až 38 molekul ATP, anaerobní oxidace např. při mléčném kvašení v bílých vláknech kosterního svalu má výtěžek pouze 2 molekuly ATP (Chaudhry, Varacallo M., 2023.)

Na druhou stranu je ale práce s kyslíkem a elektronovým přenosem riziková, protože při ní může vznikat množství ROS a to hlavně na komplexech I, III a glycerol-3-fosfát dehydrogenázy (GPDH), enzym vnitřní membrány, který reoxiduje cytosolické NADH produkované glykolýzou a umožňuje jeho vstup do mitochondrií. Rychlost jejich vzniku závisí na množství přítomného kyslíku a plynulosti ETC. Mitochondriální dysfunkce nebo hypoxie proto produkci ROS zvyšují (Crewe et al., 2021) (Borcherding et al., 2022). Na komplexu I vznikají ROS při dopředném a při reverzním přenosu elektronů. Dopředný přenos translokují elektrony z NADH na ubichinon; pokud řetězec neběží hladce, není, kam je předat a ty proto unikají. Reverzní přenos nastává, pokud je nedostatek NADH a volné molekuly NAD⁺ vodík z komplexu vyvazují (Onukwufor et al., 2019). Některá farmaka (rotenon, piericidin) jsou inhibitory vazebného místa koenzymu Q, blokují přenos elektronů a zvyšují produkci ROS (Hernansanz-Agustín et al., 2017) Komplex I uvolňuje superoxid výhradně do matrix. Na komplexu III vznikají ROS tak že elektron nenaváže se na cytochrom c a unikne z řetězce. Látky narušující interakce cytochromu s komplexem (myxothiazol, stigmatellin) opět zvyšují produkci ROS (Bleier & Dröse, 2013)

Když ETC funguje optimálně, dochází jen k minimálnímu úniku elektronů, tyto molekuly však poškozují i samotný řetězec a tím pozitivně ovlivňují další produkci.

Výše bylo nastíněno, že při ETC, zejména aktivitou komplexů I a III, vznikají ROS, krátkodobé, reaktivní molekuly obsahující kyslík. Patří sem peroxid vodíku H_2O_2 , hydroxid OH^- , nebo superoxidový ion O_2^- . ROS fungují jako signální molekuly, nebo účinné látky fagocytů likvidující pohlcené patogeny během tzv. respiračního, či oxidativního vzplanutí. Ve fagocytech ovšem spíše, než přímo v mitochondriích tyto ROS vznikají přímo na membráně, nebo v cytosolu (např. NO je produktem cytosolické NO syntázy Nos2) (Barbieri et al., 2003).

Vedle těchto přirozených pozitivních rolí jsou zde i rizikové vlastnosti těchto molekul. ROS interagují s nukleovými kyselinami a navozují mutace (viz výše). Oxidací guaninu vzniká například 8-oxo guanin a dochází k nesprávnému párování, které má za následek dvouřetězcové zlomy DNA (Srinivas et al., 2019). Vedle toho mohou ROS poškozovat i proteiny. Například H_2O_2 zpomaluje buněčné dýchání tím, že alostericky inhibuje enzymy Krebsova cyklu, a tlumí tím jejich aktivitu (Lucas & Szweda, 1998). Skrze poškozování mitochondrií stimulují ROS proces mitofagie (Nicolás-Ávila et al., 2020). Stejný mechanismus negativně ovlivňuje mikrotubulární dynamiku, ROS narušují přestavby mikrotubulů. To brání pohybu mitochondrií po buňce (Sferra et al., 2020), a zároveň to komplikuje dodávání substrátu, takže navzdory nadbytku živin nastává na buněčné úrovni nedostatek ATP (Chen et al., 2010).

Buňky před oxidačním poškozením chrání široký repertoár neutralizačních a antioxidačních enzymů, jako jsou kataláza, superoxid dismutáza a glutation peroxidáza, a nízkomolekulárních antioxidantů, jako α -tokoferol a ubichinol (Guo et al., 2013). Při vysoké koncentraci ROS v cytoplazmě však nejsou tyto neutralizační mechanismy dostatečně účinné na to, aby reaktivní formy kyslíku odbouraly. Krom toho jsou některé z těchto enzymů nadbytkem ROS inaktivovány (Nulton-Persson & Szweda, 2001).

3.4. Rozpřažení dýchacího řetězce

V ETC vznikají ROS zejména v důsledku poruch plynulosti přenosu elektronů přes respirační komplexy. Jednou z limitací tohoto toku může být nedostatek ADP jakožto substrátu ATP syntázy při tvorbě ATP. To vede k růstu membránového potenciálu. Určitou alternativní cestou pro protony může být výše zmiňovaný UCP1 (viz také obr. Katabolismus a kapitola 2.1.2. Hnědá tuková tkáň). Tento UCP1, čili termogenin, hlavní protein netřesové termogeneze snižuje protonový gradient tím, že dosud ne zcela jasným způsobem interaguje s protony a přenáší je do matrix (Hass & Barnstable, 2021). Tak dochází k vyrovnávání koncentrace

protonů na různých stranách vnitřní mitochondriální membrány bez činnosti ATP syntázy, jinak poháněné právě tímto gradientem. Snížením gradientu dochází nepřímo i ke snížení produkce ROS závislé na aktivitě ETC. Vedle UCP1 se o vlivu na hladiny ROS mluví i u dalších příbuzných protonových kanálů. Existuje rodina hned šesti rozpráhovacích proteinů UCP. Jedná se o transmembránové proteiny ve vnitřní mitochondriální membráně. U savců bylo identifikováno pět z nich, přičemž pro tuto práci jsou významné UCP1 a 2 (Dalgaard & Pedersen, 2001).

Protein UCP2 je exprimován i v bílé tukové tkáni. Je sporné, zda sám o sobě přenáší elektrony, nebo pouze reguluje další UCP v závislosti na hladině ROS. Je citlivý na oxidační poškození, pod jeho vlivem vykazuje zvýšenou aktivitu (Arsenijevic et al., 2000). Při jeho úplné depleci vzniká větší množství ROS a oxidovaných lipidů. (Hass & Barnstable, 2019). UCP2 také může stimulovat mitofágií, jelikož poškozené mitochondrie jsou hlavními producenty ROS (Hass & Barnstable, 2019).

4. Exozomy

Exozomy jsou membránou ohraničené váčky. Mají sférický tvar a průměr od 50 do 150 nanometrů. Do extracelulárního prostoru je uvolňují prakticky všechny buňky, ovšem intenzita produkce se liší podle buněčného typu. Ve velkém k tomu dochází u adipocytů, naopak jen minimální produkce je u buněk kosterního svalstva (Nicolás-Ávila et al., 2020). Protože prakticky neexistují buňky, které je neprodukují, lze je izolovat ze všech tělních tekutin a kultivačních médií.

Základní metodou izolace exozomů je ultracentrifugace (Tauro et al., 2012) založená na hustotním a velikostním rozdílu exozomů a jiných složek séra. Nevýhodou je nepřesnost, do vzorku dostávají i jiné částice. Přesnější, ale časově a materiálně nákladnější je centrifugace s hustotním gradientem za využití dvou (a více) separačních médií s různými hustotami (sacharóza, jodixanol) (Tauro et al., 2012). Nevýhodou obou metod je, že při vysokorychlostní centrifugaci se mohou vezikuly poškodit, což sníží jejich biologickou aktivitu. (Jeppesen et al., 2014). Alternativou tak mohou být různé afinitní metody založené na selekci exozomů prostřednictvím jejich specifických povrchových molekul (viz dále).

Když byly exozomy v roce 1983 poprvé izolovány ze savčího retikulocyty (Couch, 2021), mělo se za to, že slouží především k homeostáze tím, že buňku zbavují odpadních částic bez rizika aktivace nepřiměřené imunitní odpovědi a lokálního zánětu (viz výše). Dnes je doceňována i jejich další role jakožto přenašečů, které umožňují mezibuněčnou signalizaci a výměnu materiálu. Tím materiálem mohou být proteiny, malé RNA, nebo i celé organely (viz kapitolu Obsah exozomů a dále konkrétně kapitolu Přenos mitochondrií) Vezikuly zprostředkovávají komunikaci na krátké, ale i dlouhé vzdálenosti mezi buňkami přenosem biomolekulárního nákladu. V centrálním nervovém systému přenášejí na blízko materiál například z oligodendrocytů do mikroglíí (Fitzner et al., 2011), přenos na větší vzdálenost probíhá například z adipocytů do kardiomyocytů a naopak (Crewe et al., 2021).

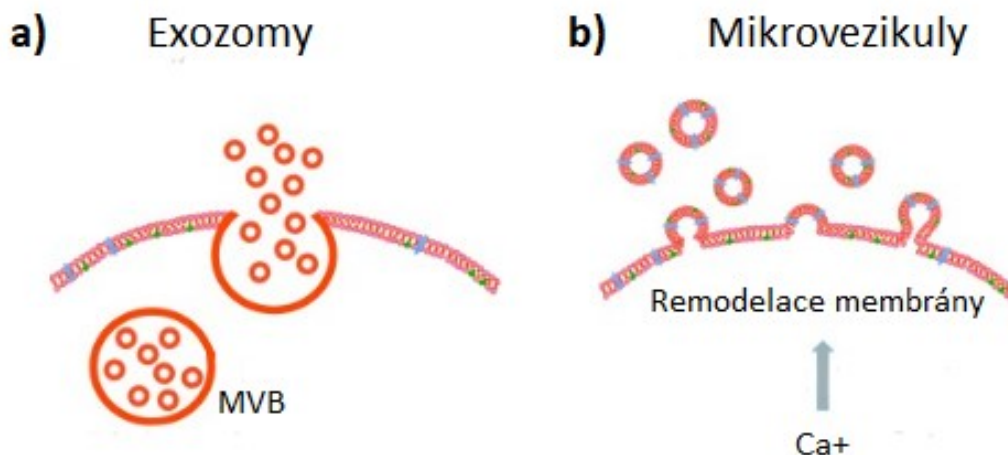
V souhrnu slouží exozomy k udržování homeostázy, přenosu molekul a skrze tu i k regulaci metabolismu jak na úrovni buněk, tak celého organismu.

