Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

MUDr. Viktória Ďurovcová

Fyziologické a patofyziologické aspekty některých vybraných endokrinopatií. Vztah k metabolizmu tukové tkáně a inzulínové rezistenci.

Physiologic and pathophysiologic aspects of selected endocrinopathies. Their relationship to adipose tissue metabolism and insulin resistance.

DISERTAČNÍ PRÁCE

Školitel: prof. MUDr. Michal Kršek, CSc.

Praha, 2012

Prohlášení:

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

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

V Praze, ... Viktória Ďurovcová

Identifikační záznam:

ĎUROVCOVÁ, Viktória. *Fyziologické a patofyziologické aspekty některých vybraných endokrinopatií. Vztah k metabolizmu tukové tkáně a inzulínové rezistenci.* [Physiologic and pathophysiologic aspects of selected endocrinopathies. Their relationship to adipose tissue metabolism and insulin resistance]. Praha, 2012. 88 s., 0 příl. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, III. interní klinika — klinika endokrinologie a metabolizmu. Školitel prof. MUDr. Kršek, Michal, CSc.

Poděkování

Úvodem bych chtěla vyjádřit veliké poděkování mému školiteli prof. MUDr. Michalovi Krškovi, CSc. za vedení v průběhu mého doktorského studia, předání zkušeností potřebných k vědecké práci a vedení a podněty při vypracování doktorské dizertační práce. Zároveň bych chtěla poděkovat prof. MUDr. Štěpánovi Svačinovi, DrSc., MBA, který mi jako přednosta III. interní kliniky 1. LF UK a VFN v Praze vytvořil vynikající podmínky k postgraduálnímu studiu a další práci. Za důležitý přínos mé vědecké práci, četné rady a usměrňování mého výzkumu děkuji také prof. MUDr. Martinovi Haluzíkovi, DrSc.

Moje poděkování patří i MUDr. László Wenchichovi, PhD. z Laboratoře pro studium mitochondriálních poruch Kliniky dětského a dorostového lékařství 1.LF UK a VFN; MUDr. Denise Haluzíkové z Ústavu tělovýchovného lékařství 1.LF UK a VFN; pracovnicím naší výzkumné laboratoře, paní Jitce Jahodové, Renatě Pavlovičové, Mgr. Markétě Bártlové, PhD., RNDr. Zdeně Lacinové, Mgr. Petře Kaválkové, PhD. a celému týmu Osteocentra III. interní kliniky 1. LF UK a VFN za laboratorní zpracování vzorků, získávání antropometrických dat a vynikající spolupráci. Děkuji ale i mnohým dalším kolegům a zaměstnanců III. interní kliniky 1. LF UK a VFN za jejich ochotnou a vstřícnou účast v naší studii.

Všem výše uvedeným děkuji za velice přátelský přístup během celého mého postgraduálního studia.

Děkuji mému manželovi za trpělivost a skvělou technickou podporu.

Obsah

Abstrakt **3**

Abstract **4**

1 Úvod **5**

2 Tuková tkáň a inzulínová rezistence **6**
2.1 Negativní metabolické vlivy viscerální tukové tkáně, její vztah k inzulínové rezistenci . . . 6
2.2 Tuková tkáň a její sekreční produkty ve vztahu k inzulínové rezistenci 9
2.2.1 Leptin . . . 9
2.2.2 Adiponektin . . . 10
2.2.3 Adipocytární mastné kyseliny vážící protein (adipocyte fatty acid binding protein, AFABP, FABP-4) . . . 11
2.2.4 Látky secernované převážně nonadipocytárními buňkami tukové tkáně . . . 11
2.2.5 Fibroblastové růstové faktory (FGF) 19 a 21 . . . 12

3 Vybrané endokrinopatie a inzulínová rezistence **13**
3.1 Hyperkortizolizmus . . . 13
3.1.1 Metabolické účinky glukokortikoidů . . . 13
3.1.2 Vztah hyperkortizolizmu k inzulínové rezistenci . . . 14
3.2 Akromegalie . . . 15
3.2.1 Metabolické účinky růstového hormonu . . . 15
3.2.2 Růstový hormon a inzulínová rezistence . . . 16

4 Mitochondrie a inzulínová rezistence **18**
4.1 Mitochondrie — základní informace . . . 18
4.2 Mitochondriální metabolizmus . . . 18
4.2.1 Respirační řetězec a glukózová homeostáza . . . 19
4.2.2 Metabolizmus VMK a glukózová homeostáza . . . 20

5 Cíle a hypotézy dizertační práce **23**

6 Metodika práce **24**
6.1 Soubor pacientů . . . 24
6.2 Antropometrická vyšetření . . . 25
6.3 Hormonální a biochemická vyšetření . . . 26
6.4 Mitochondriální funkce . . . 27
6.5 Molekulárně biologická vyšetření . . . 28
6.5.1 Metodika . . . 28
6.5.2 Přehled vyšetřovaných genů mitochondriálních komponent 28
6.6 Statistická analýza . . . 29

7 Výsledky **31**
7.1 Antropometrická charakteristika a srovnání studovaných subjektů ve skupinách CS, A, OB vs kontroly a CS vs. OB 31
7.2 Biochemická a hormonální charakteristika a srovnání studovaných subjektů ve skupinách CS, A, OB vs kontroly a CS vs. OB 32
7.3 Parametry mitochondriální funkce a exprese genů mitochondriálních enzymů — charakteristika a srovnání studovaných subjektů ve skupinách CS, A, OB vs kontroly a CS vs. OB 34
7.4 Korelace FGF-19, FGF-21 a FABP-4 s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry 34
7.4.1 Pacienti s Cushingovým syndromem 34
7.4.2 Pacienti s akromegalií 38
7.4.3 Obézní pacienti 38
7.4.4 Zdravé kontroly 40
7.5 Korelace aktivity a absolutního množství mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry 42
7.5.1 Pacienti s Cushingovým syndromem 42
7.5.2 Pacienti s akromegalií 42
7.5.3 Obézní pacienti 45
7.5.4 Zdravé kontroly 47
7.6 Korelace expresí genů vybraných mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry . . . 47
7.6.1 Pacienti s Cushingovým syndromem 47
7.6.2 Pacienti s akromegalií 53
7.6.3 Obézní pacienti 55
7.6.4 Zdravé kontroly 55

8 Závěr a diskuse **59**
8.1 Tuková tkáň a její produkty v patogenezi inzulínové rezistence u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií a prostou obezitou 59
8.2 Mitochondriální dysfunkce v patogenezi inzulínové rezistence u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií a prostou obezitou 63

Seznam použité literatury **68**

Seznam použitých zkratek **85**

Abstrakt

Patogeneze inzulínové rezistence není dosud zcela objasněna a podílí se na ní řada faktorů. Velmi významná úloha se v poslední době přisuzuje změnám v endokrinní a parakrinní aktivitě tukové tkáně a jejímu vztahu k mitochondriální dysfunkci.

Cílem první části práce bylo charakterizovat úlohu tukové tkáně a jejích produktů v patogenezi inzulínové rezistence u jednotlivých zkoumaných skupin pacientů, tj. u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií a prostou obezitou. Zaměřili jsme se na výzkum tří důležitých regulátorů metabolické homeostázy, a to fibroblastových růstových faktorů 21 a 19 (FGF-21 a FGF-19) a adipocytární mastné kyseliny vážícího proteinu (FABP-4).

Naše práce prokázala, že inzulínová rezistence jak u prosté obezity, tak i u obezity doprovázející hyperkortizolizmus je spojená s významně zvýšenými cirkulujícími hladinami FGF-21 a FABP-4 oproti zdravým kontrolám. Koncentrace obou látek byly srovnatelné mezi pacienty s Cushingovým syndromem a prostou obezitou. Tento fakt spolu s chybějící korelací mezi hladinami FGF-21, resp. FABP-4 a hladinami plazmatického kortizolu naznačují, že se jedná nejspíš o vliv obezity a jejích metabolických důsledků, nežli o samotné přímé působení hyperkortizolémie na produkci FGF-21 a FABP-4. U plazmatických hladin FGF-19 jsme nenašli žádné signifikantní rozdíly mezi zkoumanými skupinami pacientů. Absence signifikantních rozdílů cirkulujících hladin FGF-21, FGF-19 a FABP-4 mezi akromegaliky a zdravými kontrolami naznačuje, že v případě akromegalie není endokrinní dysfunkce tukové tkáně zásadní pro rozvoj inzulínové rezistence. V případě nadbytku růstového hormonu vzniká inzulínová rezistence zejména na základě četných postreceptorových interakcí mezi růstovým hormonem a inzulínovou signální kaskádou.

Cílem druhé části práce bylo zjistit, zda a jak se u jednotlivých výše uvedených onemocnění na etiopatogenezi inzulínové rezistence podílí mitochondriální dysfunkce. Zkoumali jsme aktivity a koncentrace enzymů mitochondriálního glukózového a lipidového metabolizmu, enzymů dýchacího řetězce mitochondrie, jakožto i exprese genů těchto enzymů v podkožní tukové tkáni.

V naší práci jsme prokázali poruchy mitochondriálních funkcí u všech zkoumaných skupin pacientů, tj. pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií i obézních, ve srovnání se zdravými kontrolami. Míra této dysfunkce přibližně odpovídala procentu pacientů s prokázanou poruchou glukózového metabolizmu v jednotlivých skupinách. Dle našich očekávání byly tyto změny nejvýraznější ve skupině pacientů s obezitou, nejmírnější ale ve skupině subjektů s hyperkortizolizmem. Naše výsledky naznačují, že nadprodukce kortizolu ani růstového hormonu nejsou etiopatogenetickou příčinou nalezených mitochondriálních změn. Předpokládáme, že nálezy mitochondriální dysfunkce u pacientů s hyperkortizolizmem i s nadprodukcí růstového hormonu/IGF-1 jsou pouze nepřímým důsledkem dlouhodobých metabolických účinků zvýšených hladin zmíněných hormonů, resp. negativních interakcí růstového hormonu s inzulínovou signální kaskádou.

Klíčová slova: obezita, inzulínová rezistence, kortizol, růstový hormon, fibroblastový růstový faktor 21 a 19, adipocytární mastné kyseliny vážící protein, mitochondralni dysfunkce.

Abstract

The pathogenesis of insulin resistance is a complex and still intensively studied issue. Endocrine and paracrine activity of the adipose tissue together with mitochondrial dysfunction are the most discussed potential factors included in the development of insulin resistance.

In the first part of our study we examined the involvement of the adipose tissue and its secretory products in the etiopathogenesis of insulin resistance in patients with Cushing's syndrome, acromegaly and simple obesity. We focused on three important regulators of metabolic homeostasis — fibroblast growth factors 21 and 19 (FGF-21 and FGF-19) and adipocyte fatty acid binding protein (FABP-4).

We found significantly elevated circulating levels of FGF-21 and FABP-4 accompanying insulin resistance in both patients with simple obesity and patients with obesity connected to Cushing's syndrome, as compared to healthy controls. The concentrations of both substances were comparable between hypercortisolic and obese patients. This finding together with the absence of correlation between the levels of FGF-21 resp. FABP-4 and cortisol suggest that the reason for elevation of their concentrations is obesity and its metabolic consequences themselves rather then the effect of hypercortisolism on FGF-21 and FABP-4 production. We found no significant changes in concentrations of FGF-19 in the studied groups of patients. The absence of significant differences in the levels of FGF-21, FGF-19 and FABP-4 between acromegalic patients and healthy controls suggests that endocrine dysfunction of the adipose tissue is not crucial for the development of insulin resistance in acromegaly. The primary etiopathogenic factor of insulin resistance in patients with overproduction of growth hormone are the numerous postreceptor interactions between growth hormone and insulin signaling pathways.

The second aim of our study was to examine the role of mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of insulin resistance. We studied the activities and concentrations of enzymes involved in mitochondrial glucose and lipid metabolism, respiratory chain, as well as their expressions in subcutaneous adipose tissue.

We found signs of mitochondrial dysfunction in all studied groups of patients, i.e. patients with Cushing's syndrome, acromegaly as well as simple obesity, as compared with healthy controls. The extent of this dysfunction corresponded approximately with the percentage of subjects with glucose metabolism disturbances present in particular groups. The changes were mostly expressed in patients with simple obesity, on the other hand, the mildest changes were found in hypercortisolic patients. Our results suggest that neither the overproduction of cortisol nor growth hormone are the etiopathogenic reasons for detected mitochondrial dysfunction. We assume that the findings of mitochondrial dysfunction in patients with overproduction of cortisol resp. growth hormone/IGF-1 are only indirect consequences of prolonged metabolic effects of patologically elevated hormone levels resp. negative interactions of growth hormone with insulin signaling pathways.

Keywords: obesity, insulin resistance, cortisol, growth hormone, fibroblast growth factors 21 and 19, adipocyte fatty acid binding protein, mitochondrial dysfunction.

1. Úvod

Zvyšující se výskyt metabolického syndromu a jeho komplikací v populaci všech vyspělých zemí včetně České republiky představuje významný medicínský i socioekonomický problém. Inzulínová rezistence, jako základní etiopatogenetická komponenta tohoto syndromu, provází obezitu a řadu dalších onemocnění, mezi jiným i některé endokrinopatie [1, 2].

Patogeneze inzulínové rezistence není dosud zcela objasněna a podílí se na ní řada faktorů. Velmi významná úloha se v poslední době přisuzuje změnám v endokrinní a parakrinní aktivitě tukové tkáně [1, 3, 4, 5, 6, 7] a intenzivně se diskutuje také její vztah k mitochondriální dysfunkci [8].

Cílem práce je charakterizovat společné a rozdílné mechanizmy vzniku inzulínové rezistence a jejich vztah k metabolizmu tukové tkáně a parametrům mitochondriální dysfunkce u pacientů s obezitou, Cushingovým syndromem a akromegalií. Všechny tři zmíněné patologické jednotky se totiž vyznačují změněnou distribucí tukové tkáně, inzulínovou rezistencí a s tím spojenou zvýšenou kardiovaskulární morbiditou a mortalitou.

2. Tuková tkáň a inzulínová rezistence

Tuková tkáň je dle současných poznatků popisována jako komplexní, esenciální a vysoce metabolicky a endokrinně aktivní orgán. Dochází v ní k produkci celého spektra bioaktivních peptidů, adipokinů, které působí na lokální (autokrinní a parakrinní), ale i systémové (endokrinní) úrovni. V tukové tkáni je exprimována i celá řada receptorů, což rozšiřuje biologický repertoár tohoto orgánu o možnost aktivní komunikace s ostatními orgánovými systémy včetně centrálního nervového systému (CNS). Podílí se tak nejenom na regulaci energetického metabolizmu, ale i řady neuroendokrinních a imunitních pochodů [9] (Tab. 2.1. a Tab. 2.2).