4.1. Názvosloví

Terminologie spojená s exozomy není zcela ukotvená. V mnoha studiích se nerozlišuje mezi malými extracelulárními vezikuly (sEV z anglického *Small extracellular vesicles*) a exozomy, které mohou být považovány za podskupinu sEV. Ty se na základě biogeneze a velikosti dělí

do tří hlavních podskupin, které jsou shrnuty v Tabulce 1, a sice: exozomy s průměrem 50–150 nm, které jsou odvozené z endolysosomálního systému (viz Obrázek 3a) a obsahují hlavně proteiny, lipidy a nukleové kyseliny; mikrovezikuly o průměru 150–500 nm, které na základě vápníkové signalizace pučí z buněčné membrány (viz Obrázek 3b), ale obsahem se neliší od exozomů; a apoptotická tělíska s průměry přesahujícími 1000 nm, které mívají v lumen i celé organely (Stáhl et al., 2019).

Obrázek 3: Exozomy vs Mikrovezikuly



Schematické znázornění uvolňování extracelulárních vezikulů: a) Exozomy vznikají fúzí MBV s buněčnou membránou; b) Mikrovezikuly se pučí z plazmatické membrány na základě vápníkové signalizace. (upraveno podle Stáhl et al., 2019)

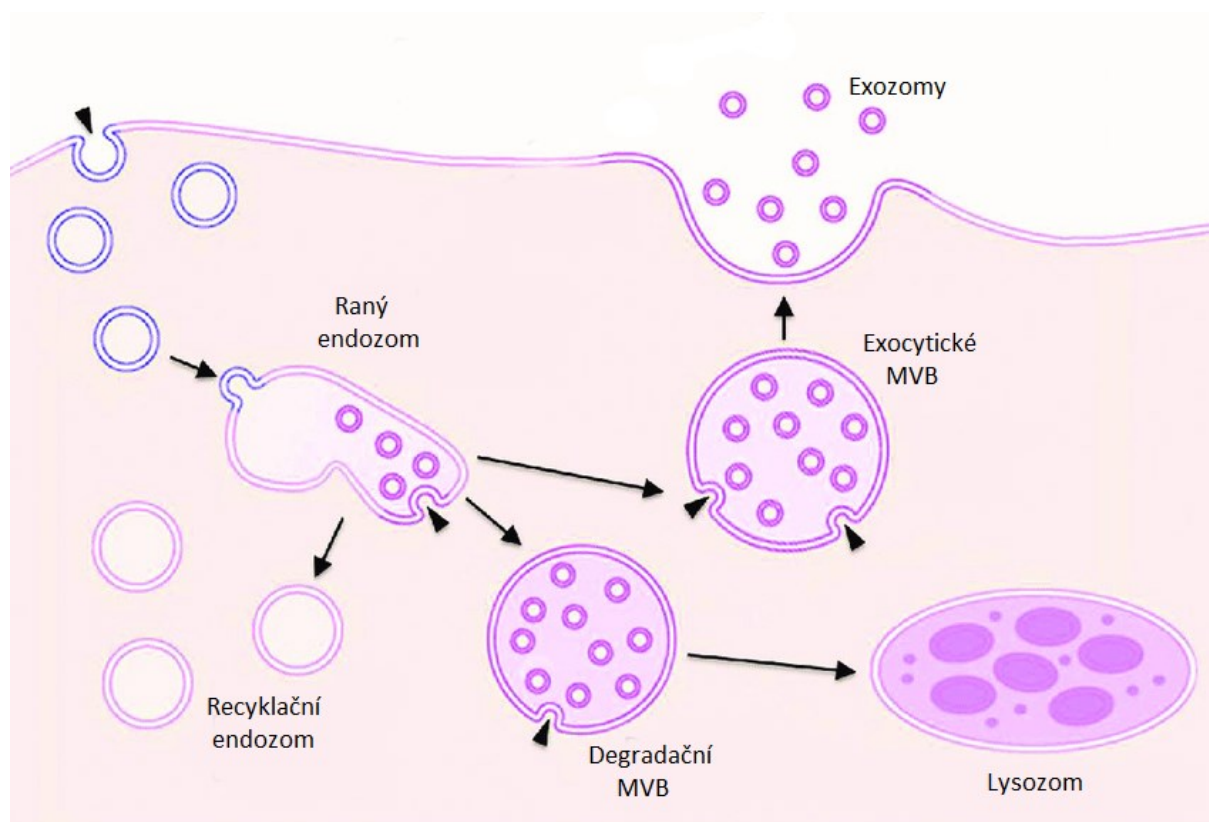
Podle specifických vlastností a nákladů se pro exozomy užívají speciální termíny, např. „mitovezikuly,“ které obsahují mitochondrie (D’acunzo et al., 2021). Doktor Nicolas-Ávila používá poněkud nešťastně pro váčky transportující mitochondrie termín „mitozom“ (Nicolás-Ávila et al., 2020), který ovšem zároveň označuje v mikrobiologii organely některých anaerobních prvoků (Santos & Nozaki, 2022). V případě váčků, které jsou vylučovány ze srdečních buněk se lze setkat s termínem „exofery“ (Nicolás-Ávila et al., 2020).

4.2. Vznik exozomů

Do exozomů se dostává zpravidla odpadní materiál. Nadbytečné a poškozené struktury, nebo metabolity jsou nejprve ubikvitinylovány. Na ubikvitin se váží proteiny PINK1 a Parkin a umožňují jejich vtažení do endozomu, kde dochází k sortingu materiálu. Část ho je následně buňkou znovu využita. Nerecyklovatelný materiál se hromadí pod membránou endozomu, až

dojde k jejímu vychlípení a odškrcení vezikulu, takzvaného multivezikulární tělíska (MVB z angl. *Multi-vesicular body*), viz obrázek 4. Pro tyto vnitrobuněčné váčky je charakteristická přítomnost povrchové molekuly EEA-1, post-endozomálního markeru (Cadete et al., 2016). MVB jsou transportovány do lysozomu, se kterým fúzíjí a do něj takto uvolněný materiál je lyzován. Pokud se MVB nedostane do lysozomu, skončí na periferii buňky, kde fúzíjí s cytoplazmatickou membránou. Tak se dílčí vezikuly uvolňují do mezibuněčného prostoru, čímž vznikají exozomy (Burnett & Nowak, 2016)

Obrázek 4: Multivezikulární tělíska



Částice určené k odstranění se akumuluji v MVB a mohou být buďto degradovány v lysozomu, nebo exocytovány. Uvolněním dílčích váček z buňky vznikají exozomy. (upraveno podle Burnett & Nowak, 2016)

Ve tkáních představuje tvorba sEV základní úklidový mechanismus a první linii obrany proti stresu. Vyvrhnutí dysfunkčních a nadbytečných subcelulárních struktur umožňuje buňkám déle plnit svou funkci. Díky tomu není nutné nahrazovat celé buňky a ve tkáni se nehromadí apoptotický materiál (Nicolás-Ávila et al., 2020). Tyto odpadní exozomy jsou pak většinou přímo v tkáni svého vzniku zlikvidovány makrofágy. V případě, kdy se jedná o zdravé

mitochondrie, nebo jiné signální a cíleně transportované molekuly, umožňuje váčkový transport jejich přenos i na velké vzdálenosti, aniž by došlo k jejich poškození.

Na množství a obsah uvolňovaných exozomů má vliv dieta. Živiny se liší biochemickými drahami katabolismu, z čehož plyne, že při jejich metabolismu vznikají různé intermediáty s různým působením na buňku. Dieta s vysokým obsahem nasycených mastných kyselin s dlouhými řetězci zvyšuje produkci exozomů. Sacharidové diety na ni vliv nemají (Borcherding et al. 2022).

4.3. Povrch a obsah exozomů

Exozomy jsou ohraničené dvouvrstvou membránou, složenou primárně ze sfingomyelinu, cholesterolu, či ceramidů. Další zde přítomné lipidy jsou fosfatidylserin, fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin, steroly, galaktocerebrosid a kyseliny fosfatidová a lysobisfosfatidová (Qin et al., 2023). V plazmatické membráně se např. fosfatidylserin vyskytuje téměř výhradně ve vnitřním listu, takže není vystaven do extracelulárního prostoru. U exozomů se může ve zvýšené míře objevovat i ve vnějším listu membrány, kde je pak rozpoznáván imunitním systémem jako typický DAMP (viz výše) a vyvolává pohlcování exozomů makrofágy. Ve velkém jsou na povrchu těchto vezikulů přítomné některé proteiny. V souvislosti se způsobem vzniku exozomů jsou charakteristickými biomarkery exozomů zejména annexiny, caveolin, dále CD63, CD9 a CD36. Tyto molekuly jsou pro všechny exozomy stejné (Qin et al., 2023). Dalším identifikátorem exozomů jsou transportní proteiny, které umožňují vlastní fúzi (guanosintrifosfatáza, annexiny)(Qin et al., 2023). Bez nich by tyto vezikuly nemohly plnit funkci mezibuněčných transportérů.

Uvnitř exozomů se nacházejí různé náklady podle typu a stavu buňky, která je vyprodukovala. Některé molekuly jsou univerzální a přítomné prakticky u všech exozomů: galaktosidy spojené s buněčným stárnutím (Dimri et al., 1995), proteiny tepelného šoku, cytoskeletální komponenty (protein asociovaný s mikrotubuly 3 (LC3) (rev Heyn et al., 2023), lysozomální membránový protein 2, Flotilin-1, glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenáza, polyubikvitylované proteiny, stejně jako antigen RabosA1, end5B, Rab27A a syntaxin-6 (Jeppesen et al., 2019). Kromě proteinů přenášejí exozomy nukleové kyseliny, lipidy, nebo celé organely (Crewe et al., 2021).

4.4. Exozomy po uvolnění z buňky

Uvolněním vezikulů do extracelulárního prostoru vznikají exozomy. V základu existují jen dva scénáře, co se s nimi děje pak, a sice případ, kdy se váčky poškodí, nebo jsou odstraněny imunitními buňkami, tedy zničeny a kdy jsou transportovány dále a přijaty jinou buňkou a plní tak roli mezibuněčných posílů. Jak daleko od mateřské buňky se dostanou a zda se poškodí, nebo budou nepoškozené pohlceny jinou buňkou není možné předem určit. Faktorů jako vlastní množství vezikulů nebo stav imunity však mohou ten či onen scénář udělat pravděpodobnější.

4.4.1. Likvidace imunitním systémem

Exozomy na povrchu nesou vícero molekul, které fungují jako „eat me“ signály, například fosfatidylserin a oxidované fosfolipidy, markery molekul uvolňovaných při nekróze, a dále některé formy manózy, která je typická pro povrch bakterií (Belhadj et al., 2020). Tyto látky interagují s receptory na povrchu makrofágů a neutrofilů a stimulují fagocytózu. Rovněž poškození vezikulu, ke kterému nespecificky dochází, vede k imunitní odpovědi. Při protržení exozomální membrány se totiž uvolní jeho obsah tvořený mnoha molekulami, které fungují DAMP. Rovněž holé mitochondrie jsou silně prozánětlivé a aktivují makrofágy (Torralba et al., 2016).

At' už dojde k fagocytóze poškozených, či celých exozomů v blízkosti jejich produkce, nebo až krevním řečišti do kterého mohou uniknout jejich fyziologická role tím končí. Jejich obsah je rozložen, aniž podmiňuje komplexní fyziologické reakce.

4.4.2. Přijetí do dalších tkání

Druhou možností je, že jsou exozomy pohlceny jinou než imunitní buňkou. V takovém případě plní roli signálních molekul, kdy přenos materiálu z jedné buňky do jiné vyvolá reakci. K přijetí sEV může docházet dvěma základními mechanismy: endocytózou a membránovou fúzí, přičemž endocytóza převažuje. Probíhá na základě signalizace přes buněčný receptor CD63 a je pro ni rozhodující složení buněčné membrány vezikulu i přijímající buňky, zvláště pak mechanické vlastnosti lipidů v ní (Joshi et al., 2020a).

Po aktivaci receptorů dochází v cytoplazmě buňky k rekrutaci adaptorových proteinů a klatrinových triskelionů do místa, kde tyto proteiny následně zprostředkují invaginaci. Částice obalená fosfolipidovou vrstvou je v této formě vtažena do buňky. Pro správné odštěpení dovnitř

pučícího váčku je klíčová GTPáza dynamin. Následně je transportována jako všechny endocytované částice do endozomu (Gonda et al., 2019).

Na průběh endocytózy má vliv především složení buněčné membrány a vlastnosti lipidů v ní. Změny v obsahu cholesterolu v membráně, nebo narušení lipidových raftů znemožňují vtažení exozomů do buněk (Plebanek et al., 2015). Mezi abiotické faktory ovlivňující internalizaci exozomů patří teplota a pH (Akimov et al., 2014). Extracelulární pH je závislé mimo jiné na přítomnosti lokálního zánětu a koncentraci metabolitů.

Vzácná není ani fúze membrány exozomu a buňky na základě signalizace přes syncytinové receptory MLSD2a a ASCT-2 na buněčném povrchu. Po přiblížení vezikulu k buňce dochází k narušení a k jejich splynutí. Tím se uvolní materiál z lumen váčku do cytosolu buňky (Prada & Meldolesi, 2016).

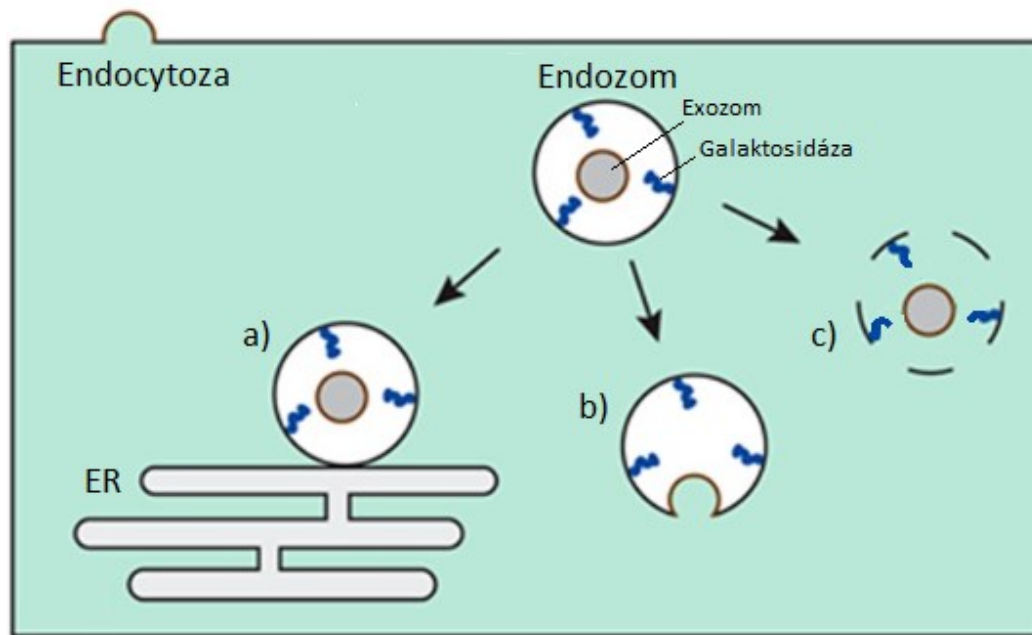
4.4.3. Zpracování exozomů v cílové buňce

Aby přijatý exozom nebyl jenom strukturou, která bude degradována coby exogenní materiál v lysozomu akceptora, musí se obsah váčků uvolnit do cytoplazmy. Tak se děje po průchodu exozomu endozomem a možné mechanismy uvolnění nákladu jsou tři (viz obrázek 5): EV mohou uvolnit svůj náklad: fúzí s endoplazmatickým retikulem (obrázek 5a); fúzí s plazmatickou membránou (obrázek 5b); poškozením membrány exozomu (obrázek 5c) (Gonda et al., 2019).

Fúze je proces, kdy se spojí dvě fosfolipidové membrány. V tomto případě to může být splynutí membrán endozomu a exozomu uvnitř něj. Stejné mechanismy používají některé viry při přenosu své DNA: na základě nízkého pH dochází ke změnám konformace proteinů ve virové kapsuli / membráně exozomu a to usnadní jeho splynutí membránou endozomu (Gonda et al., 2019). Alternativou může být splynutí membrány endozomu a například endoplazmatického retikula, do kterého se tak exozom přenese k dalšímu zpracování jeho obsahu. (Joshi et al., 2020b)

Proces permeabilizace stojí na penetračních proteinech CPP (z anglického *Cell-penetrating proteins*) z rodiny TAT, které interagují s bis(monoacylglycerol)fosfátem v membráně pozdního endozomu. Dochází k narušení chemických vazeb v membráně a vzniku pórů, skrze které prochází materiál do, nebo z endozomu (Brock et al., 2020; Davis et al., 2009).

Obrázek 5: Zpracování exozomu



Přehled mechanismů rozbalení exozomu: a) fúze endozomu s endoplazmatickým retikulem b) fúze exozomu s endozomem; c) ruptura exozomu. (upraveno podle Gonda et al., 2019)

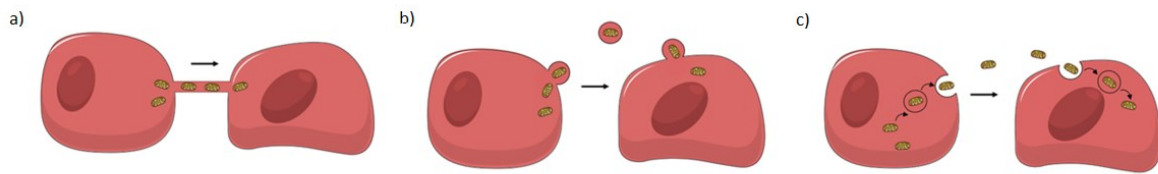
Jen zlomek exozomů však materiál opravdu uvolní, po 2 hodinách po přijetí exozomu je takto „rozbalených“ jenom 10 % váčeků, po 12 hodinách asi čtvrtina. Vliv na možnost uvolnění nákladu má také fáze, v jaké se endozom nachází, nejvíce materiálu uniká z pozdního endozomu, jen minimum z časného. To vychází ze změn složení endozomální membrány v průběhu zrání (Gonda et al., 2019).

4.5. Horizontální přenos mitochondrií exozomy a dalšími cestami

Výše byl popsán vlastní vznik exozomů, který je univerzální všem těmto vezikulům bez ohledu na materiál, který obsahují. Pro tuto práci jsou však stěžejní ty exozomy, které přenášejí mitochondrie, zejména pak mezi tukovou a srdeční tkání. Na tyto jsou zaměřené následující odstavce.

Váčkový transport představuje jen jeden z několika způsobů mezibuněčného sdílení subcelulárních částic, nebo i celých organel. Mezi další mechanismy horizontálního přenosu mitochondrií patří formování nanotrubic, mitochondriální ejetce (či extruze) a cytoplazmatická fúze dvou buněk (Zhang & Miao, 2023) viz souhrnný obrázek 6.

Obrázek 6: Přenos mitochondrií



Souhrn základních mechanismů vstupu exozomů do cílových buněk: a) nanotrubic; b) vezikulární transport; c) extruze holých mitochondrií. (upraveno podle Zhang & Miao, 2023)

Nanotrubic je cytoskeletární tunel, kterým se spojí dvě buňky, aniž by došlo k jejich přímé fúzi, a jednosměrně si vyměňují materiál. Je to způsob, který využívají převážně neurony a lymfocyty, v menší míře také kardiomyocyty (Gerdes et al., 2007).