Tabulka 2.1: Přehled sekrečních produktů tukové tkáně s endokrinními vlastnostmi (upraveno podle [9])

Cytokíny a cytokínum podobné proteiny	Leptin
	Interleukin (IL)-6
	Tumor necrosis factor (TNF)-α
Další proteiny imunitního systému	Monocytární chemotaktický protein (MCP)-1
Proteiny fibrinolytického systému	Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1, blokátor fibrinolýzy
	Tkánový faktor, iniciuje koagulacní kaskádu
Komplement a s komplementem související proteiny	Adipsin (komplementový faktor D)
	Komplementový faktor B
	Acylation stimulating protein (ASP), stimuluje syntézu triacylglycerolu v bílé tukové tkáni
	Adiponektin
Lipidy a proteiny lipidového metabolizmu nebo transportu	Lipoproteinová lipáza (LPL)
	Cholesterol ester transfer protein (CETP)
	Apolipoprotein E
	Neesterifikované VMK
	Adipocytární mastné kyseliny vážící protein (adipocyte fatty acid binding protein, AFABP, FABP-4)
Enzymy steroidního metabolizmu	Cytochrome P450-dependentní aromatáza
	17β-hydroxysteroiddehydrogenáza (17βHSD)
	11β-hydroxysteroiddehydrogenáza 1 (11βHSD1)
Proteiny renin-angiotensinového systému	Angiotensinogen
Jiné proteiny	Rezistin
	Fibroblastové růstové faktory (FGF) 19 a 21

2.1 Negativní metabolické vlivy viscerální tukové tkáně, její vztah k inzulínové rezistenci

Z hlediska inzulínové rezistence se jako nejdůležitější jeví kumulace tukové tkáně v abdominální oblasti. Nejvíce diskutován je význam viscerálního, zejména omen-

Tabulka 2.2: Přehled receptorů nacházejících se v tukové tkáni (upraveno podle [9])

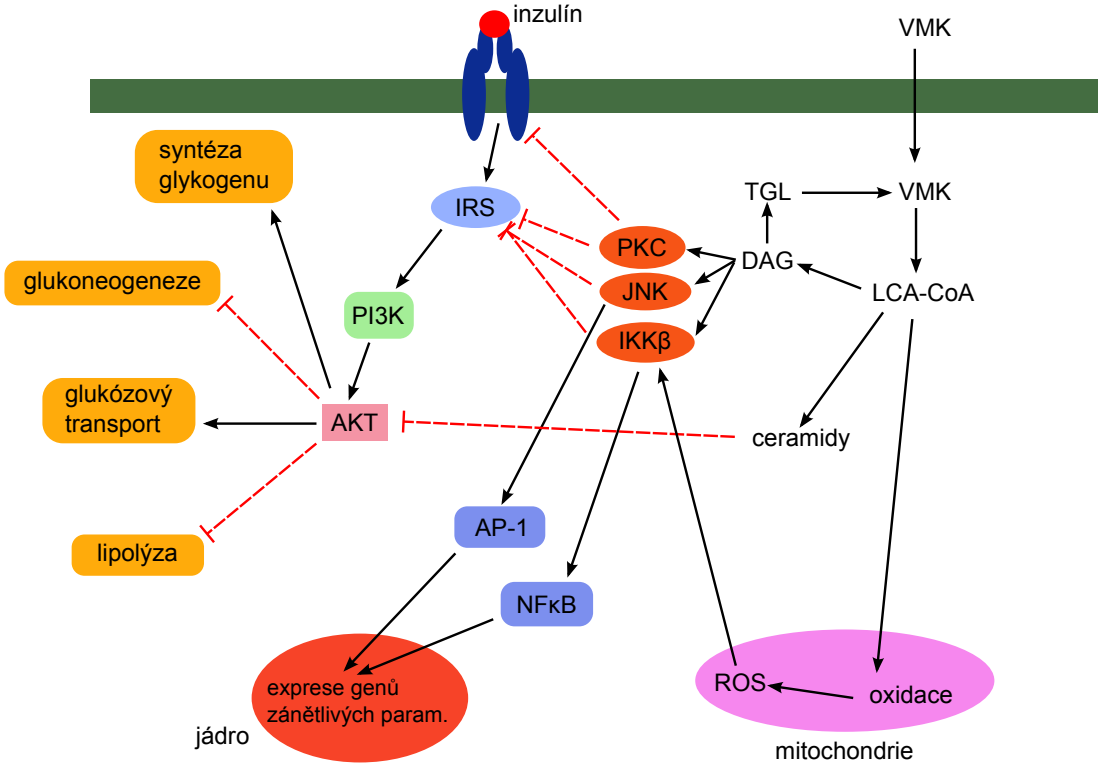
Receptory tradičních endokrinních hormonů	Inzulínový receptor
	Glukagonový receptor
	Receptor pro růstový hormon
	Receptor pro TSH (thyroid-stimulating hormone)
	Gastrin/Cholecystokinin-B receptor
	Glukagon-like peptid 1 receptor
	Angiotenzin II receptory, typ 1 a 2
Receptory pro nukleárně působící hormony	Glukokortikoidní receptor
	Receptor pro vitamin D
	Receptor pro tyreoidální hormony
	Receptor pro androgeny
	Receptor pro estrogeny
	Receptor pro progesteron
Cytokínové receptory	Leptinový receptor
	Interleukin (IL)-6 receptor
	Tumor necrosis factor (TNF)-α receptor
Katecholamínové receptory	β1, β2, β3 receptor
	α1, α2 receptor

tálního a mesenterického tuku, ale dle některých studií je s patogenezí inzulínové rezistence silně asociován i subkutánně uložený abdominální tuk [10, 11, 12].

Jednou z důležitých funkcí tukové tkáně je skladování triacylglycerolů (TGL), které jsou zdrojem energie v případech lačnění nebo zvýšené energetické potřeby v organizmu. Adipocyty syntetizují TGL z volných mastných kyselin (VMK) uvolňovaných z chylomiker a lipoproteinů s velmi nízkou denzitou (VLDL), které mají bohatý obsah TGL. Chylomikra i VLDL jsou molekuly sloužící k transportu hydrofóbních lipidů ve vodním prostředí krevního oběhu. Zdroj transportovaných tukových částic v případě chylomiker je exogenní — potrava zpracovaná buňkami tenkého střeva, v případě VLDL endogenní — lipidové produkty metabolických procesů probíhajících v játrech.

Skladování, resp. použití energetického potenciálu tukové tkáně, je regulováno různými hormony, zejména inzulínem a katecholaminy. Inzulín zde působí antilipolyticky, kdežto katecholaminy jsou naproti tomu nejpotentnějším spouštěčem lipolýzy tukové tkáně, a to prostřednictvím svých stimulačních β-1 až β-3 receptorů [9]. Stimulací těchto receptorů dochází k aktivaci hormonsenzitivní lipázy (HSL). HSL hydrolyzuje skladované TGL na glycerol a VMK, které mohou být následně využity v energetickém metabolizmu jiných tkání. Viscerální tuková tkáň uvolňuje větší množství VMK než subkutánní tuková tkáň, jednak díky vyšší lipolytické aktivitě — většímu množství β-1, β-2 a vyšší senzitivitě β-3 adrenergních receptorů, jednak díky nižší senzitivitě k antilipolytickému účinku inzulínu [10].

Kumulace viscerální tukové tkáně tedy potencionálně vede k větší dodávce VMK do cirkulace, včetně portálního oběhu. Zvýšený přísun VMK do jater zhoršuje klírens inzulínu játry inhibicí jeho vazby a degradace, s následnou systémovou hyperinzulinémií [13]. Zároveň dochází k oslabení inhibičního účinku inzulínu na hepatální glukoneogenezu [14, 15]. VMK stimulují tvorbu glukózy i dodávkou



Obrázek 2.1: Přehled účinků nadbytku VMK, plné čáry reprezentují stimulační a přerušované inhibiční účinky. (upraveno podle [17]) IRS = substrát inzulínového receptoru, PI3K = phosphatidylinositol-3-kináza, Akt = protein kináza beta (PKB), PKC = protein kináza C, JNK = Jun N-terminalní kináza, IKKβ = inhibitor kinázy β nukleárního faktoru κB, AP-1 = protein aktivátor-1, NFκB = nukleární faktor κB, DAG = diacylglycerol, TGL = triacylglyceroly, LCA-CoA = long-chain acyl-CoA, acyl-CoA s dlouhým řetězcem, ROS = reactive oxygen species, kyslíkové radikály

substrátů k její syntéze a energie ve formě adenosintrifosfátu (ATP) [16].

Zvýšená dostupnost VMK způsobuje zvýšenou esterifikaci VMK a snížení jaterní degradace apolipoproteinu B (apoB). Zvýšená hladina apoB, který působí jako ligand pro LDL-receptory buněk a zajišťuje tak intracelulární vstup cholesterolu, je považována za významný indikátor tvorby aterosklerotických plátů a kardiovaskulárního rizika. Při zvýšeném přísunu VMK stoupá i aktivita hepatální lipázy, která odčerpává lipidy z lipoproteinů s nízkou (LDL) i vysokou (HDL) denzitou, čímž je činí menšími a víc denzními [18]. Malé denzní LDL částice jsou dalším důležitým účastníkem aterosklerotického procesu.

Nadbytek cirkulujících VMK má i přímý vztah k rozvoji inzulínové rezistence. VMK a jejich intermediární metabolity jako diacylglyceroly, ceramidy a acyl-koenzym A (CoA) jsou schopny přímo interagovat s inzulínovou signální kaskádou s následnou poruchou translokace glukózových transportérů do plazmatické membrány a sníženým vychytáváním glukózy z oběhu [19]. Porucha vychytávání glukózy je zásadní zejména v kosterním svalstvu, které je nejvýznamnějším místem vzniku inzulínové rezistence. Tento stav je (i za normálních okolností) kompenzován VMK-indukovanou potenciací glukózou-stimulované sekrece inzulínu. To spolu se sníženou jaterní klírens inzulínu dále přispívá k hyperinzulinémii [16].

I když VMK stimulují sekreci inzulínu, po dosažení jisté toxické hladiny dochází k selhání β-buněk pankreatu a rozvoji diabetes mellitus (DM) 2. typu [10].

Dalším mechanizmem, kterým VMK vyvolávají inzulínovou rezistenci je nepřímá aktivace signalizační cesty IKKβ/NFκB (inhibitor kinázy β nukleárního faktoru κB / nukleární faktor κB). Její aktivace vede ke snížení přenosu signálu klasickou inzulínovou signální kaskádou [20, 21]. IKKβ je centrálním koordinátorem zánětlivých odpovědí a procesů, působí lokálně v hepatocytech a systémově v buňkách myeloidní řady. Prostřednictvím aktivace transkripčního faktoru NFκB indukuje tvorbu zánětlivých mediátorů podílejících se na vzniku inzulínové rezistence jak v jaterní, tak svalové tkáni [22].

Rozvoj metabolických komplikací v souvislosti s viscerální adipozitou je ovlivněn i genetickými faktory, které určují, při jakém množství abdominálního tuku se dané negativní metabolické dopady rozvinou [23]. Přehled účinků nadbytku VMK je na obrázku 2.1.

2.2 Tuková tkáň a její sekreční produkty ve vztahu k inzulínové rezistenci

Tuková tkáň jako komplexní metabolicky a endokrinně aktivní orgán obsahuje kromě adipocytů i pojivovou matrix, nervovou tkáň, cévy a buňky imunitního systému. I když adipocyty samotné exprimují a secernují hormony jako leptin, nebo adiponektin, řada v tukové tkáni tvořených molekul pochází právě z její non-adipocytární frakce.

2.2.1 Leptin

Leptin (z řeckého slova leptos — hubený) je polypeptid strukturou zapadající mezi cytokiny. Je tvořen adipocyty úměrně objemu tukové tkáně a stavu nutrice, přičemž jeho sekrece je výraznější v subkutánním než ve viscerálním tuku [6, 10, 24]. Jeho exprese a uvolňování jsou regulovány vícerými faktory. Ke stimulaci jeho tvorby přispívají např. inzulín, glukokortikoidy (GK), TNF-α (tumor necrosis factor-α), estrogeny a k útlumu β-3-adrenergní aktivita, androgeny, VMK, růstový hormon (GH), nebo PPAR-γ agonisté (peroxisome proliferator-activated receptor-γ agonists) [25].

Leptinové receptory jsou exprimované jak v CNS, tak i na periferii. Účinky leptinu v rámci udržování energetické homeostázy jsou směřované na regulaci příjmu i výdeje energie, které jsou zprostředkované hypotalamickou cestou (Ob-b receptory v mediobazálním hypothalamu). Leptin působí jednak prostřednictvím inhibice neuronů v nucleus arcuatus obsahujících neuropeptid Y, který je klíčový pro vyvolání chuti k jídlu, jednak prostřednictvím stimulace neuronů obsahujících melanocyty stimulující hormon-α, který je naopak důležitým mediátorem pocitu sytosti. Další účinky leptinu se týkají svalů, nebo taky β-buněk pankreatu v oblasti metabolizmu glukózy a lipidů [26].

I když je na leptin nahlíženo jako na antiobezitický hormon, jeho úlohou je spíše poskytovat metabolický signál o dostatku energie, než o jejím nadbytku [27]. To v praxi znamená, že i v případě, kdy dojde ke kalorické restrikci a snížení hmotnosti u jinak morbidně obézního jedince, dojde k významnému poklesu hla-

diny leptinu, na což organizmus reaguje jako na hladovění zvýšenou chutí k jídlu a sníženým výdejem energie. Tento sled reakcí lze experimentálně rychle upravit podáním již malé dávky leptinu. Na druhou stranu u obezity nacházíme zvýšené hodnoty cirkulujícího leptinu, proto jí nelze zvrátit podáváním exogenní molekuly. Tento jev souvisí se stavem tzv. leptinové rezistence, resp. desenzibilizace. Mechanizmus leptinové rezistence není zcela objasněný, ale pravděpodobně je způsoben defektem v leptinové signalizaci, resp. v jeho transportu přes hematoencefalickou bariéru [26, 28].

Každopádně nejcitlivější reakce organizmu na hladinu cirkulujícího leptinu lze zaznamenat v jejích fyziologických mezích, tedy mezi nízkými hodnotami navozenými kalorickou restrikcí a zvyšujícími se hodnotami při realimentaci, ale ne ve výrazně vysokých hodnotách, které nacházíme při obezitě. Funkce leptinu jako indikátoru energetického stavu organizmu má jednoznačně význam z perspektivy evoluce, ale již méně v dnešním prostředí potravinového nadbytku [9].

Vzhledem k tématu naší práce lze pouze okrajově zmínit neméně významné účinky leptinu, a to na hypotalamo-hypofýzo-adrenokortikální, tyroidální a gonadotropní osu, regulaci imunitních funkcí, hematopoezy, angiogenezy a kostní tvorby [25, 26, 29, 30, 31, 32, 33].

2.2.2 Adiponektin

Adiponektin je produkovaný pouze diferencovanými adipocyty a cirkuluje ve vysokých hladinách v krvi. Jeho exprese je vyšší v subkutánní, než ve viscerální tukové tkáni [7].

Je prokázaná silná negativní korelace mezi hladinou adiponektinu a inzulínovou rezistencí, resp. zánětlivým stavem organizmu. Hladina adiponektinu v krvi klesá u primátů dokonce ještě před nástupem obezity a inzulínové rezistence, což naznačuje, že hypoadiponektinemie může mít podíl na patogenezi těchto stavů [34, 35]. Při zlepšení inzulínové senzitivity, poklesu hmotnosti, nebo léčbě inzulínovými senzitizéry dochází naopak k vzestupu hladin tohoto hormonu [36, 37]. Bylo objeveno také několik polymorfizmů adiponektinového genu, které jsou asociované s obezitou a inzulínovou rezistencí, kdy nepříznivý metabolický profil jedince vzniká bez ohledu na hmotnost, nebo příjem potravy [38, 39].

Příznivé metabolické účinky adiponektinu se projevují ve vícerých tkáních. V játrech způsobuje adiponektin zlepšení inzulínové senzitivity, snižuje přísun VMK, zvyšuje beta-oxidaci VMK a snižuje výdej glukózy játry. V kosterních svalech stimuluje adiponektin metabolizmus glukózy i VMK. V cévách inhibuje adhezi monocytů k cévní stěně prostřednictvím poklesu exprese adhezivních molekul, inhibuje transformaci makrofágů na pěnové buňky inhibicí exprese scavengerových receptorů a redukuje růstovými faktory vyvolanou proliferaci migrujících hladkosvalových buněk. Adiponektin navíc stimuluje produkci oxidu dusnatého (NO) endotelem a angiogenezu [7, 36, 37].

Tyto účinky jsou zprostředkované zvýšenou fosforylací inzulínového receptoru, aktivací adenosinmonofosfát (AMP)-aktivované proteinkinázy a modulací NFκB. Souhrnně lze říct, že adiponektin je unikátním, adipocyty secernovaným hormonem s antidiabetickými, protizánětlivými a antiaterogenními účinky [36, 37].

2.2.3 Adipocytární mastné kyseliny vážící protein (adipocyte fatty acid binding protein, AFABP, FABP-4)

Cytoplazmatické mastné kyseliny vážící proteiny (FABP) jsou skupina proteinů, které hrají důležitou roli v membránovém transportu mastných kyselin v buňkách, modulaci nitrobuněčného metabolizmu lipidů, ale i dalších metabolických procesů a regulaci genové exprese [40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47]. Jsou exprimované v různých tkáních jako jsou střevo, srdeční sval, nebo játra [40, 41, 42].

Hlavným FABP produkovaným tukovou tkání je adipocytární FABP (AFABP, nebo FABP-4), který patří mezi nejzastoupenější proteiny ve zralých adipocytech [48]. Ve svém lokálním účinku se podílí na lipolýze a odlivu VMK z adipocytů [49, 50]. Zdrojem FABP-4 jsou v tukové tkáni i imunokompetentní buňky, zejména makrofágy ve fázi své diferenciace a aktivace. V těchto buňkách moduluje FABP-4 jejich reaktivitu v zánětlivých reakcích a akumulaci esterů cholesterolu [51].