Buněčnou fúzí se rozumí dočasné splynutí membrán dvou buněk. Tím dojde k propojení cytoplazmy, tedy je možný obousměrný přenos částic i organel (Bukoreshtliev et al., 2009).

V některých případech spojených se silným buněčným stresem jsou vytlačeny z buněk holé mitochondrie, aniž dojde k nekróze. Tento děj není zatím příliš prozkoumaný, předpokládá se, že k tomu dochází za účelem aktivace makrofágů a iniciace zrání dendritických buněk, což ve tkáňovém měřítku může být prospěšné, protože je imunitní systém připravený čelit stresu. Jde však o tenký led, takový stav se může překloupat v chronický záně (Maeda & Fadeel, 2014). Holé mitochondrie, ať už uvolněné při nekróze (Al Amir Dache et al., 2020), nebo vyloučené procesem mitochondriální ejakce, fungují jako typický DAMP a působí silně prozánětlivě (Torralba et al., 2016).

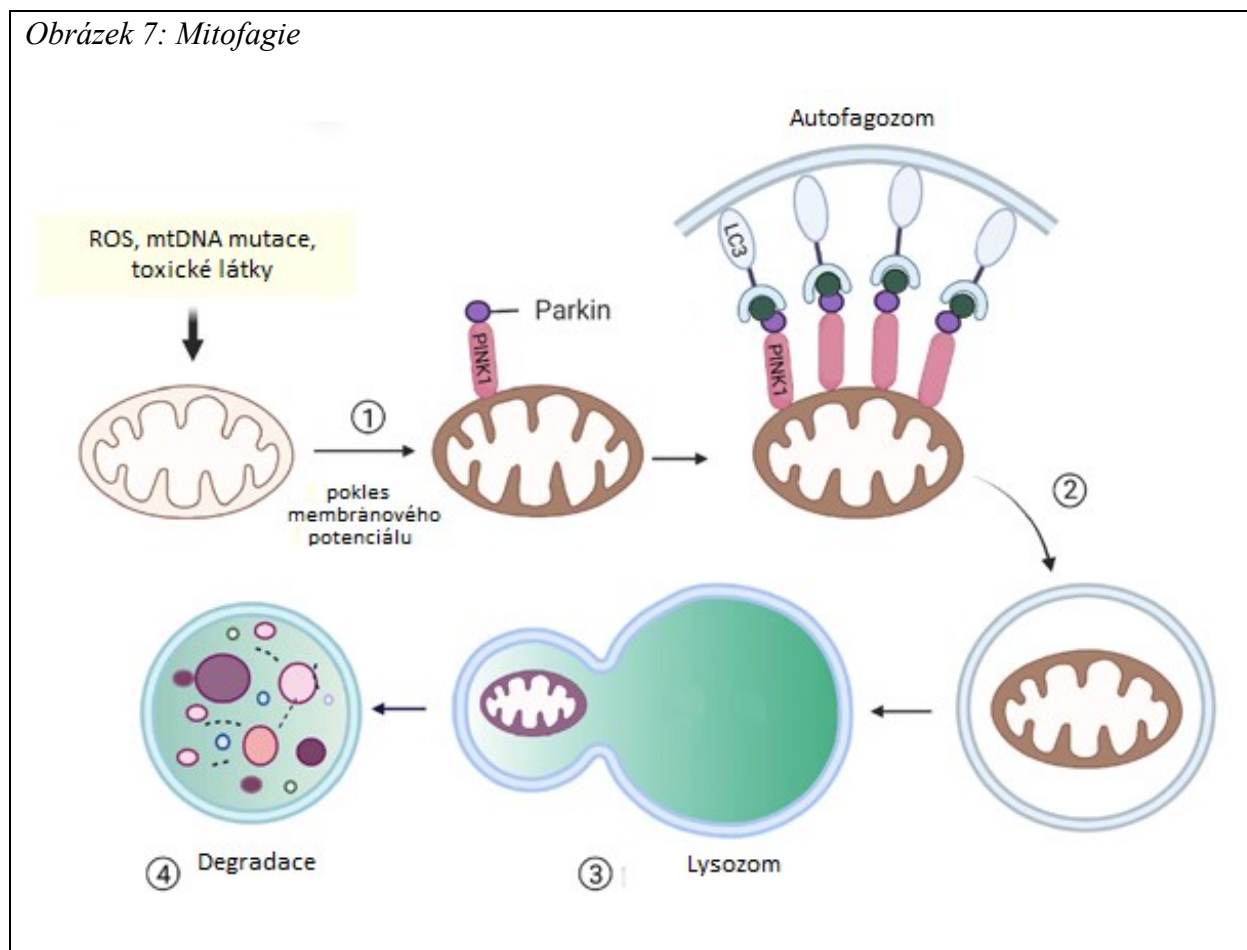
Výhodou přenosů mitochondrií v exzomech je to, že DAMP zůstávají před imunitním systémem skryty exozomální membránou. Exozomy mohou obsahovat jak celé organely, ať už funkční, nebo ne, tak volnou mitochondriální DNA, nebo dílčí odpadní struktury odvozené z těchto organel (Al Amir Dache et al., 2020).

Možnost darování mitochondriální DNA touto cestou ze zdravých do energicky nesoběstačných buněk je známá dlouho, včetně toho, že taková transplantace nukleové kyseliny zlepšuje celkový energický metabolismus příjemce. Přenos celých mitochondrií se však dlouho zdál být možný jenom na malé vzdálenosti a to navíc za účelem jejich likvidace, například z optického nervu do astrocytů (Davis, 2014), nebo z adipocytů do makrofágů (Nicolas-Ávila et al. 2019). Až nedávno se ukázalo, že se tyto organely, navíc funkční, vyskytují i v cirkulaci

uzavřené právě do exozomů (Song et al. 2019) a dokonce mohou být přijaty a zpracovány vzdálenou tkání, například ty z tukové tkáně srdcem, či játry (Crewe et al., 2021). O tom, v jakém množství a stavu se mitochondrie dostávají do sEV rozhodují základní faktory jako celková buněčná vitalita, množství dostupného substrátu a integrita ETC. Snížení výkonu mitochondriálního metabolismu, ať už postupným opotřebením celku, nebo blokadí konkrétního komplexu, stimuluje mitofagii a váčkovou produkci.

Mitofagii, proces, kterým se mitochondrie dostávají do exozomů shrnuje obrázek 7. Při poškození mitochondrií se aktivuje enzymatická aktivita N-konce proteinu PINK1 a ten fosforyluje ubikvitin na proteinech vnější mitochondriální membrány. Fosfo-ubikvitin následně stimuluje ubikvitin ligázy Parkin (Bayne & Trempe, 2019). Tím PINK1 iniciuje import mitochondriálního materiálu do od mitochondrií odvozených váčků (MDV z anglického *Mitochondria derived vesicle*)(Crewe et al., 2021). Formování vezikulů reguluje také endozomální pH: sorting a zpracování molekul neprobíhá při pH vyšším než 7. Rovněž akumulace cholesterolu v endozomech vede k zablokování expozice nákladu do sEV (Lu et al., 2023).

Obrázek 7: Mitofagie



Různé faktory způsobují poškození mitochondrií, které se projevuje mimo jiné poklesem membránového potenciálu. Poškozené mitochondrie jsou ubiquitinylovány, na ubiquitin se následně váží proteiny PINK1 a Parkin, které interagují s receptorem LC3 a zprostředkovávají pohlcení mitochondrie autofagozomem. Následuje fúze autofagozomu s lysozomem a lyze materiálu. (upraveno podle Lu et al. 2023)

Uvnitř exozomů s mitochondriemi se pochopitelně nacházejí enzymy spojené s beta oxidací, Krebsovým cyklem i ETC. Překvapivě jen v malém množství se zde nacházejí proteiny spojené s importem peptidů z cytosolu do mitochondrií, s tvorbou železo-sirných komplexů, syntézou ubiquinonu a profúzních faktorů (Haastrup, 2023). Co se týče importních proteinů, může za jejich nízkým počtem stát fakt, že uvnitř exozomů je jen málo cytosolu, ze kterého by se měly přečerpávat složky do mitochondrií. Zároveň nejsou potřebná železosírná centra, která zajišťují funkci komplexů dýchacího řetězce, ani ubiquinon, jelikož v exozomech nejsou dostupné substráty pro ETC.

Protože má srdeční tkáň vysoký metabolický obrat, probíhá zde ve velkém mitofagie a vzniká velké množství exozomů, pro které se používá speciální termín „srdeční exofery.“ Pro ty je charakteristické, že mitochondriální materiál tvoří až polovinu jejich obsahu (Nicolás-Ávila et al., 2020). Dynamika mitochondriální sítě mitofagii napomáhá: opotřebené mitochondrie se nacházejí dále od jádra a samotná mitochondriální síť směrem k buněčným periferiím řídne (Spurlock et al., 2020). Do procesu oddělování jednotlivých mitochondrií od celku jsou zapojené proteiny NIX (interagující s autofagickým aparátem), BNIP2 (regulující váčkový transport), a také lipid kardiolipin, který ovlivňuje správné sestavování suprakomplexů ETC a jehož dysfunkce je základním z iniciačních faktorů pro mitofagii (Cadete et al., 2016). Následně jsou mitochondrie pokryty jednovrstevným plakem membrány. Pučení váčků z mitochondriální sítě je regulováno proteinem ARRDC1, který aktivuje ATPázu VPS4 nezbytnou pro odštěpení váčku. Samotnému vtažení mitochondrií do vezikulů napomáhají proteiny OPA1 a SNX9, při snížení jejich exprese klesá množství MDV. Zajímavé je, že zatímco OPA1 se posléze v exozomech vyskytuje, SNX9 ne. Patrně se ze sortovaných mitochondrií odštěpí při průchodu MDV endozomem (Todkar et al., 2021).

5. Transport mitochondrií mezi tukovou tkání a srdcem

Vezikuly umožňují bezpečně transportovat mitochondrie, nebo jiné materiály, a to i na velké vzdálenosti. Množství a obsah váčků reflektuje stav tkáně, ze které jsou uvolňovány a zároveň

udává charakter signálu, který obdrží přijímající tkáň. Do srdce, coby centra oběhové soustavy, se prostřednictvím protékající krve dostávají exozomy prakticky z celého těla. Obecně však platí, že z čím vzdálenější je místo produkce, tím méně vezikulů se dostává až do srdce a naopak. Takže k srdci proniká velké množství váčků například právě z epikardiální tukové tkáně.

5.2. Negativní vliv adipocytárních exozomů na srdeční tkáň

Abnormální mitochondrie a jejich enzymy, rovněž přenášené v exozomech, mohou svým zabudováním se do mitochondriální sítě jinak zdravé buňky dysregulovat zbytek mitochondriální sítě a v konečném narušit produkci ATP, vápníkovou i zánětlivou signalizaci a regulovat tím apoptózu (Bonora et al., 2019). Mitochondriální dysfunkce v tukové tkáni tak může způsobit pokles kvality dýchacího řetězce kardiomyocytů (Crewe et al., 2021) a v konečném důsledku podmínit rozvoj kardiomyopatií.

Ischemická choroba srdeční nastává při snížení průtoku krve do srdce, často v důsledku arteriosklerózy. Kardiomyocyty mají nedostatek kyslíku, což vede k mitochondriálním poruchám a apoptóze (Matsui et al., 2001). Podobně působí infarkt, kdy do části srdce nepřitéká kvůli ucpání některé z tepen krev. Ischemií poškozená tkáň je pro pacienty často větší komplikací než infarkt samotný. Reperfuzi provází prudký nárůst koncentrace ROS v cytoplasmě, které způsobují takzvané oxidativně-reperfuzního poškození (Lucas & Szweida, 1998).

5.3. Pozitivní vliv adipocytárních exozomů na srdeční tkáň

Zároveň však exozomy do srdce přinášejí materiál, který může mít na myokard pozitivní dopad. Za normálních fyziologických podmínek cirkulují v krvi i zdravé mitochondrie (Crewe et al., 2021), které lze využít ke zlepšení srdeční bioenergetiky. Kvůli nízké regenerační schopnosti kardiomyocytů jsou vyřazené mitochondrie do jisté míry nahrazovány jejich aktivním vychytáváním z tělního oběhu. Po endocytóze a rozbalení v endozomu se zabudovávají do mitochondriální sítě kardiomyocytů (Nicolás-Ávila et al., 2020). To může mít prospěšný, v některých případech až záchranný, dopad na energický metabolismus buněk.

Exozomy obsahují také RNA, včetně mediátorových ribonukleových kyselin, které stimulují mitochondriální biogenezi (např. PGC1 α čili koaktivátor 1 α receptoru γ aktivovaného peroxisomálním proliferátorem) (Ikeda, 2021). Z nemitochondriálního materiálu pak například proteiny tepelného šoku (HSP z anglického *Heat shock protein*) (Campanella, 2012), které jsou obecně považované za ateroprotektivní.

5.3.1. Mitohomeze

V poslední době se objevují názory, že se mitochondrie uvolňují z adipocytů do systémové cirkulace, aby podpořily metabolickou adaptaci vzdálených orgánů v reakci na nutriční stres (Borcherding et al., 2022).

Zvýšená hladina ROS má negativní vliv na srdce obecně a také je častou komplikací hojení tkáně po infarktu (ischemicko-reperfúzní poškození), ovšem zdá se, že pokud je jí srdce vystaveno již před infarktem, může se adaptovat a následně po infarktu dochází k jeho lepšímu hojení (Crewe et al., 2021). ROS mohou zlepšovat srdeční funkci pacientů s metabolickým syndromem. Meziorgánový transport dysfunkčních mitochondrií odvozených z adipocytů totiž vyvolává antioxidační odpověď, stimuluje v srdci syntézu antioxidačních faktorů. Díky tomu jimi srdce disponuje krátce po ischemické události a při reperfuzi. Nekróza postihuje menší počet buněk a tkáň rychleji regeneruje (Crewe et al., 2021).

Jedná se o princip hormeze, proces, při kterém vede vystavení stresu ke spuštění ochranných mechanismů a lepší reakci na něj. Přímo mitohormeze, šíření poškozených mitochondrií s pozitivním dopadem, byla dlouho pozorována jenom u nižších organismů. Exozomy cirkulující mezi tukovou a srdeční tkání zjevně něco podobného umožňují u obratlovců (Crewe et al., 2021).

Na jednu stranu mají metabolicky nezdraví jedinci a lidé se špatnou skladbou diety vyšší sklony ke kardiovaskulárním onemocněním, na druhou stranu při nich lépe regenerují. Téměř se zdá, že se jejich těla před vlastní patologickou událostí chystají na zotavování se z ní.

6. Využití exozomů s mitochondriemi v praxi

Komunikace mezi tukovou a srdeční tkání je neustálá a promítá se do celkového zdravotního stavu jedince. Když se adipocyty v důsledku metabolického stresu zbavují mitochondrií, je pravděpodobné, že kardiomyocyty nahradí své vyloučené mitochondrie těmito dysfunkčními. Účinnost ETC v obou tkáních klesá, koncentrace ROS stoupá a v důsledku toho nejenom strádají obě tkáně, ale dochází k aktivaci zánětlivé imunitní reakce.

S celosvětově rostoucí životní úrovní přibývá jedinců s prevalencí metabolického syndromu. Právě ti jsou ohroženi negativními dopady komunikace tukové a srdeční tkáně a přenosu mitochondrií mezi nimi.

Prohloubení poznatků o souvislostech mezi zdravím tukové a srdeční tkáně slibuje zlepšení kvality života pacientů s metabolickým syndromem. Když mitochondrie nejsou schopné pokrýt energickou potřebu kardiomyocytů, roste riziko vzniku srdečních onemocnění.

Protože se stres kardiomyocytů promítá prakticky okamžitě do jejich schopnosti pokrýt svou energickou spotřebu, a tedy do míry produkovaných vezikulů, fungují srdeční exozomy jako biomarkery pro diagnostiku a monitorování ischemie a infarktu myokardu (Kuwabara et al., 2011) (Kanno et al., 2023). Zaměření se na ně namísto standardně sledovaného troponinu (Chaulin, 2022) může umožnit časnější diagnostiku a rychlejší lékařský zásah.

Exozomy se zároveň na základě svých vlastností, které umožňují bezpečně transportovat materiály, jeví jako vhodný nástroj dodávání náhradních mitochondrií (mikro transplantace) do buněk, které čelí energickému stresu. V budoucnosti mohou také přinášet látky zlepšující vitalitu a dynamiku mitochondriální sítě. Tedy látky, které stimulují biogenezi mitochondrií (například cistaplatina (Shen et al., 2018) a polyfenoly jako kurkumin, quercetin (Davis et al., 2009), hydroxytyrosol (Zhu et al., 2010)) a fúzi (resveratrol (Robb et al., 2017)). Implantace funkčních mitochondrií může skrz harmonizaci vnitrobuněčného prostředí (např. hladina ROS) spouštět v poškozených buňkách opravné mechanismy (Zhong & Luo, 2021). Kromě toho lze touto cestou modulovat zánětlivou odpověď, která je klíčová při rozvoji kardiovaskulárních onemocnění (Kanelidis et al., 2017).

Než bude možné přenést poznatky do praxe, je zapotřebí zdokonalit postupy izolace a purifikace exozomů. Zároveň je nezbytné vyvinout strategie, jak zajistit, že se do exozomů dostanou funkční mitochondrie a zároveň, že tyto vezikuly budou pohlceny a řádně zpracovány cílovými buňkami.

7. Shrnutí

V rámci své bakalářské práce jsem se věnovala problematice exozomálního přenosu mitochondrií a jeho významu při zprostředkování vlivu tukové tkáně na další orgány, zejména srdce. S rozvojem obezity jsou spojeny poruchy funkce mitochondrií v tukové tkáni. Poškozené mitochondrie produkují větší množství ROS, a adipocyty se proto jich snaží zbavovat. K tomu využívají zejména specifickou formu autofagie – mitofagii. Část takto likvidovaných mitochondrií však nemusí být odstraněna přímo v buňce, ale může být vyloučena do mezibuněčného prostoru v exozomálních váčcích. Tímto způsobem se mohou na likvidaci nefunkčních mitochondrií podílet i další buňky zejména makrofágy tukové tkáně ATM. Ačkoliv je za určitých podmínek možné vylučovat z buňky i holé mitochondrie, touto cestou patrně dochází k nežádoucí hyperaktivaci imunitního systému. Vylučování mitochondrií v exozomech tak představuje elegantní a bezpečný způsob ozdravení mitochondriální sítě adipocytu bez nebezpečí eskalace zánětu. Tento ozdravný proces umožňuje např. zachování účinné produkce tepla v hnědých adipocytech (Rosenwald et al., 2013)(Rosina et al., 2022b).

Část exozomů z tukové tkáně uniká a může být přijata dalšími orgány. Příjem exozomálních mitochondrií (většinou dysfunkčních) snižuje účinnost oxidace substrátů v cílové tkáni, např. v srdci, a způsobuje nárůst produkce ROS. Tyto negativní dopady však vyvolávají i adaptivní aktivaci antioxidantních mechanismů, čímž se zvyšuje i odolnost k ischemicko-reperfuznímu poškození při infarktu myokardu (Crewe et al., 2021).

Tímto stručným shrnutím pokrývám první vytčený cíl své práce – zhodnocení recentních poznatků o významu meziorgánového transportu mitochondrií. Druhým cílem je podat přehled o faktorech, které tento transport přímo ovlivňují. Množství sekretovaných exozomů s mitochondriemi roste přímo úměrně míře poškození adipocytární mitochondriální sítě. K tomuto poškození dochází mj. při hypertrofii tkáně v důsledku pozitivní energetické rovnováhy. Typickým faktorem zvyšujícím sekreci těchto exozomů je tak dieta s vysokým obsahem energie, zejména ve formě tuků (Rosina et al., 2022b). Většina sekretovaných exozomů je likvidována makrofágy. Ovlivňování aktivity těchto imunitních buněk se proto rovněž propisuje do podílu exozomů, které jim uniknou a dostávají se do cirkulace a k dalším tkáním.