FABP-4 ale nemá jenom lokální účinky — jelikož je uvolňován do cirkulace, připisují se mu i účinky systémové [52, 53, 54, 50]. Cirkulující hladiny FABP-4 odpovídají míře exprese jeho mRNA (mediátorové ribonukleové kyseliny) ve viscerální tukové tkáni [55]. Bylo prokázáno, že u pacientů s obezitou a/nebo metabolickým syndromem jsou koncentrace FABP-4 zvýšené [52, 53, 50, 55]. Hladiny cirkulujícího FABP-4 významně pozitivně korelují s BMI (body mass index), glykémií a hladinou glykovaného hemoglobinu a naopak negativně korelují s parametry inzulínové senzitivity [56, 55, 57]. Experimentální studie na zvířatech navíc prokázaly, že při odstranění nebo inaktivaci FABP-4 genu dochází k výraznému zlepšení inzulínové senzitivity a ústupu projevů aterosklerozy u myší [58, 59].

2.2.4 Látky secernované převážně nonadipocytárními buňkami tukové tkáně

Dle současných poznatků je obezita spojená s přítomností mírného zánětu v organizmu a centrální roli v tom sehrává tuková tkáň. Mechanizmem tohoto stavu je produkce prozánětlivých látek, a to ne jenom adipocyty, ale zejména buňkami neadipocytárními, které jsou v tukové tkáni přítomné [60]. Parakrinním účinkem těchto látek probíhá v tuku zánět, neoangiogeneze a diferenciace buněk. Po jejich vstupu do cirkulace vzniká prozánětlivý stav organizmu, který je dáván do souvislosti s rozvojem arteriální hypertenze a inzulínové rezistence.

Tuková tkáň nacházející se kolem orgánů jako ledviny, srdce nebo kolem cév může prostřednictvím sekrece cytokinů a chemokinů přímo ovlivňovat jejich funkce. Perivaskulární tuk lokalizovaný kolem velkých a středně velkých tepen přispívá přitahováním zánětlivých buněk a stimulací neoangiogeneze k vývoji chronického cévního zánětu, který je podkladem vzniku aterosklerotických plátů. To je pak rizikem vzniku řady kardiovaskulárních komplikací metabolického syndromu [61].

2.2.4.1 Rezistin

Rezistin je adipokin s endokrinními účinky produkovaný převážně viscerální tukovou tkání. Byl objeven v roce 2001 a jeho název je odvozen od pojmu „rezistence k inzulínu“ [60, 62, 63]. Myšlenka jeho vztahu k inzulínové rezistenci je podložená výsledky studií s několika modelovými systémy (lidským, potkaním a myším), kde byl prokázán vzestup hladin rezistinu při obezitě, zejména té viscerální [63, 64],

a přímý vliv na působení inzulínu [62, 65]. Kromě těchto pozorování je rezistin dáván do souvislosti s procesy zánětu a energetické homeostázy [66, 67].

Rezistin zvyšuje transkripci a expresi několika prozánětlivých cytokinů (interleukinů IL-1, IL-6, IL-12, TNF-α) [68, 69] a současně má stimulační vliv na tvorbu cytoadhezivních molekul cévní stěny, jako jsou intracelulární cytoadhezivní molekula-1 (ICAM1) a vaskulární buněčná adhezivní molekula-1 (VCAM1), které přitahují buňky imunitního systému do místa zánětu [70]. A obráceně i koncentrace samotného rezistinu jsou zvyšovány prostřednictvím jak interleukinů, tak mikrobiálními lipopolysacharidovými antigeny [71]. To vedlo k předpokladu, že rezistin by mohl být spojovacím článkem chronického zánětu a vzniku inzulínové rezistence. Nicméně vztah rezistinu k obezitě a DM 2. typu je v posledních letech zpochybňován výsledky některých studií, které prokázaly signifikantní pokles hladiny rezistinu při narůstající obezitě [72, 73, 74], nebo naopak jeho vzestup při redukci hmotnosti [68].

2.2.5 Fibroblastové růstové faktory (FGF) 19 a 21

Proteiny z rodiny dvaceti dvou fibroblastových růstových faktorů se podílejí na četných buněčných procesech, jakými jsou růst a vývoj buněk nebo angiogeneze [75, 76, 77]. Konkrétně FGF-19 a 21 hrají důležitou roli v regulaci metabolické homeostázy, a to nejen parakrinní, ale i endokrinní cestou [78, 79, 80, 81, 82].

FGF-21 je exprimován primárně ve zralých hepatocytech a pankreatických buňkách [83], v menší míře pak i v subkutánní a viscerální tukové tkáni [84, 85, 86]. V játrech se FGF-21 jeví jako klíčový hormon, který reguluje odpověď organizmu na lačnění prostřednictvím signalizace tukové tkáni a mozku [87, 88, 89]. Tomu odpovídá i experimentálně prokázaná silná závistlost míry jeho hepatální exprese na stavu nutrice u myší [80]. V pankreatických buňkách má FGF-21 velmi pravděpodobně přímý účinek na sekreci inzulínu a glukagonu a působí jako protektivní faktor proti gluko- a lipotoxicitě a buněčné apoptóze indukované cytokiny [81]. V tukové tkáni účinkuje FGF-21 jako významný stimulátor vychytávání glukózy a lipolýzy [80]. Potecující účinek na vychytávání glukózy z oběhu má FGF-21 dle recentních nálezů rovněž v kosterním svalstvu [90].

Hladiny FGF-21 jsou obecně ovlivňované stavem nutrice. Ve zvířecích studiích se zvyšují při hladovění a ketogenním stavu [87, 88, 91, 92] a naopak snižují po příjmu potravy [88]. U lidí byl prokázán nezávislý stimulační efekt metabolických signálů lačnění i signálů přijmu potravy na expresi FGF-21 genu [93]. Podávání FGF-21 dokonce způsobilo pokles hmotnosti u primátů, ale ne u myší [80, 94]. V experimentálních studiích byl prokázán i silný protizánětlivý, antidiabetický a hypolipidemický efekt podaného FGF-21 u hlodavců i primátů [80, 81, 94, 95].

FGF-19 je u lidí tvořený ve střevě a podílí se na regulaci syntézy žlučových kyselin v játrech a plnění žlučníku [96]. Hladiny cirkulujícího FGF-19 vykazují cirkadiánní rytmus, který je ovlivňovaný trans-intestinálním tokem žlučových kyselin a mizí při hladovění [97, 98]. V experimentálních studiích s transgenními myšmi s nadměrnou expresí FGF-19 byly prokázané četné metabolické účinky tohoto proteinu, jako urychlení metabolizmu, snížení objemu tukové tkáně i přes zvýšený příjem potravy, pokles hladiny lipidů v krvi a zvýšení inzulínové senzitivity [78, 79].

3. Vybrané endokrinopatie a inzulínová rezistence

3.1 Hyperkortizolizmus

Glukokortikoidy (GK) hrají jednu z klíčových rolí v regulaci metabolizmu, funkce a distribuce tukové tkáně. S tím souvisí také fakt, že u pacientů s Cushingovým syndromem (onemocnění charakterizované systémovým nadbytkem GK vznikající na podkladě adrenálních, pituitárních, méně často i jiných tumorů) nebo pacientů na glukokortikoidní terapii se rozvíjí poměrně výrazná inzulínová rezistence a viscerální obezita [99, 100].

3.1.1 Metabolické účinky glukokortikoidů

GK jsou hormony syntetizované v kůře nadledvin pod kontrolou hypotalamo-hypofýzo-adrenokortikální osy. U lidí je hlavním glukokortikoidem kortizol. Negativní vliv GK na parametry metabolického syndromu je dán jejich působením v rámci regulací metabolizmu lipidů a glukózy. Negativní vliv na kardiovaskulární systém je zprostředkovaný také přítomností gluko- a mineralokortikoidních receptorů v srdečním svalu, cévních stěnách, nebo přítomností glukokortikoidních receptorů (GKR) v zánětlivých buňkách invadujících endotel, např. makrofázích [100].

Ovlivnění sérových koncentrací lipidů je způsobeno několika mechanizmy: stimulací lipolýzy tukových zásob se zvýšenou dodávkou VMK do jater, stimulací aktivity klíčového enzymu syntézy cholesterolu (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reduktázy), nebo taky snížením hladin enzymu štěpícího lipidy v lipoproteinech (lipoproteinové lipázy), zejména chylomikrech a VLDL s následnou hypertriacylglycerolémií [101, 102, 103, 104].

Hyperglykemizující účinek GK je způsoben zvýšením nitrobuněčné koncentrace enzymů (stimulací jejich transkripce) a substrátů (aminokyselin z proteolýzy, glycerolu z lipolýzy) pro glukoneogenezu, což vede ke zvýšené produkci glukózy játry. V pankreatu vedou GK působením na β-buňky k inhibici inzulínové sekrece, na úrovni kosterních svalů a tukové tkáně zhoršují vychytávání glukózy z oběhu (inhibicí translokace glukózových transportérů) a její utilizaci [101, 102, 103, 104].

Hypertenzní účinek GK je daný jejich částečným mineralokortikoidním účinkem s retencí sodíku a chloridů, ale také přímým vlivem na tonus cév [100, 103, 104]. Za zmínku stojí i schopnost GK modifikovat zánětlivé, proliferativní a remodelační odpovědi cév na poškození [100].

Význam glukokortikoidů v patogenezi lidské obezity zůstává nejasný, jelikož u většiny obézních nejsou jejich cirkulující hladiny zvýšené [105], i když v rámci některých studií byla prokázaná korelace mezi hladinou glukokortikoidů v krvi a symptomy metabolického syndromu i v normálním rozmezí hodnot kortizolu [106]. Jedna z hypotéz je, že adipocyty intraabdominálního tuku obsahují větší počet GKR, proto jsou na účinky GK vysoce citlivé a dochází ke vzniku viscerální obezity [107]. GK totiž stimulují diferenciaci pre-adipocytů na adipocyty, což může vést k nárůstu objemu tukové tkáně [103].

Dalším pozorováním u viscerální obezity je hypersenzitivita, resp. hyperaktivita hypotalamo-hypofýzo-adrenokortikální osy, která se projevuje jako zvýšená frekvence, ale snížená amplituda pulsatilní sekrece ACTH (adenokortikotropního hormonu), zejména v ranních hodinách. Mechanizmus tohoto jevu není objasněn, i když dle některých dat se dává do souvislosti s centrální katecholaminergní a serotoninergní dysregulací [108].

3.1.2 Vztah hyperkortizolizmu k inzulínové rezistenci

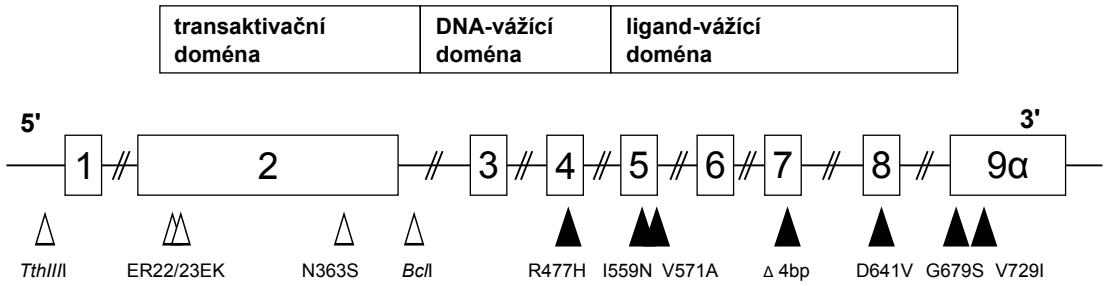
Patogenetický vztah kortizolu k inzulínové rezistenci je dán především přímými účinky jeho zvýšených tkáňových hladin [109]. Ty vznikají třemi základními mechanizmy: v důsledku zvýšené aktivace kortizolu z neaktivního kortizonu, prostřednictvím zvýšeného počtu, resp. hypersenzitivity GKR, či nedostatečných hladin kortizol-vážícího globulinu s excesivním množstvím volného kortizolu v buňkách.

V prvním případě se jedná o důsledek zvýšené exprese enzymu 11β-hydroxysteroiddehydrogenázy 1 (11β-HSD1) v tukových depech obézních jedinců. 11β-HSD1 působí in vivo jako reduktáza měnící inaktivní kortizon na aktivní kortizol a zároveň urychluje účinek kortizolu v tkáních. Důkaz o důležitosti tohoto enzymu v patogenezi metabolického syndromu dokazují i pokusy, ve kterých u 11β-HSD1 knockout myší nedošlo k vývoji viscerální obezity ani při krmení potravou s vysokým obsahem tuků. Naopak u myší se zvýšenou aktivitou enzymu na hladiny srovnatelné s hladinami u obézních lidí se rozvinula obezita s inzulínovou a leptinovou rezistencí, dyslipidémií a arteriální hypertenzí [103, 110, 111].

Význam zvýšeného počtu GKR ve viscerálním tuku byl popsán v předešlé podkapitole. Za zmínku stojí i polymorfizmy GKR, které mohou být odpovědné za zvýšenou, nebo i sníženou citlivost receptorů k působení GK. Polymorfizmy jsou definované jako běžné variace deoxyribonukleové kyseliny (DNA) vyskytující se v normální populaci s frekvencí vyšší než 1 %. Existují minimálně tři polymorfizmy GKR, které jsou spojované s alterovanou citlivostí GKR k působení GK a změnami v tělesném složení a metabolizmu. Polymorfizmus N363S a polymorfizmus, označovaný jako polymorfizmus délky BclI restriktivního fragmentu jsou spojené se zvýšenou citlivostí GKR k působení GK. Tento stav je asociován s větším objemem tukové tkáně, menším procentem aktivní tělesné hmoty, nepřiměřenou inzulínovou sekrecí a zvýšenými hladinami cholesterolu. Třetí polymorfizmus ER22/23EK, který vzniká v důsledku dvou propojených mutací nukleotidů v kodonech 22 a 23, je naopak asociovaný s relativní GK rezistencí. Ta je spojována s příznivějším tělesným složením a metabolickým profilem, s delším přežíváním a nižším rizikem rozvoje demence [112, 113, 114, 115, 116, 117, 118] (Obr. 3.1).

Neméně zajímavou tematikou je vztah kortikosteroidy vážícího proteinu (corticosteroid-binding globulin, CBG) a inzulínové rezistence. CBG je hlavním transportním proteinem kortizolu v lidském séru. CBG negativně koreluje s hladinami IL-6, TNF-α a C-reaktivního proteinu (CRP), s rizikovými parametry vzniku inzulínové rezistence jako zvýšeným BMI, WHR (waist-to-hip ratio, poměr obvodu pasu a boků), či HOMA indexem (homeostasis model assessment index) [103, 119, 120].

CBG je zároveň členem rodiny tzv. SERPIN (serine protease inhibitors) proteinů. Tyto proteiny vystupují jako substráty pro elastázu exprimovanou na po-



Obrázek 3.1: Polymorfizmy (bílé šipky) a mutace (černé šipky) genu glukokortikoidního receptoru (upraveno podle [112])

vrchu neutrofilů. Hladina a funkčnost cirkulujícího CBG závisí tedy i na míře štěpení jeho molekuly aktivovanými neutrofily — při štěpení dochází k odloučení právě té části proteinu, která váže kortizol. Leukocytóza a neutrofilie jsou přitom častým úkazem přítomným u obezity a inzulínové rezistence, čím lze vysvětlit negativní vztah těchto patologických stavů k množství CBG v krvi [103, 119].

Jelikož CBG je exprimován tukovou tkání, pokles jeho množství znamená lokálně zvýšenou dostupnost kortizolu (bez změn cirkulujícího kortizolu) s následnou zvýšenou kumulací tuku s příslušnými metabolickými důsledky. Existují i pohlavně dané rozdíly v množství CBG. Muži mají slabší korelaci CBG a zánětlivých parametrů, ale také nižší hladiny CBG. Estrogeny totiž stimulují tvorbu CBG, a to indukcí zvýšené genové transkripce, a změnou glykozylace molekuly CBG [103, 119].