Konečně posledním mým cílem bylo posouzení možnosti budoucího využití těchto nových zjištění při vývoji terapeutických přístupů k léčbě patologií spojených s obezitou a metabolickým syndromem.

Vzhledem k nárůstu prevalence obezity a metabolického syndromu ve světě je vývoj terapeutických přístupů k jejich prevenci nebo reverzi důležitým výzkumným úkolem. Výzkum exozomů transportujících mitochondrie má v tomto směru potenciál nabídnout nové terapeutické cíle. Vylučování exozomů z tukové tkáně by mohlo být manipulováno prostřednictvím modulace aktivity makrofágů. Dále by v budoucnosti mohlo být možné využívat exogenní upravené exozomy k dopravě různých látek nebo struktur do srdečních buněk. Kardiomyocyty pacientů se srdečním selháním by mohly být ozdravovány dodáváním látek podporujících mitochondriální biogenezi nebo přímo přenosem zdravých mitochondrií. Příjem dysfunkčních mitochondrií by zase mohl zvyšovat odolnost vůči ischemicko-reperfučnímu poškození u jedinců s vysokým rizikem infarktu myokardu.

Exozomální přenos mitochondrií představuje donedávna netušený rozměr komunikace mezi tukovou tkání a dalšími orgány včetně srdce. Vedle změn v sekreci lipidů a signálních molekul tak možná exozomy představují další faktor při rozvoji metabolického syndromu.

Zdroje

Knižní zdroje

Voet et Voet (2010): *Biochemistry*, 4th edition; John Wiley & Sons, Inc., New Jersey

Internetové zdroje

Abcam, staženo: 5.4.2024: <https://www.abcam.com/pathways/fatty-acid-oxidation>

Cardia.ikem, staženo: 15.3.2024: <https://cardia.ikem.cz/>

Český statistický úřad, staženo: 1.3.2024: <https://www.czso.cz/csu/czso/temer-tretina-cechu-umira-na-nemoci-srdce>

Světová zdravotnická organizace, staženo: 1.3.2024: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>

The world counts, staženo: 1.3.2024: <https://www.theworldcounts.com/>

Odborná literatura

Akimov, S. A., Molotkovsky, R. J., Galimzyanov, T. R., Radaev, A. V., Shilova, L. A., Kuzmin, P. I., Batishchev, O. V., Voronina, G. F., & Chizmadzhev, Y. A. (2014). Model of membrane fusion: Continuous transition to fusion pore with regard of hydrophobic and hydration interactions. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*, 8(2), 153–161. <https://doi.org/10.1134/S1990747814010024>

Akoumianakis, I., & Antoniadou, C. (2017). The interplay between adipose tissue and the cardiovascular system: Is fat always bad? In *Cardiovascular Research* (Roč. 113, Číslo 9, s. 999–1008). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx111>, review

Al Amir Dache, Z., Otandault, A., Tanos, R., Pastor, B., Meddeb, R., Sanchez, C., Arena, G., Lasorsa, L., Andrew Bennett, E., Grange, T., & Blood, al. (2020). contains circulating cell free respiratory competent mitochondria: Blood contains extracellular mitochondria. *FASEB Journal*, 2020(3), 3616–3630. <https://doi.org/10.1096/fj.201901917RRi>

Arner, E., Westermark, P. O., Spalding, K. L., Britton, T., Rydén, M., Frisén, J., Bernard, S., & Arner, P. (2010). Adipocyte turnover: Relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes*, 59(1), 105–109. <https://doi.org/10.2337/db09-0942>

Azzouz, M., Ralph, G. S., Storkebaum, E., Walmsley, L. E., Mitrophanous, K. A., Kingsman, S. M., Carmeliet, P., & Mazarakis, N. D. (2004). VEGF delivery with retrogradely transported lentivector prolongs survival in a mouse ALS model. *Nature*, 429(6990), 413–417. <https://doi.org/10.1038/nature02544>

Barbieri, S. S., Eligini, S., Brambilla, M., Tremoli, E., & Colli, S. (2003). Reactive oxygen species mediate cyclooxygenase-2 induction during monocyte to macrophage

- differentiation: Critical role of NADPH oxidase. *Cardiovascular Research*, 60(1), 187–197. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(03\)00365-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(03)00365-1)
- Barzi, F. (2005). A comparison of lipid variables as predictors of cardiovascular disease in the Asia Pacific region. *Annals of Epidemiology*, 15(5), 405–413. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2005.01.005>
- Bayne, A. N., & Trempe, J. F. (2019). Mechanisms of PINK1, ubiquitin and Parkin interactions in mitochondrial quality control and beyond. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Roč. 76, Číslo 23, s. 4589–4611). Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03203-4>
- Belhadj, Z., He, B., Deng, H., Song, S., Zhang, H., Wang, X., Dai, W., & Zhang, Q. (2020). A combined “eat me/don’t eat me” strategy based on extracellular vesicles for anticancer nanomedicine. *Journal of Extracellular Vesicles*, 9(1). <https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1806444>
- Bleier, L., & Dröse, S. (2013). Superoxide generation by complex III: From mechanistic rationales to functional consequences. In *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* (Roč. 1827, Číslo 11–12, s. 1320–1331). <https://doi.org/10.1016/j.bbambio.2012.12.002>, review
- Boilard, E. (2018). Extracellular vesicles and their content in bioactive lipid mediators: More than a sack of microRNA. In *Journal of Lipid Research* (Roč. 59, Číslo 11, s. 2037–2046). American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc. <https://doi.org/10.1194/jlr.R084640>, review
- Bonora, M., Wieckowski, M. R., Sinclair, D. A., Kroemer, G., Pinton, P., & Galluzzi, L. (2019). Targeting mitochondria for cardiovascular disorders: therapeutic potential and obstacles. In *Nature Reviews Cardiology* (Roč. 16, Číslo 1, s. 33–55). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0074-0>, review
- Borcherding, N., Jia, W., Giwa, R., Field, R. L., Moley, J. R., Kopecky, B. J., Chan, M. M., Yang, B. Q., Sabio, J. M., Walker, E. C., Osorio, O., Bredemeyer, A. L., Pietka, T., Alexander-Brett, J., Morley, S. C., Artyomov, M. N., Abumrad, N. A., Schilling, J., Lavine, K., ... Brestoff, J. R. (2022). Dietary lipids inhibit mitochondria transfer to macrophages to divert adipocyte-derived mitochondria into the blood. *Cell Metabolism*, 34(10), 1499–1513.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.08.010>
- Brock, D. J., Kondow-McConaghy, H., Allen, J., Brkljača, Z., Kustigian, L., Jiang, M., Zhang, J., Rye, H., Vazdar, M., & Pellois, J. P. (2020). Mechanism of Cell Penetration by Permeabilization of Late Endosomes: Interplay between a Multivalent TAT Peptide and Bis(monoacylglycerol)phosphate. *Cell Chemical Biology*, 27(10), 1296–1307.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.07.015>
- Brown, W. M., George, M., & Wilson, A. C. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA (primates/restriction endonuclease cleavage maps/gel electrophoresis/DNA melting). In *Genetics* (Roč. 76, Číslo 4).

- Burnett, L. A., & Nowak, R. A. (2016). Exosomes mediate embryo and maternal interactions at implantation and during pregnancy. *Frontiers in Bioscience - Scholar*, 8(1), 79–96. <https://doi.org/10.2741/S448>, review
- Cadete, V. J. J., Deschênes, S., Cuillerier, A., Brisebois, F., Sugiura, A., Vincent, A., Turnbull, D., Picard, M., McBride, H. M., & Buelle, Y. (2016). Formation of mitochondrial-derived vesicles is an active and physiologically relevant mitochondrial quality control process in the cardiac system. *Journal of Physiology*, 594(18), 5343–5362. <https://doi.org/10.1113/JP272703>
- Cameron, A. J., Magliano, D. J., Shaw, J. E., Zimmet, P. Z., Carstensen, B., Alberti, K. G. M. M., Tuomilehto, J., Barr, E. L. M., Pauvaday, V. K., Kowlessur, S., & Söderberg, S. (2012). The influence of hip circumference on the relationship between abdominal obesity and mortality. *International Journal of Epidemiology*, 41(2), 484–494. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr198>
- Cannon, B., & Nedergaard, J. (2004). Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003>, review
- Cinti, S. (2011). Between brown and white: Novel aspects of adipocyte differentiation. *Annals of Medicine*, 43(2), 104–115. <https://doi.org/10.3109/07853890.2010.535557>, review
- Crewe, C., Funcke, J. B., Li, S., Joffin, N., Gliniak, C. M., Ghaben, A. L., An, Y. A., Sadek, H. A., Gordillo, R., Akgul, Y., Chen, S., Samovski, D., Fischer-Posovszky, P., Kusminski, C. M., Klein, S., & Scherer, P. E. (2021). Extracellular vesicle-based interorgan transport of mitochondria from energetically stressed adipocytes. *Cell Metabolism*, 33(9), 1853–1868.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.08.002>
- D'acunzo, P., Pérez-González, R., Kim, Y., Hargash, T., Miller, C., Alldred, M. J., Erdjument-Bromage, H., Penikalapati, S. C., Pawlik, M., Saito, M., Saito, M., Ginsberg, S. D., Neubert, T. A., Goulbourne, C. N., & Levy, E. (2021). Mitovesicles are a novel population of extracellular vesicles of mitochondrial origin altered in Down syndrome. In *Sci. Adv* (Roč. 7). <https://www.science.org>
- Dalgaard, L. T., & Pedersen, O. (2001). Uncoupling proteins: Functional characteristics and role in the pathogenesis of obesity and Type II diabetes. In *Diabetologia* (Roč. 44, Číslo 8, s. 946–965). <https://doi.org/10.1007/s001250100596>
- Davis, J. M., Murphy, E. A., Carmichael, M. D., & Davis, B. (2009). Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 296, 1071–1077. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90925.2008>.-Quercetin
- Dimri, G. P., Leet, X., Basile, G., Acosta, M., Scortt, G., Roskelley, C., Medrano, E. E., Linskens, M., Rubeljii, I., Pereira-Smithii, O., Peacocket, M., Campisi, J., & Pardee, B. (1995). A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo (replicative senescence/tumor suppression/18-galactosidase) Communicated by Arthur. In *Cell Bioogy* (Roč. 92).