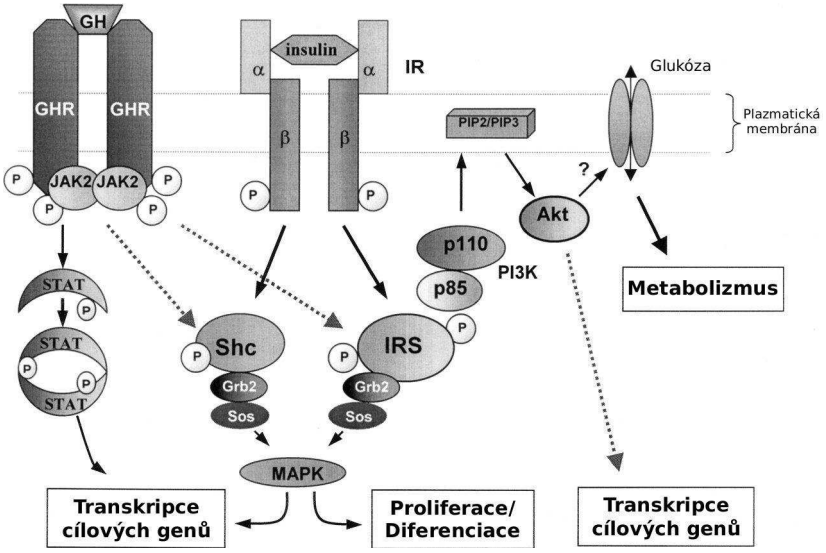
3.2 Akromegalie

Růstový hormon (growth hormone, GH) je peptidový hormon produkovaný a secernovaný hypofýzou pod kontrolou hypothalamických hormonů a periferních zpětnovazebných působků, především inzulínu podobného růstového faktoru-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1). IGF-1, secernovaný zejména v játrech, ale i v jiných tkáních pod vlivem GH, je zároveň zprostředkovatelem některých účinků GH v cílových tkáních.

3.2.1 Metabolické účinky růstového hormonu

Význam GH v regulaci objemu viscerálního tuku je zjevný z pozorování, že u pacientů s akromegalií (nadprodukcí GH převážně na podkladě tumoru hypofýzy v období po uzavření růstových štěrbin) dochází k redukci tukové tkáně v této oblasti. Naopak u dospělých jedinců s nedostatkem GH se vyvíjí stav podobný metabolickému syndromu spojený s hromaděním abdominálního tuku, inzulínovou rezistencí, hypertriacylglycerolémií a snížením HDL-cholesterolu [104]. Po substituci GH ve fyziologických dávkách dochází k úpravě stavu a snížení kardiovaskulárních rizik [121, 122, 123].

Mnoho účinků GH je tedy soustředěno na prevenci akumulace tuku a stimulaci lipidové mobilizace. To vyžaduje synergizmus se steroidními hormony — např. lipoproteinová lipáza je výrazně inhibovaná působením GH, ale pouze v přítomnosti testosteronu nebo kortizolu. Na druhou stranu GH potencuje katecholaminy-



Obrázek 3.2: Propojení inzulínové a GH signalizace (upraveno podle [128]) GHR = receptor pro GH, P = fosforylace, JAK2 = non-receptorová tyrozinkináza Janus2, STAT = transkripční faktory, Signal Transducers and Activators of Transcription, IR = inzulínový receptor, IRS = substrát inzulínového receptoru, Shc = SH2 (Src homology 2) doménu obsahující transformační protein 1, Grb2 = protein 2 navázaný na receptor růstového faktoru, Sos = son of seven-less homolog, výměnný faktor vážící se s Grb2, MAPK = Mitogen-aktivovaná protein kináza, PI3K = fosfatidylinositol-3-kináza a její regulační (p85) a katalytická (p110) podjednotka, PIP2 a PIP3 = fosfatidylinositol-3,4-bisfosfát a fosfatidylinositol-3,4,5-trifosfát, lipidové produkty PI3K, Akt (PKB) = protein kináza β.

indukovanou lipolýzu přes β-adrenergní receptory, jednak prostřednictvím zvýšení denzity těchto receptorů, jednak stimulací aktivity některých enzymů [124, 125].

Z hlediska souvislosti s inzulínovým metabolizmem lze konstatovat existenci akutních a chronických účinků GH na metabolizmus tuků a uhlovodanů. Akutní účinky jsou podobné účinkům inzulínu, tj. snížení glykémie, stimulace vychytávání glukózy kosterními svaly, nebo stimulace glukózového transportu a lipogenezy v izolovaných adipocytech. Fyziologický význam těchto účinků není dosud úplně objasněn a jsou pouze přechodné [126, 127]. Již po několika hodinách stoupá inzulín antagonizující efekt GH. Dochází ke zvýšení koncentrace glukózy v séru, k vzestupu inzulínové rezistence, ke stimulaci lipolýzy a inhibici glukózového transportu. Vznik inzulínové rezistence působením GH je opět dobře dokumentovatelný na pacientech s diagnózou akromegalie a je vyvolatelný také exogenní aplikací GH [128].

3.2.2 Růstový hormon a inzulínová rezistence

Dle recentních údajů je vliv GH na inzulínový metabolizmus daný jeho úzkou vazbou na postreceptorovou úroveň inzulínové signalizace (Obr. 3.2). GH působí na inzulínovou signalizační cestu jednak přímo interakcí s několika jejími součástmi a jednak omezením jejich funkce (např. fosfatidylinositol-3-kinázou, PI3K), která je nezbytná ke spuštění téměř všech inzulínem zprostředkovaných procesů včetně

stimulace glukózového transportu, aktivace glykogensyntázy a inhibice jaterní glukoneogenezy [129, 130]. GH působí ale i nepřímo stimulaci buněčných proteinů (konkr. SH2-doménu obsahujících supresorů cytokínové signalizace, SOCS), které inhibují signalizaci spouštěnou inzulínovým receptorem [128, 131, 132].

4. Mitochondrie a inzulínová rezistence

Recentním alternativním pohledem na etiologii inzulínové rezistence je, že se jedná o důsledek organelového stresu způsobeného nadměrným přísunem živin buňkám. Nejvíce jsou v této souvislosti diskutované kromě jádra a endoplazmatického retikula zejména mitochondrie [133, 134].

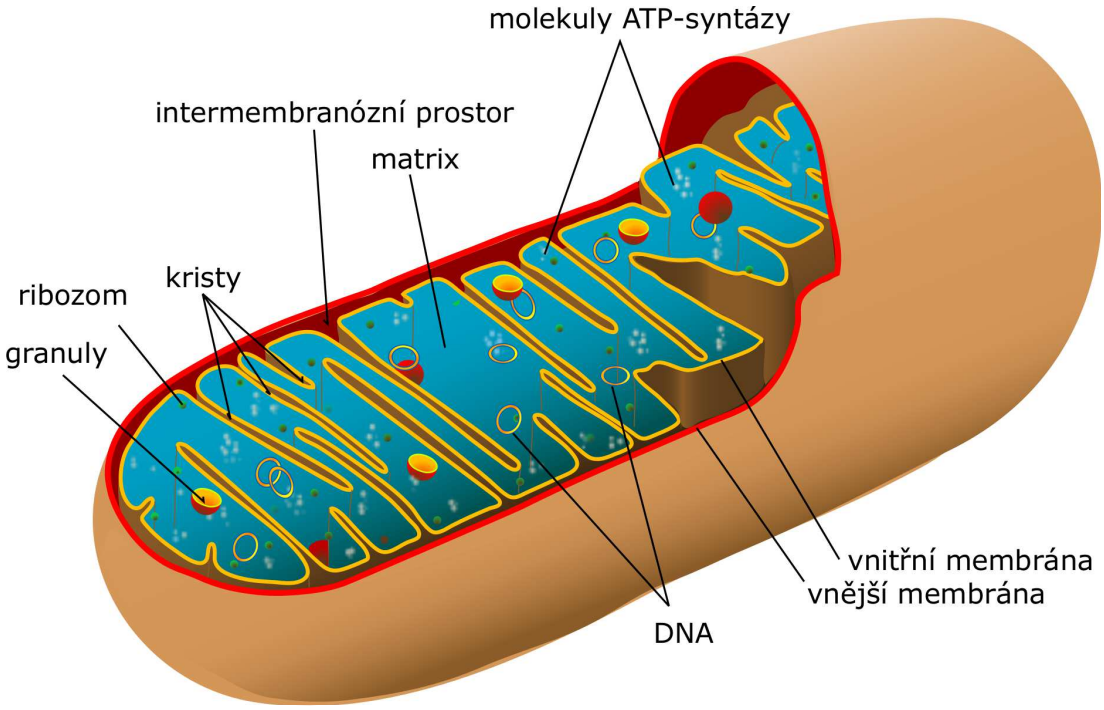
4.1 Mitochondrie — základní informace

Mitochondrie (z řeckého mitos — závit a khondrion — granule) je unikátní buněčná organela kulovitého nebo oválného tvaru lokalizovaná v cytosolu všech eukaryotických buněk, která obsahuje vlastní DNA (mtDNA). Množství mitochondrií v jednotlivých buňkách závisí na typu buňky a momentální potřebě energie, mění se od desítek až po tisíce. Při elektronoptickém vyšetření se mohou jevit jako samostatné organely o velikosti 0,5-4 um (v exokrinních buňkách pankreatu až 10 μm), ale ve skutečnosti tvoří v buňce mitochondriální síť.

Co do struktury jsou mitochondrie tvořené čtyřmi kompartmenty (Obr. 4.1). Vnější membrána obsahuje kromě několika enzymů zejména integrální proteiny, poriny, které tvoří kanály průchodné pro molekuly do velikosti 10 kDa, větší molekuly se dostávají do mitochondrie pomocí aktivního transportu. Vnitřní mitochondriální membrána je od té vnější oddělena intermembránovým prostorem. Je volně propustná pouze pro kyslík a kysličník uhličitý a její nepropustnost pro ionty se podílí na tvorbě protonového gradientu potřebného při syntéze ATP. Ve vnitřní mitochondriální membráně jsou zakotveny enzymové komplexy dýchacího řetězce a ATP-syntáza a její povrch je zvětšen hlubokými krystami. Uvnitř vnitřní membrány se nachází mitochondriální matrix. Ta vedle mtDNA obsahuje koncentrovanou směs stovky enzymů, které zasahují do metabolismu aminokyselin, organických kyselin, mastných kyselin, porfyrinů, purinů a pyrimidinů a tvorby ATP. 37 genů mtDNA kóduje kromě jiného 13 podjednotek komplexů dýchacího řetězce a podjednotky ATP-syntázy, které jsou syntetizovány na mitochondriálních ribozomech a následně inkorporované do vnitřní membrány, kde spolu s nukleárně kódovanými podjednotkami vytváří funkční enzymové komplexy [8].

4.2 Mitochondriální metabolizmus

Jak bylo uvedeno, v mitochondriích probíhá celá řada metabolických procesů, nejdůležitější v kontextu inzulínové rezistence jsou samotný dýchací řetězec, oxidativní fosforylace, oxidativní dekarboxylace pyruvátu a beta-oxidace mastných kyselin.



Obrázek 4.1: Struktura mitochondrie (upraveno podle [135])

4.2.1 Respirační řetězec a glukózová homeostáza

Proces buněčného dýchání je lokalizovaný na vnitřní membráně mitochondrie. Dochází při něm k přenosu elektronu z produktů vznikajících v průběhu oxidace glukózy a VMK na molekuly kyslíku přes membránové komplexy I-IV dýchacího řetězce. Zároveň se při tom tvoří protony, které se dostávají z mitochondriální matrix do intermembránového prostoru a způsobují tak vznik značného elektrochemického potenciálu na vnitřní membráně. V případě potřeby se vzniklý protonový gradient může využít pro tvorbu ATP pomocí enzymu ATP-syntázy. Adenin nukleotidový translokátor (ANT) pak vylučuje ATP z mitochondrie výměnou za cytoplazmatický ADP [136].

Důležitost správně fungujícího respiračního řetězce s dostatečnou tvorbou ATP ve vztahu k inzulínovému metabolizmu vyplývá hned z několika skutečností. ATP je klíčovým prvkem spojujícím zpracování glukózy mitochondrií se sekrecí inzulínu v β-buňkách, jelikož dodává potřebnou energii pro exocytózu inzulínu, znovunaplnění granulí inzulínem, jakož i ustálení nového rovnovážného stavu iontových gradientů [8]. ATP je nepostradatelný pro draslíkové ATP řízené kanály (KATP), jejichž uzavřením dochází k depolarizaci membrány, což způsobuje otevření napěťově řízených vápníkových kanálů. Zvýšení hladiny cytoplazmatického i mitochondriálního kalcia spouští exocytózu inzulínu z granulí [8, 137].

I když je proces buněčné respirace vysoce efektivní a většina elektronů doputuje bezpečně až k molekule kyslíku za vzniku vody, malé procento elektronů může v jistých místech řetězce (zejména prostřednictvím komplexů I a III) předčasně přímo zredukovat molekulu kyslíku a dát tak vznik toxickému volnému superoxidovému a jiným kyslíkovým radikálům (ROS — reactive oxygen species). ROS se kontinuálně vytvářejí i ve zdravé mitochondrii, ale v množství, které organela dokáže detoxikovat, a to pomocí enzymu superoxiddismutázy, která mění super-

oxidový radikál na peroxid vodíku a pomocí glutathionperoxidázy, která peroxid vodíku následně detoxikuje na vodu. Naproti tomu defektní mitochondrie produkuje velké množství ROS, které mohou následně poškozovat nejen samotnou mitochondrii, ale i jiné buněčné komponenty [136, 138, 139].

MtDNA je extrémně citlivá k poškození ROS jak pro těsnou blízkost k hlavnímu zdroji ROS — vnitřní membráně, tak i pro nedostatečně vyvinuté protektivní a reparační mechanizmy [138]. Ve snaze zbavovat se neopravitelných, těžce poškozených částí mtDNA, zahajuje mitochondrie nukleázou zprostředkovanou degradaci molekul mtDNA. To vede ke snížení syntézy mtDNA kódovaných podjednotek respiračního řetězce s následnými metabolickými dopady z jeho narušeného průběhu. Zároveň se hromadí mutace mtDNA s možným rozvojem tzv. mitochondriálního diabetes mellitus [136]. Příkladem je mutace A3243G, u které v důsledku dysfunkce energetického metabolizmu mitochondrie dochází k poklesu cytosolového poměru ATP/ADP a tak k poruše otevírání KATP kanálů a sekrece inzulínu [8, 140, 141].

ROS zároveň způsobují hyperpolarizaci vnitřní membrány, což má také negativní dopad na proces buněčné respirace a napomáhá uzavření škodlivého circulus vitiosus stimulací další tvorby ROS [20, 133, 139].

4.2.2 Metabolizmus VMK a glukózová homeostáza

VMK jsou zprostředkovateli zapojení TGL do metabolizmu, jelikož jenom ony jsou po svém odštěpení z mateřské molekuly TGL schopné vstupu do mitochondrií [142]. VMK se středně dlouhým a krátkým řetězcem pronikají do mitochondrie zcela volně, naproti tomu pro vstup VMK s dlouhým řetězcem je nezbytná přítomnost speciálního enzymu vnější mitochondriální membrány [136].

Beta-oxidace VMK je komplexní, samotnou mitochondrií řízený cyklický proces, ve kterém jsou z VMK odebírány dva atomy uhlíku, ty dávají po zapojení do Krebsova cyklu v podobě acetyl-CoA vznik ATP, CO_2 (oxidu uhličitého) a vodě [142].