- Epelman, S., Lavine, K. J., & Randolph, G. J. (2014). Origin and Functions of Tissue Macrophages. In *Immunity* (Roč. 41, Číslo 1, s. 21–35). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.013>
- Esteve Ràfols, M. (2014). Adipose tissue: Cell heterogeneity and functional diversity. *Endocrinología y Nutrición* (English Edition), 61(2), 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.endoen.2014.02.001>
- Fahed, G., Aoun, L., Zerdan, M. B., Allam, S., Zerdan, M. B., Bouferraa, Y., & Assi, H. I. (2022). Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. In *International Journal of Molecular Sciences* (Roč. 23, Číslo 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23020786>, review
- Faria, S. S., Corrêa, L. H., Heyn, G. S., de Sant'Ana, L. P., Almeida, R. D. N., & Magalhães, K. G. (2020). Obesity and breast cancer: The role of crown-like structures in breast adipose tissue in tumor progression, prognosis, and therapy. In *Journal of Breast Cancer* (Roč. 23, Číslo 3, s. 233–245). Korean Breast Cancer Society. <https://doi.org/10.4048/jbc.2020.23.e35>, review
- Fitzner, D., Schnaars, M., Van Rossum, D., Krishnamoorthy, G., Dibaj, P., Bakhti, M., Regen, T., Hanisch, U. K., & Simons, M. (2011). Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis. *Journal of Cell Science*, 124(3), 447–458. <https://doi.org/10.1242/jcs.074088>
- Garcia, N. A., González-King, H., Grueso, E., Sánchez, R., Martínez-Romero, A., Jávega, B., O'Connor, J. E., Simons, P. J., Handberg, A., & Sepúlveda, P. (2019). Circulating exosomes deliver free fatty acids from the bloodstream to cardiac cells: Possible role of CD36. *PLoS ONE*, 14(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217546>
- Gava, F. N., da Silva, A. A., Dai, X., Harmancey, R., Ashraf, S., Omoto, A. C. M., Salgado, M. C., Moak, S. P., Li, X., Hall, J. E., & do Carmo, J. M. (2021). Restoration of Cardiac Function After Myocardial Infarction by Long-Term Activation of the CNS Leptin-Melanocortin System. *JACC: Basic to Translational Science*, 6(1), 55–70. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2020.11.007>
- Germic, N., Frangez, Z., Yousefi, S., & Simon, H. U. (2019). Regulation of the innate immune system by autophagy: monocytes, macrophages, dendritic cells and antigen presentation. In *Cell Death and Differentiation* (Roč. 26, Číslo 4, s. 715–727). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41418-019-0297-6>, review
- Gonda, A., Kabagwira, J., Senthil, G. N., & Wall, N. R. (2019). Internalization of exosomes through receptor-mediated endocytosis. In *Molecular Cancer Research* (Roč. 17, Číslo 2, s. 337–347). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-18-0891>
- Goodpaster, B. H., He, J., Watkins, S., & Kelley, D. E. (2001). Skeletal Muscle Lipid Content and Insulin Resistance: Evidence for a Paradox in Endurance-Trained Athletes. <https://academic.oup.com/jcem/article/86/12/5755/2849249>

- Greenberg, A. S., & Coleman, R. A. (2011). Expanding roles for lipid droplets. In *Trends in Endocrinology and Metabolism* (Roč. 22, Číslo 6, s. 195–196). <https://doi.org/10.1016/j.tem.2011.04.002>
- Guo, C. Y., Sun, L., Chen, X. P., & Zhang, D. S. (2013). Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research*, 8(21), 2003–2014. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2013.21.009>
- Hass, D. T., & Barnstable, C. J. (2019). Mitochondrial uncoupling protein 2 knock-out promotes mitophagy to decrease retinal ganglion cell death in a mouse model of glaucoma. *Journal of Neuroscience*, 39(18), 3582–3596. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2702-18.2019>, review
- Hass, D. T., & Barnstable, C. J. (2021). Uncoupling proteins in the mitochondrial defense against oxidative stress. In *Progress in Retinal and Eye Research* (Roč. 83). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2021.100941>, review
- Hernansanz-Agustín, P., Ramos, E., Navarro, E., Parada, E., Sánchez-López, N., Peláez-Aguado, L., Cabrera-García, J. D., Tello, D., Buendía, I., Marina, A., Egea, J., López, M. G., Bogdanova, A., & Martínez-Ruiz, A. (2017). Mitochondrial complex I deactivation is related to superoxide production in acute hypoxia. *Redox Biology*, 12, 1040–1051. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.04.025>
- Heyn, J., Heuschkel, M. A., & Goettsch, C. (2023). Mitochondrial-Derived Vesicles—Link to Extracellular Vesicles and Implications in Cardiovascular Disease. In *International Journal of Molecular Sciences* (Roč. 24, Číslo 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms24032637>
- Chaturvedi, P., Kalani, A., Medina, I., Familtseva, A., & Tyagi, S. C. (2015). Cardiosome mediated regulation of MMP9 in diabetic heart: Role of mir29b and mir455 in exercise. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 19(9), 2153–2161. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12589>, review
- Chen, H., Vermulst, M., Wang, Y. E., Chomyn, A., Prolla, T. A., McCaffery, J. M., & Chan, D. C. (2010). Mitochondrial fusion is required for mtdna stability in skeletal muscle and tolerance of mtDNA mutations. *Cell*, 141(2), 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.026>, review
- Jeppesen, D. K., Fenix, A. M., Franklin, J. L., Higginbotham, J. N., Zhang, Q., Zimmerman, L. J., Liebler, D. C., Ping, J., Liu, Q., Evans, R., Fissell, W. H., Patton, J. G., Rome, L. H., Burnette, D. T., & Coffey, R. J. (2019). Reassessment of Exosome Composition. *Cell*, 177(2), 428–445.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.029>
- Jeppesen, D. K., Hvam, M. L., Primdahl-Bengtson, B., Boysen, A. T., Whitehead, B., Dyrskjøt, L., Ørntoft, T. F., Howard, K. A., & Ostentfeld, M. S. (2014). Comparative analysis of discrete exosome fractions obtained by differential centrifugation. *Journal of Extracellular Vesicles*, 3(1). <https://doi.org/10.3402/jev.v3.25011>

- Joshi, B. S., de Beer, M. A., Giepmans, B. N. G., & Zuhorn, I. S. (2020a). Endocytosis of Extracellular Vesicles and Release of Their Cargo from Endosomes. *ACS nano*, 14(4), 4444–4455. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b10033>
- Joshi, B. S., de Beer, M. A., Giepmans, B. N. G., & Zuhorn, I. S. (2020b). Endocytosis of Extracellular Vesicles and Release of Their Cargo from Endosomes. *ACS nano*, 14(4), 4444–4455. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b10033>
- Kojta, I., Chacińska, M., & Błachnio-Zabielska, A. (2020). Obesity, bioactive lipids, and adipose tissue inflammation in insulin resistance. In *Nutrients* (Roč. 12, Číslo 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12051305>
- Lam, N. T., & Sadek, H. A. (2018). Neonatal heart regeneration comprehensive literature review. In *Circulation* (Roč. 138, Číslo 4, s. 421–423). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.033648>, review
- Liang, W., Qi, Y., Yi, H., Mao, C., Meng, Q., Wang, H., & Zheng, C. (2022). The Roles of Adipose Tissue Macrophages in Human Disease. In *Frontiers in Immunology* (Roč. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.908749>, review
- Longley, M. J., Nguyen, D., Kunkel, T. A., & Copeland, W. C. (2001). The Fidelity of Human DNA Polymerase γ with and without Exonucleolytic Proofreading and the p55 Accessory Subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 276(42), 38555–38562. <https://doi.org/10.1074/jbc.M105230200>
- Lu, Y., Li, Z., Zhang, S., Zhang, T., Liu, Y., & Zhang, L. (2023). Cellular mitophagy: Mechanism, roles in diseases and small molecule pharmacological regulation. *Theranostics*, 13(2), 736–766. <https://doi.org/10.7150/thno.79876>
- Lucas, D. T., & Szweda, L. I. (1998). Cardiac reperfusion injury: Aging, lipid peroxidation, and mitochondrial dysfunction. In *National Institutes of Health* (Roč. 95). www.pnas.org.
- Maassen, J. A., 't Hart, L. M., Van Essen, E., Heine, R. J., Nijpels, G., Tafrechi, R. S. J., Raap, A. K., Janssen, G. M. C., & Lemkes, H. H. P. J. (2004). Mitochondrial Diabetes Molecular Mechanisms and Clinical Presentation. http://diabetesjournals.org/diabetes/article-pdf/53/suppl_1/S103/377701/zdb1020400s103.pdf
- Maeda, A., & Fadeel, B. (2014). Mitochondria released by cells undergoing TNF- α -induced necroptosis act as danger signals. *Cell Death and Disease*, 5(7). <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.277>
- Matsui, T., Tao, J., Federica Del Monte, ;, Lee, K.-H., Li, L., Picard, M., Force, T. L., Franke, T. F., Hajjar, R. J., & Rosenzweig, A. (2001). Akt Activation Preserves Cardiac Function and Prevents Injury After Transient Cardiac Ischemia In Vivo. <http://www.circulationaha.org>
- Milutinović, A., Šuput, D., & Zorc-Plesković, R. (2020). Pathogenesis of atherosclerosis in the tunica intima, media, and adventitia of coronary arteries: An updated review. In *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences* (Roč. 20, Číslo 1, s. 21–30). Association of Basic Medical Sciences of FBiH. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2019.4320>