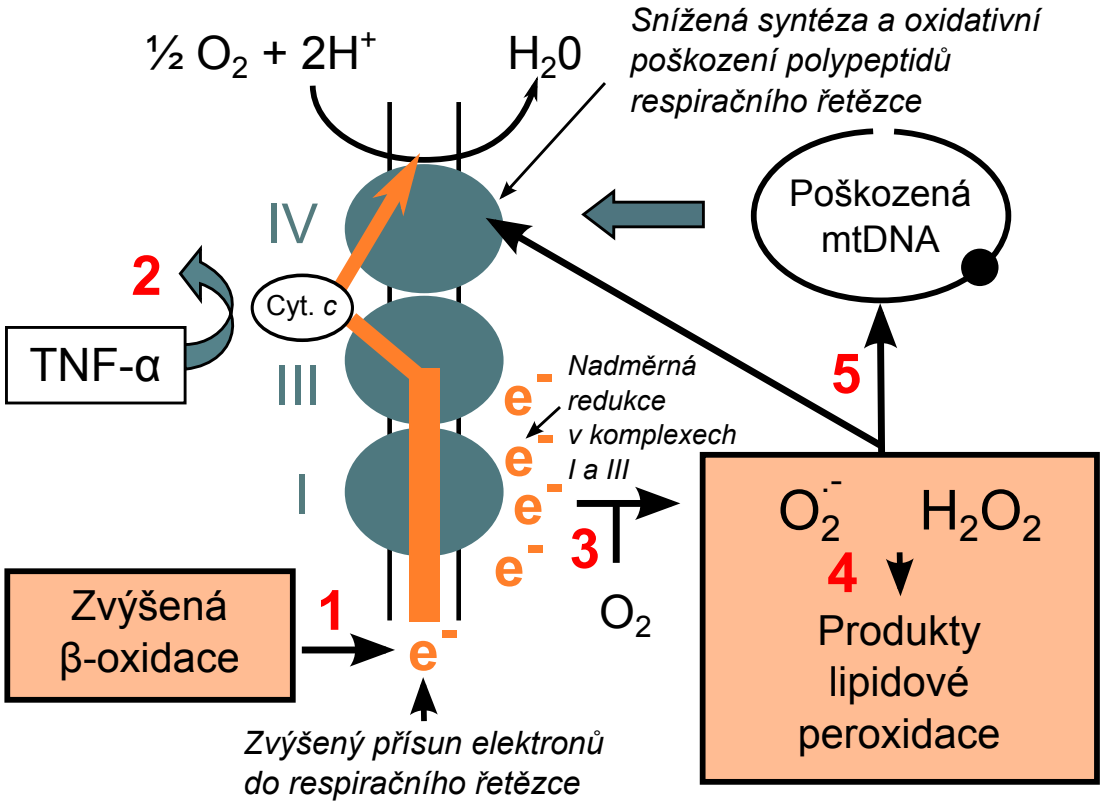
Tukový a glukózový metabolizmus je v mitochondriích úzce propojený. Glukóza je do cytosolu buněk transportována tkáňově specifickými transportéry a fosforylovaná tkáňově specifickými enzymy, glukokinázami, na glukóza-6-fosfát. Ten dává sledem reakcí vznik dvěma molekulám pyruvátu, které jsou po svém transportu do matrix mitochondrie štěpeny tzv. mitochondriálním pyruvátdehydrogenázovým komplexem (PDC) na acetyl-CoA. Takto vzniklý acetyl-CoA vstupuje do Krebsova cyklu, jehož jedním z produktů je citrát. Citrát podporuje vznik substrátu pro syntézu VMK, malonyl-CoA. Malonyl-CoA je tzv. „signálem nadbytku“ a jelikož za normálních okolností nedochází najednou k syntéze i oxidaci VMK, působí jako fyziologický inhibitor vstupu a beta-oxidace VMK s jejich následným hromaděním v cytoplazmě buňky [143].

Důležitými v daných souvislostech jsou jak enzym podílející se na tvorbě citrátu, citrátsyntáza, tak i zmiňovaný PDC, zajišťující oxidativní dekarboxylaci pyruvátu. Oba enzymy jsou významnými inhibitory beta-oxidace VMK, a to mechanizmem nepřímé stimulace tvorby malonyl-CoA a inhibicí vstupu VMK do buňky. Jejich adekvátní regulace je tedy důležitá jak pro homeostázu glukózy, tak i pro dostatečný odsun VMK z buněk [143].

V souvislosti s inzulínovou rezistencí je rozhodující efektivně probíhající mito-

chondriální beta-oxidace VMK a zamezení nadměrné ektopické akumulaci TGL zejména v jaterní, svalové a pankreatické tkáni [8]. K této ektopické akumulaci dochází po přesycení skladovací kapacity adipocytů. Ektopicky uložené lipidy pak nejen vstupují do metabolických pochodů způsobujících inzulínovou rezistenci, ale ohrožují i přímo existenci buněk a funkčnost celých orgánů [144, 145, 146].

Produkty metabolizmu VMK při jejich nadbytku vstupují do non-oxidativních procesů, např. produkce ceramidů, zvyšují tvorbu oxidů dusíku a navozují apoptózu buněk a následné poškození celého orgánu (inzulínová rezistence a DM 2. typu, jaterní steatóza, či srdeční selhání) [147, 148]. Některé produkty lipidové peroxidace mohou zvýšit propustnost vnější membrány, což zablokuje normální tok elektronů v respiračním řetězci a potencuje tvorbu dalších ROS. Ty mohou otevřít pór vnitřní membrány s následnou expanzí matrix a rupturou vnější membrány. Po ruptuře dochází k uvolnění pro-apoptotických faktorů z mitochondrie, které v cytosolu aktivují specifické enzymy, kaspázy, spouštějící apoptózu buněk. Ale i bez ruptury membrány může dojít ke smrti buněk, a to v případě, kdy porucha permeability membrány způsobí defekt syntézy ATP ve většině mitochondrií a těžký energetický deficit vede k selhání plazmatické membrány s následnou nekrózou buňky [136, 149, 150]. Stárnutím se přitom senzitivita k lipotoxickému efektu TGL zvyšuje.



Obrázek 4.2: Schéma škodlivosti zvýšené betaoxidace v hepatocytech diabetických pacientů (upraveno podle [136]). V zdravých játrech putují elektrony, které vstoupily do respiračního řetězce, podél celého řetězce až po komplex IV (cytochrom c oxidázu), kde se spojují s kyslíkem a protony, aby dali vznik vodě. *1.* V steatotických játrech pacientů s inzulínovou rezistencí dochází za zvýšené β-oxidace volných mastných kyselin k zvýšenému přísunu elektronů do respiračního řetězce. *2.* Adipocyty obézních lidí uvolňují velké množství TNF-α, které působí na své receptory v játrech, kde zvyšuje permeabilitu mitochondriálních membrán s částečným uvolněním cytochromu c z intermembranózního prostoru mitochondrie. *3.* Nerovnováha mezi vysokým příjmem a omezeným tokem elektronů v respiračním řetězci způsobuje nadměrnou redukci komplexů I a III. Ty reagují s kyslíkem za vzniku superoxidového radikálu, který je detoxikovaný mitochondriální superoxiddizmutázou na peroxid vodíku. *4.* ROS oxidují nenasycené lipidy v tukových depozitech a tak spouštějí lipidovou peroxidaci. *5.* ROS a reaktivní produkty lipidové peroxidace přímo poškozují polypeptidy respiračního řetězce a též mtDNA s následným poklesem syntézy těchto polypeptidů. To ještě více zhoršuje plynulost toku elektronů v dýchacím řetězci a potencuje tvorbu dalších ROS. Tím se uzavírá circulus vitiosus.

5. Cíle a hypotézy dizertační práce

Tato dizertační práce je zaměřena na detailnější poznání patogeneze inzulínové rezistence, na charakterizaci úlohy tukové tkáně a její endokrinní aktivity a mitochondriální dysfunkce v patogenezi inzulínové rezistence u zkoumaných skupin pacientů, tj. pacientů s Cushingovým syndromem, resp. nemocí, pacientů s akromegalií a u pacientů s prostou obezitou.

Cílem první části práce bylo zjistit společné a odlišné etiopatogenetické znaky inzulínové rezistence a charakterizovat úlohu tukové tkáně a jejích produktů v patogenezi inzulínové rezistence u jednotlivých zkoumaných skupin pacientů. Testovali jsme hypotézu, že zatímco u inzulínové rezistence spojené s obezitou je endokrinní dysfunkce tukové tkáně významným etiopatogenetickým faktorem, tato úloha je méně významná u pacientů s hyperkortizolizmem a není přítomna u pacientů s akromegalií.

Cílem druhé části práce bylo zjistit, zda a jak se u jednotlivých onemocnění na etiopatogenezi inzulínové rezistence podílí mitochondriální dysfunkce. Vycházeli jsme z hypotézy, že mitochondriální dysfunkce se vyskytuje u pacientů s obezitou a hyperkortizolizmem, avšak není přítomná u pacientů s akromegalií.

Dalším cílem bylo vytipovat faktory vedoucí ke zvýšené morbiditě a mortalitě u jednotlivých skupin pacientů. Potenciálně pak navrhnout možné intervence ovlivnitelných faktorů, které by vedly k návrhu léčebných postupů zlepšujících prognózu pacientů.

6. Metodika práce

Studie byla prováděna ve spolupráci 3. interní kliniky, Kliniky tělovýchovného lékařství a Laboratoře pro studium mitochondriálních poruch Kliniky dětského a dorostového lékařství 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy (1. LF UK) a Všeobecné fakultní nemocnice (VFN) v Praze. Studie byla schválena Etickou komisí 1. LF UK a VFN. Každý pacient zařazený do studie podepsal informovaný souhlas, byla od něho odebrána anamnéza a provedeno fyzikální a laboratorní vyšetření. Studie byly prováděny v souladu s Helsinskou deklarací.

6.1 Soubor pacientů

V rámci naší studie bylo vyšetřeno: 27 pacientů s aktivním hyperkortizolizmem (20 žen, 7 mužů, průměrný věk 44,9 ± 14,97 let, BMI 32,5 ± 5,31 kg/m^2), 20 pacientů s aktivní akromegalií (8 žen a 12 mužů, průměrný věk 55,3 ± 12,81 let, BMI 33,3 ± 7,84 kg/m^2), 33 pacientů s prostou obezitou (25 žen, 8 mužů, průměrný věk 54,3 ± 14,16, BMI 46,9 ± 10,35 kg/m^2) a 58 zdravých kontrol (44 žen, 14 mužů, průměrný věk 43,6 ± 12,5, BMI 23,1 ± 1,92 kg/m^2).

Ze studie byli vyřazeni pacienti s diagnostikovaným maligním onemocněním, pacienti se závažnou komorbiditou (především kardiovaskulární) a s medikací se známou interferencí se stanovovanými parametry.

Pacienti s Cushingovým syndromem (CS) byli charakterizováni klinickým obrazem, setřelou cirkadiánní variabilitou kortizolémie (noční kortizol >150 nmol/l), nepřítomností suprese kortizolémie po 1 mg dexametazonu (kortizol >86 nmol/l) a zvýšeným vylučováním volného močového kortizolu (volný močový kortizol >500 nmol/den). Všichni pacienti jevili podle naměřených obvodů pasu známky abdominální obezity (>80 cm u žen a >94 cm u mužů). U všech 27 pacientů byla diagnostikována arteriální hypertenze, 24 z nich bylo léčeno medikamentózně, 20 pacientů kombinací antihypertenziv (ACE inhibitory v 17 případech, sartany v 7 případech, kalciovými blokátory ve 12 případech, betablokátory ve 12 případech, diuretiky v 14 případech, blokátory imidazolinových receptorů ve 3 případech a alfa blokátorem u 1 pacienta). U 23 z 27 pacientů byly přítomné patologické odchylky v lipidovém spektru (18 pacientů zvýšený celkový cholesterol, 17 pacientů LDL cholesterol, 10 pacientů snížený HDL cholesterol a 14 pacientů elevované TGL). Při vstupu do studie byli léčeni pouze 3 pacienti, 2 kombinací statinu a fibrátu, 1 pacient monoterapií statinem. U 15 subjektů byl diagnostikován DM 2. typu, u 2 porušená glukózová tolerance. Z této podskupiny bylo 5 pacientů léčeno perorálními antidiabetiky (PAD; metforminem v monoterapii ve 3 případech, gliklazidem v monoterapii ve 2 případech), 1 pacient byl léčen kombinací krátkodobého a dlouhodobého inzulínového analoga a metforminu a 1 pacient krátkodobým inzulínem v monoterapii. U žádného z pacientů zatím nebyly přítomny známky renálních nebo vaskulárních komplikací.

Pacienti s akromegalií (A) byli charakterizováni klinickým obrazem, nepřítomností suprese GH v orálním glukózovém tolerančním testu (oGTT) (GH>1 ng/ml) a elevací koncentrací IGF-1 nad horní hranicí normy pro daný věk a pohlaví. Všichni pacienti s výjimkou 1 ženy a 2 mužů jevili dle hodnot obvodu pasu známky nadměrné abdominální akumulace tuku. U 19 z 20 pacientů byla dia-

gnostikována arteriální hypertenze, 12 pacientů z nich bylo léčeno, 7 pacientů kombinací antihypertenziv (ACE inhibitory v 6 případech, sartanem v 1 případě, kalciovým blokátorem v 4 případech, betablokátorem v 9 případech a diuretikem v 5 případech). U 17 z 20 pacientů byly přítomné laboratorní známky dyslipidémie (zvýšený celkový cholesterol u 8 pacientů, LDL cholesterol u 9 pacientů, snížený HDL cholesterol u 10 pacientů a zvýšené hladiny TGL u 6 pacientů). V době vyšetření byli léčeni 2 pacienti statinem a 1 fibrátem, v obou případech v monoterapii. U 5 pacientů byl zjištěn DM 2. typu, u 7 porušená glukózová tolerance a u 3 subjektů zvýšená hladina glykémie nalačno. Ve 2 případech již byla zahájena monoterapie metforminem, v 1 případě v kombinaci s premixovaným (krátce a středně působícím) inzulínovým analogem a 1 pacient byl léčen kombinací krátkodobě a dlouhodobě působícího inzulínu. U žádného z pacientů zatím nebyly přítomny známky renálních nebo vaskulárních komplikací.

Pacienti s obezitou (OB) byli charakterizováni BMI nad 30 kg/m^2. U 30 z 33 pacientů byla přítomna arteriální hypertenze, všichni byli léčeni, s výjimkou 5 subjektů již kombinací antihypertenziv (ACE inhibitory v 16 případech, sartany v 9 případech, kalciovými blokátory v 9 případech, betablokátory v 16 případech, diuretiky ve 24 případech, blokátory imidazolinových receptorů v 6 případech a agonistou centrálních presynaptických α2-receptorů, dopegytem, v 1 případě). U 27 z 33 pacientů byly přítomné patologické odchylky v lipidovém spektru (elevovaný celkový cholesterol u 10 subjektů, LDL cholesterol u 11 subjektů, snížený HDL cholesterol u 23 pacientů a elevované TGL u 8 subjektů). U 14 z těchto 27 pacientů byla již zavedena hypolipidemická medikace, monoterapie fibrátem u 3 pacientů, statinem u 10 pacientů, 1 pacient byl léčen kombinací fibrátu, statinu a omega-3-nenasycených mastných kyselin. U 15 z 33 subjektů byl diagnostikován DM 2. typu, u 9 pacientů porušená glukózová tolerance a u 2 subjektů zvýšená hladina glykémie nalačno. Všichni pacienti s DM a 1 pacient s poruchou glukózové tolerance byli medikamentózně léčeni. U 14 z těchto 16 pacientů byl podáván metformin, v 5 případech v monoterapii, v ostatních případech v kombinaci s dalšími PAD (gliklazidem u 3 pacientů a rosiglitazonem u 2 pacientů), resp. inzulínem. V rámci inzulinoterapie užívali 3 pacienti rychle působící inzulíny, 4 pacienti rychle působící inzulínová analoga, 3 pacienti dlouho působící inzulíny a 3 pacienti inzulínová analoga, 2 pacienti byli léčeni premixovanými inzulíny. U jednoho diabetického pacienta byly rozvinuté známky renální insuficience, 2 pacienti měli anamnézu ischemické cévní mozkové příhody.

Kontrolní subjekty (C) neměli anamnézu obezity ani podvýživy, arteriální hypertenze, poruch metabolizmu glukózy ani lipidů, maligních tumorů ani jiných závažných komorbidit. Neužívali pravidelně žádnou medikaci. Provedená vyšetření neprokázala přítomnost patologických odchylek v krevním obrazu, biochemických ani hormonálních parametrech.

6.2 Antropometrická vyšetření

Všichni účastnící studie byli vyšetřeni ráno v bazálním stavu, po celonočním lačnění. Všichni byli zváženi a změřeni.

Procento abdominálného tuku bylo měřeno denzitometricky použitím DEXA (Dual-Energy X-Ray Absorptiometry, Hologic Discovery, USA). Procento celkového tělesného tuku bylo stanoveno pomocí bioimpedance (multifrekvenčním bo-

dystatem QuadScan 4000, Douglas, Britské ostrovy) použitím proudových frekvencí 5, 50, 100 a 200 kHz. Klidový výdej energie (resting energy expenditure, REE) a respirační kvocient (respiratory quotient, RQ) byly stanoveny nepřímou kalorimetrií (přístrojem V Max Encore 29N, Viasys, Pennsylvania, USA). Výdej energie na základě změřené spotřeby kyslíku a produkce kysličníku uhličitého byl spočítán pomocí Weirova vzorce [151].