- Molawi, K., Wolf, Y., Kandalla, P. K., Favret, J., Hagemeyer, N., Frenzel, K., Pinto, A. R., Klapproth, K., Henri, S., Malissen, B., Rodewald, H. R., Rosenthal, N. A., Bajenoff, M., Prinz, M., Jung, S., & Sieweke, M. H. (2014). Progressive replacement of embryo-derived cardiac macrophages with age. *Journal of Experimental Medicine*, 211(11), 2151–2158. <https://doi.org/10.1084/jem.20140639>
- Morino, K., Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2006). Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction. *Diabetes*, 55(SUPPL. 2). <https://doi.org/10.2337/db06-S002>, review
- Nicolás-Ávila, J. A., Lechuga-Vieco, A. V., Esteban-Martínez, L., Sánchez-Díaz, M., Díaz-García, E., Santiago, D. J., Rubio-Ponce, A., Li, J. L. Y., Balachander, A., Quintana, J. A., Martínez-de-Mena, R., Castejón-Vega, B., Pun-García, A., Través, P. G., Bonzón-Kulichenko, E., García-Marqués, F., Cussó, L., A-González, N., González-Guerra, A., ... Hidalgo, A. (2020). A Network of Macrophages Supports Mitochondrial Homeostasis in the Heart. *Cell*, 183(1), 94-109.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.031>
- Nulton-Persson, A. C., & Szweda, L. I. (2001). Modulation of Mitochondrial Function by Hydrogen Peroxide. *Journal of Biological Chemistry*, 276(26), 23357–23361. <https://doi.org/10.1074/jbc.M100320200>
- Onaolapo, A. Y., & Onaolapo, O. J. (2018). Food additives, food and the concept of ‘food addiction’: Is stimulation of the brain reward circuit by food sufficient to trigger addiction? In *Pathophysiology* (Roč. 25, Číslo 4, s. 263–276). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2018.04.002>, review
- Onukwufor, J. O., Berry, B. J., & Wojtovich, A. P. (2019). Physiologic implications of reactive oxygen species production by mitochondrial complex I reverse electron transport. In *Antioxidants* (Roč. 8, Číslo 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox8080285>, review
- Orecchioni, M., Ghosheh, Y., Pramod, A. B., & Ley, K. (2019). Macrophage polarization: Different gene signatures in M1(Lps+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively activated macrophages. In *Frontiers in Immunology* (Roč. 10, Číslo MAY). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01084>
- Pachikian, B. D., Essaghir, A., Demoulin, J. B., Neyrinck, A. M., Catry, E., de Backer, F. C., Dejeans, N., Dewulf, E. M., Sohet, F. M., Portois, L., Deldicque, L., Molendi-Coste, O., Leclercq, I. A., Francaux, M., Carpentier, Y. A., Foufelle, F., Muccioli, G. G., Cani, P. D., & Delzenne, N. M. (2011). Hepatic n-3 polyunsaturated fatty acid depletion promotes steatosis and insulin resistance in mice: Genomic analysis of cellular targets. *PLoS ONE*, 6(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023365>
- Plebanek, M. P., Mutharasan, R. K., Volpert, O., Matov, A., Gatlin, J. C., & Thaxton, C. S. (2015). Nanoparticle targeting and cholesterol flux through scavenger receptor type B-1 inhibits cellular exosome uptake. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep15724>

- Prada, I., & Meldolesi, J. (2016). Binding and fusion of extracellular vesicles to the plasma membrane of their cell targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/ijms17081296>, review
- Qin, X., He, J., Wang, X., Wang, J., Yang, R., & Chen, X. (2023). The functions and clinical application potential of exosomes derived from mesenchymal stem cells on wound repair: a review of recent research advances. In *Frontiers in Immunology* (Roč. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1256687>, review
- Qureshi, K., Abrams, G. A., & Com, W. W. (2007). Metabolic liver disease of obesity and role of adipose tissue in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 13(26), 3540–3553. www.wjgnet.com, review
- Rajjo, T. I., Harteneck, D. A., & Jensen, M. D. (2014). Direct free fatty acid storage in different sized adipocytes from the same depot. *Obesity*, 22(5), 1275–1279. <https://doi.org/10.1002/oby.20673>
- Rakhra, V., Galappaththy, L., Bulchandani, S., & Cabandugama, P. K. (b.r.). diEts & hEalth MinisEriEs obesity and the Western diet: how We Got here. <https://www.cdc.gov/obesity/data/adult.html>, review
- Roh, J. S., & Sohn, D. H. (2018). Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases. In *Immune Network* (Roč. 18, Číslo 4). Korean Association of Immunologists. <https://doi.org/10.4110/in.2018.18.e27>, review
- Rosenwald, M., Perdikari, A., Rüllicke, T., & Wolfrum, C. (2013). Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. *Nature Cell Biology*, 15(6), 659–667. <https://doi.org/10.1038/ncb2740>
- Rosina, M., Ceci, V., Turchi, R., Chuan, L., Borcharding, N., Sciarretta, F., Sánchez-Díaz, M., Tortolici, F., Karlinsey, K., Chiurchiù, V., Fuoco, C., Giwa, R., Field, R. L., Audano, M., Arena, S., Palma, A., Riccio, F., Shamsi, F., Renzone, G., ... Lettieri-Barbato, D. (2022a). Ejection of damaged mitochondria and their removal by macrophages ensure efficient thermogenesis in brown adipose tissue. *Cell Metabolism*, 34(4), 533-548.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.02.016>
- Rosina, M., Ceci, V., Turchi, R., Chuan, L., Borcharding, N., Sciarretta, F., Sánchez-Díaz, M., Tortolici, F., Karlinsey, K., Chiurchiù, V., Fuoco, C., Giwa, R., Field, R. L., Audano, M., Arena, S., Palma, A., Riccio, F., Shamsi, F., Renzone, G., ... Lettieri-Barbato, D. (2022b). Ejection of damaged mitochondria and their removal by macrophages ensure efficient thermogenesis in brown adipose tissue. *Cell Metabolism*, 34(4), 533-548.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.02.016>
- Santos, H. J., & Nozaki, T. (2022). The mitosome of the anaerobic parasitic protist *Entamoeba histolytica*: A peculiar and minimalist mitochondrion-related organelle. In *Journal of Eukaryotic Microbiology* (Roč. 69, Číslo 6). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/jeu.12923>, review

- Sferra, A., Nicita, F., & Bertini, E. (2020). Microtubule dysfunction: A common feature of neurodegenerative diseases. In *International Journal of Molecular Sciences* (Roč. 21, Číslo 19, s. 1–36). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21197354>
- Spurlock, B., Tullet, J. M. A., Hartman, J. L., & Mitra, K. (2020). Interplay of mitochondrial fission-fusion with cell cycle regulation: Possible impacts on stem cell and organismal aging. In *Experimental Gerontology* (Roč. 135). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2020.110919>
- Srinivas, U. S., Tan, B. W. Q., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. In *Redox Biology* (Roč. 25). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084>
- Ståhl, A. I., Johansson, K., Mossberg, M., Kahn, R., & Karpman, D. (2019). Exosomes and microvesicles in normal physiology, pathophysiology, and renal diseases. In *Pediatric Nephrology* (Roč. 34, Číslo 1, s. 11–30). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00467-017-3816-z>, review
- Tauro, B. J., Greening, D. W., Mathias, R. A., Ji, H., Mathivanan, S., Scott, A. M., & Simpson, R. J. (2012). Comparison of ultracentrifugation, density gradient separation, and immunoaffinity capture methods for isolating human colon cancer cell line LIM1863-derived exosomes. *Methods*, 56(2), 293–304. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2012.01.002>
- Timper, K., & Brüning, J. C. (2017). Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: Pathways to obesity. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 10(6), 679–689. <https://doi.org/10.1242/dmm.026609>
- Todkar, K., Chikhi, L., Desjardins, V., El-Mortada, F., Pépin, G., & Germain, M. (2021). Selective packaging of mitochondrial proteins into extracellular vesicles prevents the release of mitochondrial DAMPs. *Nature Communications*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21984-w>
- Torralba, D., Baixauli, F., & Sánchez-Madrid, F. (2016). Mitochondria know no boundaries: Mechanisms and functions of intercellular mitochondrial transfer. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4(SEP), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00107>
- Wang, L., Zabri, H., Gorressen, S., Semmler, D., Hundhausen, C., Fischer, J. W., & Bottermann, K. (2022). Cardiac ischemia modulates white adipose tissue in a depot-specific manner. *Frontiers in Physiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1036945>
- Wang, Q., Zhang, M., Xu, M., Gu, W., Xi, Y., Qi, L., Li, B., & Wang, W. (2015). Brown adipose tissue activation is inversely related to central obesity and metabolic parameters in adult human. *PLoS ONE*, 10(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123795>
- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1796–1808. <https://doi.org/10.1172/jci19246>

Westerbacka, J., Cornér, A., Kolak, M., Makkonen, J., Turpeinen, U., Hamsten, A., Fisher, R. M., & Yki-Järvinen, H. (2008). Insulin regulation of MCP-1 in human adipose tissue of obese and lean women. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 294, 841–845. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00653.2006.-CCL2>

Zhang, T. guang, & Miao, C. yu. (2023). Mitochondrial transplantation as a promising therapy for mitochondrial diseases. In *Acta Pharmaceutica Sinica B* (Roč. 13, Číslo 3, s. 1028–1035). Chinese Academy of Medical Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.10.008>, review

Obrázky

Obrázek 1: Životní cyklus mitochondrií (Zhang & Miao, 2023)

Obrázek 2: Mitochondriální metabolismus; vlastní tvorba

Obrázek 3: Exozomy vs Mikrovezikuly (Ståhl et al., 2019)

Obrázek 4: Multivezikulární tělíska (Burnett & Nowak, 2016)

Obrázek 5: Zpracování exozomu (Gonda et al., 2019)

Obrázek 6: Přenos mitochondrií (Zhang & Miao, 2023)

Obrázek 7: Mitofagie (Lu et al., 2023).