Biopsie podkožní tukové tkáně z oblasti břicha byla prováděna v lokální anestezii Mesocainem jehlou Braunule MT 4/G12. V každém vzorku bylo odebráno přibližně 100 mg tkáně a uloženo v 1 ml stabilizačního média RNA lateru (RNAlater, Qiagen, Německo) a zmrazeno v $-80\,^{\circ}\mathrm{C}$ do doby další analýzy.

6.3 Hormonální a biochemická vyšetření

Krevní vzorky pro hormonální a biochemická vyšetření byly odebírány ráno mezi sedmou a osmou hodinou po 12-hodinovém lačnění pacientů. Plazma, resp. sérum bylo získáno centrifugací při pokojové teplotě, část byla zpracována hned, část uschována při teplotě $-80\,^{\circ}\mathrm{C}$ až do definitivního zpracování.

Sérové koncentrace FABP-4 byly měřeny komerčními ELISA kity (BioVendor, Brno, ČR) se senzitivitou 0,1 ng/ml a intra- a interkitovou variabilitou $< 5{,}0$, resp. 10,0 %.

Plazmatické koncentrace FGF-21 a FGF-19 byly rovněž měřeny komerčním ELISA kitem (BioVendor, Brno, ČR). Vzorky FGF-21 byly naředěny dilučním pufrem 1:1, resp. 2:1, vzorky FGF-19 v poměru 1:1. Senzitivita kitu pro stanovení FGF-21 byla 7,0 pg/ml, intra- a interkitová variablita 5,0, resp. 9,0 %. Senzitivita kitu pro stanovení FGF-19 byla 4,8 pg/ml, intra- a interkitová variabilita 7,0, resp. 8,5 %.

Sérové hladiny adiponektinu byly měřeny komerčním RIA kitem (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA) se senzitivitou 0,78 ng/ml a intra- a interkitovou variabilitou 3,4, resp. 5,7 %. Sérové koncentrace leptinu a rezistinu byly stanoveny komerčními ELISA kity (BioVendor, Brno, ČR). Senzitivita kitu pro stanovení hladin leptinu byla 0,17 ng/ml s intra- a interkitovou variabilitou 1,7, resp. 8,0 %. Senzitivita kitu pro stanovení hladin rezistinu byla 0,033 ng/ml s intra- a interkitovou variabilitou 3,1, resp. 6,5 %. Pro stanovení vysoce senzitivního CRP byl použit Ultra-Sensitive CRP ELISA kit (Bender Medsystems, Vídeň, Rakousko) se sensitivitou 3 pg/ml. Intra- a interkitová variabilita byla menší než 5 %, resp. 10 %.

Plazmatické hladiny kortizolu byly měřeny komerčním RIA kitem (Immunotech a.s., Praha, ČR). Senzitivita kitu byla 10 nmol/l, intra- a interkitová variabilita 5,8, resp. 9,2 %. Sérové koncetrace IGF-1 byly měřeny komerčními IRMA kity (Immunotech a.s., Praha, ČR) se sensitivitou 2 ng/ml a intra- a interkitovou variabilitou 6,3, resp. 6,8 %. Tyreoidální stimulační hormon (TSH), volný tyroxin (fT4), volný trijodtyronin (fT3) byly měřeny chemiluminiscenčním kitem (chemiluminiscence imunoassay, CLIA) na ADVIA: Centaur analyzátoru (Siemens, Healthcare Diagnostics Inc, Tarrytown, NY, USA). Sensitivita pro TSH byla 0,004 mIU/L a pro fT4 0,1 ng/dl. Reprodukovatelnost TSH byla 5-7 % a fT4 4-9 %.

Sérové hladiny biochemických parametrů (glukózy, celkového a HDL cholesterolu, triacylglycerolů, urey, kreatininu, celkové bílkoviny a albuminu) byly mě-

řeny standardními laboratorními metodami na Modular SWA analyzer (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Německo), hodnota LDL cholesterolu byla vypočítána (podle Friedewalda: $LDL = celk.chol. - HDL - TG/2.17\ mmol/l$), koncentrace prealbuminu byla stanovena imunoturbidimetricky. Sérové koncentrace inzulínu byly měřeny komerčními RIA kity (Cis Bio International, Gif-sur-Yvette, Francie) se senzitivitou 2,0 μIU/ml a intra- a interkitovou variabilitou 4,2, resp. 8,8 %. Glykovaný hemoglobin byl stanoven chromatograficky (high performance liquid chromatography, HPLC) na Variant II BioRad analyzátoru (s referenčními hodnotami 2.8-4 %). U rizikových skupin pacientů z hlediska poruch glukózového metabolizmu (obézních, pacientů s hyperkortizolizmem a akromegaliků) byl prováděn oGTT.

6.4 Mitochondriální funkce

Na stanovení aktivity mitochondriálních enzymů a komplexů dýchacího řetězce byly použity trombocyty a lymfocyty periferní krve. Sledovanými parametry byly: aktivita komplexu I dýchacího řetězce (NQR, NADH-koenzym Q_{10} reduktáza), komplexu II dýchacího řetězce (SQR, sukcinát-koenzym Q_{10} reduktáza), komplexů I-III dýchacího řetězce (NCCR, NADH-cytochrom c reduktáza), komplexu IV dýchacího řetězce, neboli cytochrom c oxidázy (COX), pyruvátdehydrogenázového komplexu (PDC), a citrátsyntázy (CiS) jako kontrolního enzymu. Stanovení aktivity CiS se v praxi mimo jiné používá na určení kvantity intaktních mitochondrií. Dále jsme hodnotili poměry aktivit jednotlivých enzymů a komplexů k aktivitě CiS, což vyjádřuje absolutní množství daných enzymů/komplexů v mitochondrii. Tímto výpočtem jsme eliminovali efekt změn počtu mitochondrií v buňkách pacientů [152].

Plazma obohacená o trombocyty byla izolována z 9 ml nesrážlivé krve (citrát sodný) centrifugací 20 min. při 130 g a teplotě 25 °C. Trombocyty byly purifikovány postupem využívajícím centrifugaci dle Foxe [153] bez přídavku prostacyklinu. Pro měření aktivity komplexu I, II a I-III byly používány výhradně nezamražené preparáty trombocytů, pro aktivitu COX a CiS byly použity aliquoty zamražené při −80 °C. Stanovení aktivit komplexů I, II, I-III dýchacího řetězce, COX a CiS bylo provedeno spektrofotometricky modifikovanými postupy dle Bohma [154] a dle Srera [155].

Všechna spektrofotometrická měření byla provedena v 1ml kyvetách při 37 °C za použití spektrofotometru Shimadzu UV-160 s dvojitým paprskem. Koncentrace proteinu ve vzorcích izolovaných trombocytů byla stanovena metodou podle Lowryho [156]. Pro každý enzymový kit bylo použito 100 μg deštičkového proteinu. Výsledné hodnoty reprezentují vždy průměr hodnot ze dvou kitů pro každý zkoumaný vzorek.

Lymfocyty byly izolovány ze 7 ml nesrážlivé krve (EDTA) na Ficolovém gradientu centrifugací 15 min. při 800 g a teplotě 23 °C ve zkumavkách lymphopack (Sigma). Izolované lymfocyty byly rozsuspendovány ve fosfátem pufrovaném fyziologickém roztoku (Phosphate Buffered Saline, PBS). Pro měření aktivit komplexů byly použity aliquoty zamražené při −80 °C.

Celková aktivita PDC byla stanovena jako produkce $^{14}CO_2$ při oxidační dekarboxylaci [$^{1-14}$C]pyruvátu modifikovaným postupem dle Constantin-Teodosia [157].

6.5 Molekulárně biologická vyšetření

6.5.1 Metodika

Celková RNA byla izolována z homogenizované tukové tkáně získané z podkožní tukové biopsie z abdominální oblasti vyšetřovaných subjektů (homogenizátor MagNA Lyser, Roche Diagnostics, Mannheim SRN).

Koncentrace a čistota vzorků RNA byla stanovena spektrofotometricky prostřednictvím absorbance 260 a 280 nm (BioPhotometr Eppendorf AG, Hamburg, SRN). Všechny vzorky měly čistotu 1,9. Celistvost RNA byla kontrolována vizualizací 18S a 28S RNA na 1 % agarozóvém gelu s ethidium bromidem.

K přípravě komplementární cDNA byl použit komerční kit High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA). Reakce byla provedena podle doporučení výrobce. Množství celkové RNA pro syntézu cDNA bylo pro tukovou tkáň 200 ng. Připravená cDNA byla skladována při $-20\,^{\circ}\mathrm{C}$ do doby další analýzy.

Kvantifikace genové exprese vybraných mitochondriálních enzymů byla provedena metodou real-time PCR (polymerázová řetězová reakce) na přístroji ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA) s použitím TaqMan®Universal PCR Master Mix, NO AmpErase®UNG a specifických TaqMan Gene Expression kitů (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA). Celkový objem reakční směsi byl 25 μl. Podmínky reakce byly následující: po iniciační denaturaci při $95\,^{\circ}\mathrm{C}$ následovalo 40 cyklů během 10 minut, kde žíhání primerů probíhalo při $60\,^{\circ}\mathrm{C}$ 1 minutu a hydrolýza při $95\,^{\circ}\mathrm{C}$ 15 sekund. Geny byly amplifikovány odděleně. Všechny vzorky byly stanoveny minimálně dvakrát. Kontrola bez cDNA templátu byla zařazena ke každému měření. Pro účely kompenzace odchylek v izolaci a množství RNA, resp. účinnosti reverzní transkripce byl použit referenční gen (β-2-mikroglobulin). Relativní množství mRNA exprese bylo počítáno s použitím modifikované rovnice $2^{(CTref.gen-CTtest.gen)}$.

6.5.2 Přehled vyšetřovaných genů mitochondriálních komponent

DLAT (dihydrolipoamide S-acetyltransferase) nukleární gen kódující část komponenty E2 PDC

CiS nukleární gen kódující citrát syntázu

MT-ND5 (mitochondrially encoded NADH dehydrogenase, subunit 5) mitochondriální gen kódující podjednotku NADH dehydrogenázy, neboli komplexu I dýchacího řetězce

NDUFA12 (NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 α subcomplex 12) nukleární gen kódující podjednotku NADH dehydrogenázy, neboli komplexu I dýchacího řetězce

SDHA (succinate dehydrogenase complex, subunit A, flavoprotein) nukleární gen kódující podjednotku sukcinát dehydrogenázy, neboli sukcinát-koenzym Q reduktázy (SQR), neboli komplexu II dýchacího řetězce. Jedná

se o jediný enzymatický komplex, který není jenom součástí respiračního řetězce, ale současně katalyzuje 8. krok Krebsova cyklu, konkr. oxidaci sukcinátu na fumarát s redukcí ubiquinonu na ubiqinol. Tím dochází k propojení obou reakčních cyklů.

CYC1 (cytochrom c-1) nukleární gen kódující enzym komplexu III respiračního řetězce

COX4/1 (cytochrom c oxidáza, podjednotka IV, izoforma 1) nukleární gen kódující terminální enzym mitochondriálního respiračního cyklu (nazývaný taky komplex IV). Jedná se o komplex pozůstávající ze 13 podjednotek, který napojuje přenos elektronů z cytochromu c na molekulární kyslík a podílí se tak na vytváření protonového elektrochemického gradientu na vnitřní mitochondriální membráně. Mitochondriálně kódované podjednotky enzymu zajišťují přenos elektronů a protonů. Podjednotky kódované v jádře hrají roli zejména v regulaci a kompozici enzymatického komplexu.

ATP5O (komponenta F-typu ATP syntázy, podjednotky O (oligomycin vážící frakce)) mitochondriální gen kódující protein, který je součástí spojovacího článku mezi katalytickým jádrem a membránovým iontovým kanálem enzymu, podílí se na konformačních změnách enzymu a vodivosti pro přenášené vodíkové kationty.

Tabulka 6.1: Přehled vyšetřovaných mitochondriální parametrů. (nDNA — nukleární DNA, mtDNA — mitochondriální DNA, CoQ_{10} — koenzym Q_{10}, ubichinon)

Enzymatický komplex	**Zkratka**	**mRNA exprese**	**Zkratka**	**DNA**
Pyruvátdehydrogenázový komplex	*PDC*	Dihydrolipoamid-S-acetyltransferáza	*DLAT*	nDNA
Citrátsyntáza	*CiS*	Citrátsyntáza	*CiS*	nDNA
Komplex I (NADH-CoQ_{10}-reduktáza)	*NQR*	Subkomplex 12 NADH-ubichinon dehydrogenázy 1 α	*NDUFA12*	nDNA
		Mitochondriálně kódovaná NADH-dehydrogenáza 5	*MT-ND5*	mtDNA
Komplex II (sukcinát-CoQ_{10} reduktáza)	*SQR*	Podjednotka A komplexu sukcinátdehydrogenázy	*SDHA*	nDNA
Komplex I–III (NADH-cytochrom c reduktáza)	*NCCR*	Cytochrom c-1	*CYC1*	nDNA
Komplex IV (cytochrom c oxidáza)	*COX*	Izoforma 1 podjednotky IV cytochrom c oxidázy	*COX4/1*	nDNA
		ATP syntáza	*ATP5O*	mtDNA

6.6 Statistická analýza

Základní statistická charakteristika všech sledovaných kvantitativních parametrů byla provedena neparametrickým Kruskalovým-Wallisovým testem.

Porovnání zkoumaných parametrů mezi jednotlivými skupinami probandů bylo prováděno neparametrickým Mannovým-Whitneyovým testem pro 2 nezávislé výběry. Závislost parametrů v jednotlivých skupinách probandů byla studována neparametrickým Spearmanovým koeficientem korelace.

Výsledky jsou prezentovány jako průměr ± směrodatná odchylka. Statistická významnost výsledků je uváděna ve výsledkových tabulkách.

7. Výsledky

V naší práci jsme srovnávali antropometrické, biochemické, hormonální a mitochondriální parametry u pacientů s Cushingovým sydromem ve vztahu ke skupině pacientů s prostou obezitou a zdravým kontrolám, dále u pacientů s akromegalií ve vztahu ke zdravým kontrolám a také u skupiny obézních ve vztahu ke zdravým subjektům.

7.1 Antropometrická charakteristika a srovnání studovaných subjektů ve skupinách CS, A, OB vs kontroly a CS vs. OB

Sedmnáct z dvaceti sedmi pacientů s CS mělo BMI v pásmu obezity a všichni jevili známky abdominálního hromadění tuku s obvodem pasu nad normálními hodnotami (80 cm u žen a 94 cm u mužů). I všichni pacienti ze skupiny OB měli hodnoty obvodu pasu v pásmu abdominální obezity, ale signifikantně vyšší ve srovnání s CS. Mezi dvaceti pacienty s aktivní akromegalií bylo obézních jedenáct subjektů, ale až sedmnáct z nich mělo tendenci k centrálnímu hromadění tuku — opět posuzováno dle obvodu pasu.

Systolický i diastolický krevní tlak (sTK a dTK) byl signifikantně vyšší ve skupinách CS, A, OB ve srovnání s kontrolami, diastolický krevní tlak byl významně vyšší i ve srovnání CS vs. OB.

Tabulka 7.1: Antropometrická charakteristika pacientů

	CS (n=27)	**A (n=20)**	**OB (n=33)**	**C (n=58)**
Věk (roky)	44,85±14,97	55,25±12,81$^{\circledast}$	54,30±14,16$^{\circledast}$	43,64±12,5
sTK (mmHg)	147,67±18,47$^{\circledast}$	136,15±15,31$^{\circledast}$	135,00±17,81$^{\circledast}$	112,13±12,8
dTK (mHg)	90,11±13,08$^{\circledast,\square}$	86,75±13,4$^{\circledast}$	80,91±10,42$^{\circledast}$	69,88±8,2
BMI (kg/m^2)	32,51±5,31$^{\circledast,\square}$	33,24±7,84$^{\circledast}$	46,89±10,35$^{\circledast}$	23,07±1,93
Obvod pasu (cm)	108,37±12,43$^{\circledast,\square}$	105,79±16,95$^{\circledast}$	133,75±18,16$^{\circledast}$	80,97±8,97
% těles. tuku (bioimped.)	38,36±10,02$^{\circledast,\square}$	29,88±10,8	51,63±9,8$^{\circledast}$	23,17±9,38
% trunkál. tuku (DEXA)	42,85±5,8$^{\circledast}$	22,50±10,43	42,36±5,5$^{\circledast}$	23,30±7,83
% aktivní těles. hmoty	61,63±10,03$^{\circledast,\square}$	70,11±10,78	49,08±11,76$^{\circledast}$	76,83±9,39
REE/kg (kcal/den/kg)	17,98±1,94$^{\circledast,\square}$	19,96±3,25	15,40±3,27$^{\circledast}$	21,34±2,42
Respirační kvocient	0,82±0,08	0,83±0,09	0,73±0,07$^{\circledast}$	0,81±0,07

Hladina významnosti 0,05 je při $p < 0{,}007$

$^{\circledast}$ pro CS, A, OB vs. kontroly

$^{\square}$ pro CS vs. OB

Procento celkového tělesného tuku bylo signifikantně vyšší u CS i OB oproti kontrolám, jakož i u OB vs. CS. V procentu trunkálního tuku se naproti tomu skupiny CS a OB nelišily, významně vyšší bylo toto procento jen u obou skupin oproti kontrolám. Těmto výsledkům odpovídají i významné rozdíly v procentu aktivní tělesné hmoty a bazálním výdeji energie na kilogram hmotnosti (REE/kg) mezi CS, OB a kontrolami, kde nejmenší hodnoty byly naměřeny u OB, vyšší

u CS a nejvyšší u kontrol. V hodnotách respiračního kvocientu se od kontrol (ale i od CS) signifikantně lišili pouze obézní s nejnižšími hodnotami odpovídajícími převažujícímu spalování tuků. Rozdíly tohoto parametru ve skupinách OB vs CS jsou vysvětlitelné významnou převahou procenta celkového tělesného tuku u OB vs CS. Ani v jednom z výše uvedených parametrů (% celkového a trunkálního tuku, % aktivní tělesné hmoty, REE/kg, respirační kvocient) nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly ve srovnání A a kontrol.

Přehled výsledků je uveden v Tab. 7.1.

7.2 Biochemická a hormonální charakteristika a srovnání studovaných subjektů ve skupinách CS, A, OB vs kontroly a CS vs. OB

Hodnoty urey, kreatininu, celkové bílkoviny a albuminu byly u všech skupin v mezích normy, nicméně hladina urey byla signifikantně vyšší u OB oproti kontrolám, hladina celkové bílkoviny významně nižší u CS oproti kontrolám a hladina albuminu byla signifikantně nižší u CS i A oproti kontrolám.

Hodnoty celkového a LDL cholesterolu byly význemně vyšší a HDL cholesterolu významně nižší u CS ve srovnání s kontrolami i OB. Hladina HDL cholesterolu byla signifikantně nižší i u A a OB oproti kontrolám. Hladina triglyreridů byla významně vyšší u CS, A i OB oproti kontrolám, mezi skupinami CS a OB v tomto parametru signifikantní rozdíly nebyly nalezeny.

Hladiny glykémie nalačno, glykovaného hemoglobinu, inzulínu i HOMA indexu byly signifikantně vyšší u všech zkoumaných skupin ve srovnání s kontrolami, skupiny CS a OB se v jejich hladinách nelišily. Vysoké absolutní hodnoty hladin inzulínu a HOMA indexu (zejména u zdravých kontrol) jsou důsledkem použitých laboratorních vyšetřovacích kitů. Hladiny vysoko senzitivního CRP (hsCRP), jakožto markeru zánětu, který je rovněž dáván do souvislosti s inzulínovou rezistencí, byly dle očekávání signifikantně vyšší u OB ve srovnání s kontrolami i CS, naopak u A byly jeho hladiny překvapivě významně nižší než u kontrol.

Hladiny leptinu byly signifikantně vyšší u CS i OB oproti kontrolám (bez signifikantního rozdílu mezi těmito dvěmi skupinami), což odpovídá obecně známé pozitivní korelaci tohoto hormonu s objemem tukové tkáně. Naproti tomu rezistin, jakožto významný indikátor inzulínové rezistence, byl významně vyšší pouze u CS ve srovnání s kontrolami. Hodnoty FGF-21 a FABP-4 byly signifikantně vyšší u CS a OB ve srovnání s kontrolami, bez významného rozdílu mezi CS vs OB pacienty. Rozdíly v hladinách adiponektinu a FGF-19 mezi studovanými skupinami pacientů nebyly signifikantní.

Koncentrace bazálního plazmatického kortizolu byly signifikantně vyšší u CS ve srovnání s kontrolami i OB, hladiny IGF-1 byly signifikantně vyšší u A oproti kontrolám — obojí odpovídá podstatě těchto nemocí. Koncentrace fT3 a TSH byly signifikantně nižší u CS oproti kontrolám a TSH i oproti OB, což je velmi pravděpodobně způsobeno známým supresním efektem zvýšených hladin kortizolu na sekreci TSH a periferní proměnu T4 na T3.

Přehled výsledků je uveden v Tab. 7.2.

Tabulka 7.2: Biochemická a hormonální charakteristika pacientů

	CS (n=27)	**A (n=20)**	**OB (n=33)**	**C (n=58)**
Glykémie (mmol/l)	6,16±2,99$^{\circledast}$	5,89±1,09$^{\circledast}$	7,37±3,98$^{\circledast}$	4,64±0,65
Inzulín (μUI/ml)	70,02±119,32$^{\circledast}$	43,19±24,85$^{\circledast}$	45,32±52,14$^{\circledast}$	16,66±7,74
HOMA index	19,86±29,05$^{\circledast}$	11,65±7,87$^{\circledast}$	15,19±16,51$^{\circledast}$	3,42±1,9
Glyk. hemoglobin (%)	5,05±1,77$^{\circledast}$	4,62±0,8$^{\circledast}$	5,54±1,87$^{\circledast}$	3,63±0,41
Celk. cholest. (mmol/l)	5,70±1,27$^{\circledast,\square}$	4,91±1,1	4,59±0,93	4,91±0,8
LDL cholesterol (mmol/l)	3,58±1,09$^{\circledast,\square}$	2,83±0,65	2,71±0,84	2,91±0,67
HDL cholesterol (mmol/l)	1,22±0,28$^{\circledast,\square}$	1,09±0,23$^{\circledast}$	1,03±0,27$^{\circledast}$	1,53±0,39
Triacylglyceroly (mmol/l)	2,43±1,24$^{\circledast}$	1,98±0,9$^{\circledast}$	2,27±3,12$^{\circledast}$	1,05±0,45
Celková bílkovina (g/l)	68,61±7,93$^{\circledast}$	71,62±4,51	72,34±6,51	73,56±5,72
Albumin (g/l)	43,16±4,66$^{\circledast}$	43,37±3,55	41,59±3,88$^{\circledast}$	45,85±3,65
Urea (mmol/l)	5,99±2,46	5,32±1,44	6,40±2,26$^{\circledast}$	4,74±0,99
Kreatinin (μmol/l)	74,89±23,27	70,70±15,97	80,36±35,54	73,40±12,36
fT3 (pmol/l)	4,31±0,72$^{\circledast}$	5,05±0,74	4,95±0,92	5,17±0,66
fT4 (pmol/l)	14,11±2,65	15,28±3,91	15,99±2,76	15,08±2,39
TSH (mIU/l)	0,95±0,73$^{\circledast,\square}$	1,35±1,51$^{\circledast}$	2,15±1,31	2,46±1,46
Kortizol (nmol/l)	874,17±360,7$^{\circledast,\square}$	470,06±156,63	523,70±179,36	565,36±165,71
IGF-1 (μg/l)	236,84±112,88	1199,99±477,32$^{\circledast}$	199,14±89,87	219,66±80,52
Leptin (ng/ml)	56,76±21,36$^{\circledast}$	21,64±22,12	53,60±23,6$^{\circledast}$	11,85±14,22
Rezistin (ng/ml)	7,78±3,06$^{\circledast}$	5,09±2,07	7,93±5,28	5,72±1,92
Adiponektin (ng/ml)	18,02±7,16	22,94±12,16	16,82±7,84	23,27±10,64
FGF-21 (pg/ml)	501,32±471,96$^{\circledast}$	219,00±190,86	340,30±342,88$^{\circledast}$	156,86±188,2
FGF-19 (pg/ml)	185,69±130,21	273,68±133,4	177,81±122,54	239,29±164,81
FABP-4 (ng/ml)	102,91±61,29$^{\circledast}$	31,37±34,67	98,32±78,65$^{\circledast}$	20,36±14,51
hsCRP (mg/l)	0,70±0,86$^{\square}$	0,14±0,33$^{\circledast}$	1,64±1,41$^{\circledast}$	1,22±2,09

Hladina významnosti 0,05 je při $p < 0{,}007$

$^{\circledast}$ pro CS, A, OB vs. kontroly

$^{\square}$ pro CS vs. OB

Kortizol — bazální plazmatický

7.3 Parametry mitochondriální funkce a exprese genů mitochondriálních enzymů — charakteristika a srovnání studovaných subjektů ve skupinách CS, A, OB vs kontroly a CS vs. OB

Aktivita komplexu II dýchacího řetězce byla signifikantně nižší u OB oproti kontrolám, vůči CS se nelišila významně. Absolutní množství komplexu I dýchacího řetězce bylo významně vyšší u A ve srovnání s kontrolami (Tab. 7.3).

Tabulka 7.3: Aktivita a absolutní hodnoty mitochondriálních enzymů a komplexů dýchacího řetězce

	CS (n=27)	**A (n=20)**	**OB (n=33)**	**C (n=58)**
Aktivita enzymů a mit. komplexů				
PDC (nmol/min./mg protein)	0,59±0,26	0,51±0,17	0,43±0,19	0,57±0,22
CiS (nmol/min./mg protein)	73,00±15,32	66,71±16,06	69,98±18,36	77,73±14,26
NQR (nmol/min./mg protein)	42,37±19,98	42,96±12,43	38,92±17,51	33,68±12,14
SQR (nmol/min./mg protein)	10,73±2,64	14,12±11,4	10,56±2,36[®]	11,95±2,1
NCCR (nmol/min./mg protein)	14,74±5,15	13,54±3,29	15,53±7,07	13,98±6,79
COX (nmol/min./mg protein)	26,73±9,96	24,39±7,33	22,56±4,75	25,72±5,5
Absolutní množství enzymů a mit. komplexů				
PDC/CiS	0,009±0,006	0,008±0,003	0,006±0,003	0,008±0,003
NQR/CiS	0,63±0,45	0,71±0,45[®]	0,58±0,3	0,44±0,15
SQR/CiS	0,15±0,05	0,24±0,21	0,16±0,06	0,16±0,05
NCCR/CiS	0,23±0,15	0,24±0,07	0,25±0,14	0,2±0,09
COX/CiS	0,38±0,16	0,38±0,13	0,34±0,1	0,34±0,09

Hladina významnosti 0,05 je při $p < 0{,}007$

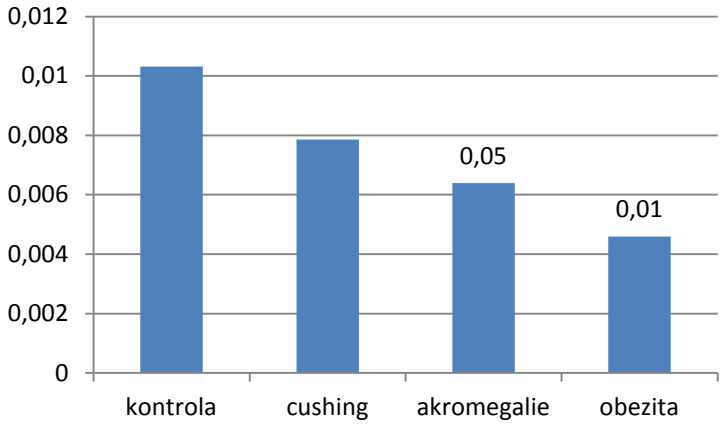
[®] pro CS, A, OB vs. kontroly

Výraznější rozdíly mezi skupinami byly nalezeny v expresích genů mitochondriálních enzymů. U OB pacientů byly signifikantně snížené exprese všech vybraných genů ve srovnání s kontrolami, u dvou genů (DLAT a MT-ND5) pak byly exprese významně nižší i ve srovnání s CS. I u dalších vyšetřovaných skupin pacientů byla tendence k redukované expresi vyšetřovaných genů ve srovnání s kontrolami — u A v pěti z osmi genů a CS u tří z osmi genů. Pro lepší přehlednost jsou výsledky uvedeny v podobě grafů (Obr. 7.1–7.8).

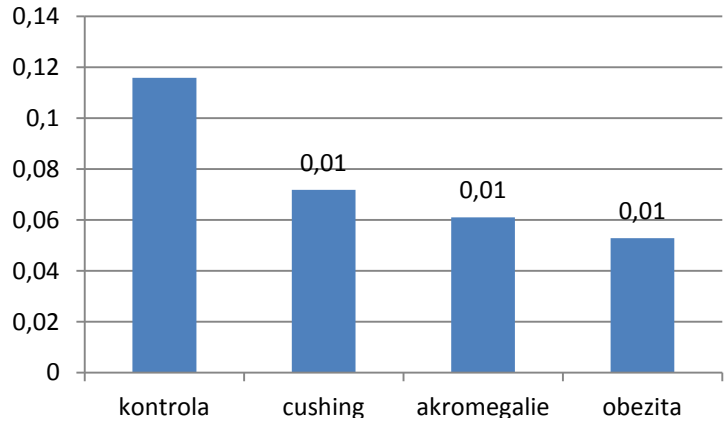
7.4 Korelace FGF-19, FGF-21 a FABP-4 s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry

7.4.1 Pacienti s Cushingovým syndromem

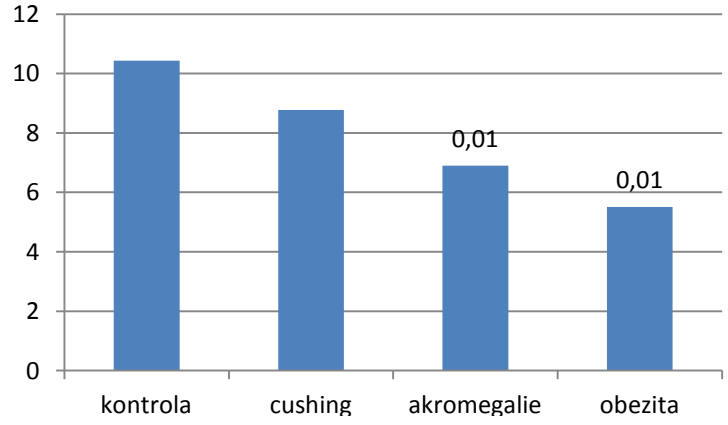
Hladiny FGF-19 korelovaly pozitivně s expresí COX4/1 a negativně s hodnotami BMI.



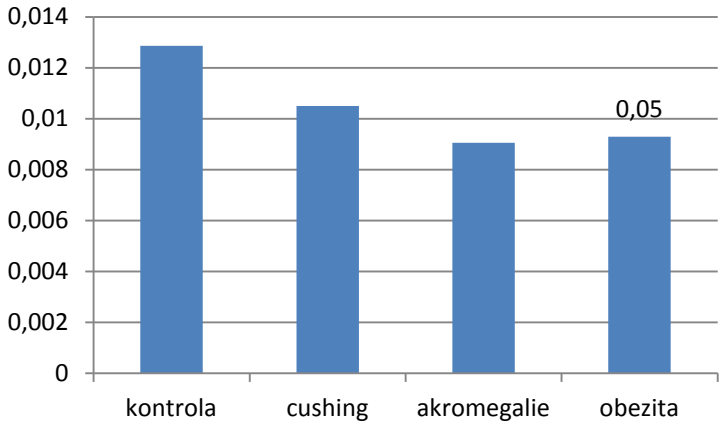
Obrázek 7.1: DLAT průměry a hladiny významnosti vs. kontroly



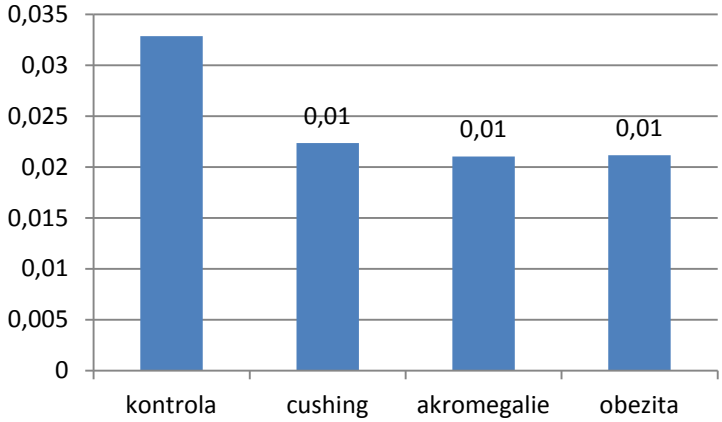
Obrázek 7.2: CiS expr průměry a hladiny významnosti vs. kontroly



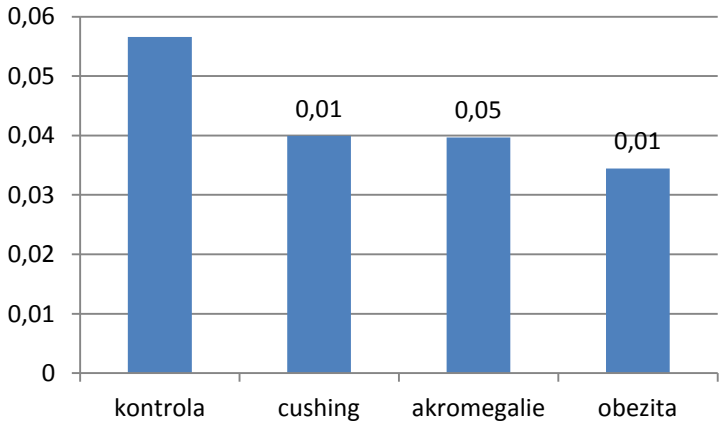
Obrázek 7.3: MT-ND5 průměry a hladiny významnosti vs. kontroly



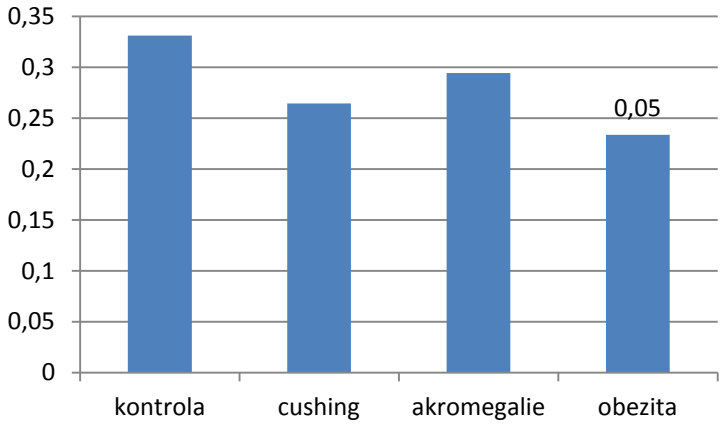
Obrázek 7.4: NDUFA12 průměry a hladiny významnosti vs. kontroly



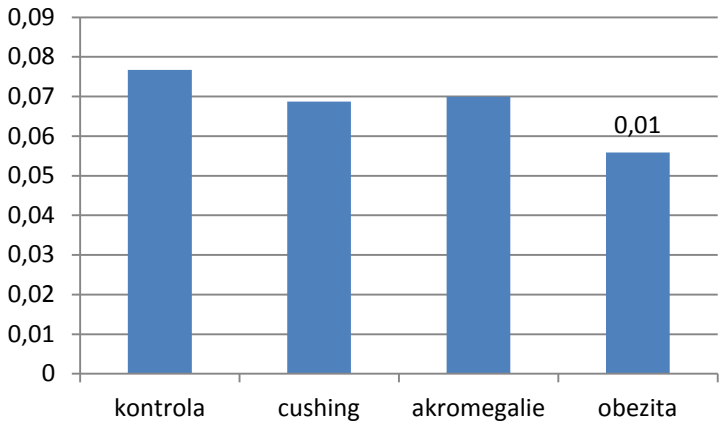
Obrázek 7.5: SDHA průměry a hladiny významnosti vs. kontroly



Obrázek 7.6: CYC1 průměry a hladiny významnosti vs. kontroly



Obrázek 7.7: COX4/1 průměry a hladiny významnosti vs. kontroly



Obrázek 7.8: ATP50 průměry a hladiny významnosti vs. kontroly

Hladiny FGF-21 korelovaly pozitivně s obvodem pasu pacientů, hladinami TGL a glykovaného hemoglobinu a negativně s hladinami albuminu, IGF-1 a expresemi CiS a MT-ND5.

Hladiny FABP-4 korelovaly pozitivně s hodnotami BMI, obvodu pasu, s procentem trunkálního tuku a hladinou TGL. Negativně korelovaly hladiny FABP-4 s koncentracemi HDL cholesterolu, albuminu, expresemi CiS a CYC1.

Tabulka 7.4: Korelace FGF-19, FGF-21 a FABP-4 s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s Cushingovým syndromem

	FGF-19		**FGF-21**		**FABP-4**	
	r	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**
BMI	$-0{,}545^{\circledast}$	0,013	NS	NS	$0{,}633^{\circledast\circledast}$	0,003
Obvod pasu	NS	NS	$0{,}518^{\circledast}$	0,019	$0{,}583^{\circledast\circledast}$	0,007
% trunkálního tuku	NS	NS	NS	NS	$0{,}668^{\circledast\circledast}$	0,001
Triacylglyceroly	NS	NS	$0{,}552^{\circledast}$	0,012	$0{,}618^{\circledast\circledast}$	0,004
HDL cholesterol	NS	NS	NS	NS	$-0{,}479^{\circledast}$	0,033
Glyk. hemoglobin	NS	NS	$0{,}532^{\circledast}$	0,028	NS	NS
Albumin	NS	NS	$-0{,}704^{\circledast\circledast}$	0,001	$-0{,}609^{\circledast\circledast}$	0,006
IGF-1	NS	NS	$-0{,}684^{\circledast\circledast}$	0,001	NS	NS
CiS exprese	NS	NS	$-0{,}520^{\circledast}$	0,033	$-0{,}505^{\circledast}$	0,039
MT-ND5 exprese	NS	NS	$-0{,}522^{\circledast}$	0,032	NS	NS
CYC1 exprese	NS	NS	NS	NS	$-0{,}495^{\circledast}$	0,043
COX4/1 exprese	$0{,}488^{\circledast}$	0,047	NS	NS	NS	NS

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

7.4.2 Pacienti s akromegalií

U pacientů s akromegalií jsme u FGF-19 nalezli pouze jednu korelaci, a to pozitivní korelaci s hodnotami respiračního kvocientu.

Hladiny FGF-21 korelovaly pozitivně s procentem trunkálního tuku, s kocentracemi celkového cholesterolu, TGL, glykémie, glykovaného hemoglobinu, inzulínu a C peptidu. Negativně korelovaly koncetrace FGF-21 pouze s hodnotami klidového výdeje energie na kilogram hmotnosti.

Hodnoty FABP-4 korelovaly pozitivně s BMI, procentem celkového a trunkálního tělesného tuku a s hladinami plazmatického kortizolu. Negativní byly korelace mezi FABP-4 a procentem aktivní tělesné hmoty, klidovým výdejem energie na kilogram hmotnosti a expresí ATP5O.

7.4.3 Obézní pacienti

U obézních pacientů jsme nalezli pozitivní korelaci FGF-19 s koncentrací HDL cholesterolu. Negativně koreloval FGF-19 s expresemi DLAT, CiS, MT-ND5, SDHA, CYC1 a ATP5O.

Tabulka 7.5: Korelace FGF-19, FGF-21 a FABP-4 s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s akromegalií

	FGF-19		**FGF-21**		**FABP-4**	
	r	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**
BMI	NS	NS	NS	NS	0,582$^{\circledast}$	0,018
% tělesného tuku	NS	NS	NS	NS	0,739$^{\circledast\circledast}$	0,002
% trunkálního tuku	NS	NS	0,609$^{\circledast}$	0,047	0,618$^{\circledast}$	0,043
% aktivní tělesné hmoty	NS	NS	NS	NS	−0,739$^{\circledast\circledast}$	0,002
REE/kg	NS	NS	−0,596$^{\circledast}$	0,019	−0,714$^{\circledast\circledast}$	0,003
Respirační kvocient	0,589$^{\circledast}$	0,027	NS	NS	NS	NS
Celkový cholesterol	NS	NS	0,603$^{\circledast}$	0,013	NS	NS
Triacylglyceroly	NS	NS	0,653$^{\circledast\circledast}$	0,006	NS	NS
Glykémie	NS	NS	0,665$^{\circledast\circledast}$	0,005	NS	NS
Glykovaný hemoglobin	NS	NS	0,631$^{\circledast}$	0,016	NS	NS
Inzulín	NS	NS	0,750$^{\circledast\circledast}$	0,001	NS	NS
C peptid	NS	NS	0,588$^{\circledast}$	0,017	NS	NS
Baz. plazm. kortizol	NS	NS	NS	NS	0,606$^{\circledast}$	0,013
ATP5O exprese	NS	NS	NS	NS	−0,571$^{\circledast}$	0,041

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

U FGF-21 jsme v této skupině pacientů nalezli pouze pozitivní korelace, a to s koncentracemi TGL, glykémie a C peptidu.

Hladiny FABP-4 korelovaly pozitivně s hodnotami BMI, obvodu pasu, procentem celkového a trunkálního tělesného tuku, dále s koncentracemi TGL a glykémie. Negativně koreloval FABP-4 s procentem aktivní tělesné hmoty, hodnotami klidového výdeje energie na kilogram hmotnosti a respiračního kvocientu.

Tabulka 7.6: Korelace FGF-19, FGF-21 a FABP-4 s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s prostou obezitou

	FGF-19		**FGF-21**		**FABP-4**	
	r	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**
BMI	NS	NS	NS	NS	0,599⊛⊛	0,002
Obvod pasu	NS	NS	NS	NS	0,671⊛⊛	0,0001
% tělesného tuku	NS	NS	NS	NS	0,582⊛⊛	0,002
% trunkálního tuku	NS	NS	NS	NS	0,857⊛	0,014
% aktivní tělesné hmoty	NS	NS	NS	NS	−0,583⊛⊛	0,002
REE/kg	NS	NS	NS	NS	−0,487⊛	0,018
Respirační kvocient	NS	NS	NS	NS	−0,421⊛	0,04
Triacylglyceroly	NS	NS	0,454⊛	0,026	0,469⊛	0,018
HDL cholesterol	0,538⊛⊛	0,007	NS	NS	NS	NS
Glykémie	NS	NS	0,477⊛	0,021	0,521⊛⊛	0,009
C peptid	NS	NS	0,636⊛	0,011	NS	NS
DLAT exprese	−0,523⊛	0,018	NS	NS	NS	NS
CiS exprese	−0,851⊛⊛	0,0001	NS	NS	NS	NS
MT-ND5 exprese	−0,564⊛⊛	0,01	NS	NS	NS	NS
SDHA exprese	−0,647⊛⊛	0,002	NS	NS	NS	NS
CYC1 exprese	−0,586⊛⊛	0,007	NS	NS	NS	NS
ATP5O exprese	−0,447⊛	0,048	NS	NS	NS	NS

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

7.4.4 Zdravé kontroly

Hladiny FGF-19 korelovaly v této skupině subjektů pozitivně pouze s expresí CiS, negativně korelovaly s hodnotami procenta trunkálního tělesného tuku a absolutním množstvím komplexu II dýchacího řetězce.

Koncentrace FGF-21 korelovaly pozitivně s absolutním množstvím PDC v mitochondrii.

Hladiny FABP-4 korelovaly pozitivně s věkem, hodnotami BMI, procentem celkového a trunkálního tělesného tuku, s koncentracemi TGL, LDL cholesterolu, C peptidu a celkové bílkoviny. Negativně korelovaly koncentrace FAPB-4 s procentem aktivní tělesné hmoty a klidovým výdejem energie na kilogram hmotnosti, s hladinou albuminu, volného tyroxinu a IGF-1.

Tabulka 7.7: Korelace FGF-19, FGF-21 a FABP-4 s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u zdravých kontrol

	FGF-19		**FGF-21**		**FABP-4**	
	r	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**
Věk	NS	NS	NS	NS	0,688⊛⊛	0,0001
BMI	NS	NS	NS	NS	0,344⊛	0,018
% tělesného tuku	NS	NS	NS	NS	0,636⊛⊛	0,0001
% trunkálního tuku	−0,401⊛	0,042	NS	NS	0,620⊛⊛	0,001
% aktivní tělesné hmoty	NS	NS	NS	NS	−0,636⊛⊛	0,0001
REE/kg	NS	NS	NS	NS	−0,551⊛⊛	0,003
Triacylglyceroly	NS	NS	NS	NS	0,311⊛	0,035
LDL cholesterol	NS	NS	NS	NS	0,356⊛	0,022
C peptid	NS	NS	NS	NS	0,562⊛	0,046
Celková bílkovina	NS	NS	NS	NS	0,344⊛	0,0001
Albumin	NS	NS	NS	NS	−0,572⊛⊛	0,0001
Volný tyroxin	NS	NS	NS	NS	−0,381⊛	0,02
IGF-1	NS	NS	NS	NS	−0,407⊛	0,049
SQR/CiS	−0,459⊛	0,016	NS	NS	NS	NS
PDC/CiS	NS	NS	0,469⊛	0,018	NS	NS
CiS exprese	0,504⊛	0,012	NS	NS	NS	NS

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

7.5 Korelace aktivity a absolutního množství mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry

7.5.1 Pacienti s Cushingovým syndromem

Enzymová aktivita PDC korelovala negativně s hladinou C peptidu, rezistinu a hsCRP. U absolutního množství PDC v mitochondrii jsme nenašli žádné signifikantní korelace.

Aktivita CiS korelovala pozitivně s procentem aktivní tělesné hmoty a s koncentrací TGL, negativně s procentem celkového a trunkálního tělesného tuku.

Aktivita i absolutní množství NQR, komplexu I dýchacího řetězce, korelovaly pozitivně s hladinami leptinu, mitochondriální koncentrace NQR pak korelovala negativně s klidovým výdejem energie na kilogram hmotnosti a sérovou hladinou celkové bílkoviny.

Enzymová aktivita SQR, komplexu II dýchacího řetězce, korelovala negativně s věkem pacientů, zatímco mitochondriální množství SQR korelovalo pozitivně s hladinami plazmatického kortizolu a negativně s koncentrací urey.

Absolutní koncentrace NCCR, komplexů I-III dýchacího řetězce, korelovala pozitivně s koncentrací volného tyroxinu a negativně s klidovým výdejem energie na kilogram hmotnosti. Enzymová aktivita NCCR nekorelovala statisticky významně ani s jedním ze studovaných parametrů.

Enzymová aktivita COX, komplexu IV dýchacího řetězce, korelovala pozitivně s procentem trunkálního tuku, s koncentracemi inzulínu a HOMA indexem, negativní byl její vztah k hodnotám respiračního kvocientu a hladinám TSH. Mitochondriální obsah COX koreloval pozitivně s procentem celkového a trunkálního tělesného tuku, s koncetracemi inzulínu a IGF-1 a negativně koreloval s procentem aktivní tělesné hmoty pacientů.

7.5.2 Pacienti s akromegalií

Aktivita PDC pozitivně korelovala s procentem aktivní tělesné hmoty pacientů a negativně s procentem celkového tělesného tuku a koncentracemi rezistinu. Absolutní množství PDC v mitochondriích korelovalo pouze s koncetrací urey, a to negativně.

Aktivita CiS korelovala pozitivně s věkem pacientů, s kocentracemi urey a plazmatického kortizolu.

Aktivita i absolutní koncentrace NQR korelovaly negativně s kocentracemi HDL cholesterolu a TSH, aktivita NQR pak korelovala ještě pozitivně s koncetracemi rezistinu a obsah NQR v mitochondriích koreloval negativně s hladinou plazmatického kortizolu.

Aktivita SQR korelovala pouze negativně, a to s hladinou celkového a LDL cholesterolu a glykovaného hemoglobinu. Koncentrace SQR v mitochondrii korelovala pozitivně s hladinou IGF-1 a negativně s věkem pacientů, s koncentrací celkového cholesterolu, glykovaného hemoglobinu, urey a bazálního plazmatického kortizolu.

U NCCR jsme našli pouze jednu korelaci, a to pozitivní korelaci aktivity NCCR a hladiny TGL.

Tabulka 7.8: Korelace aktivit mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s Cushingovým syndromem

		PDC	CiS	NQR	SQR	NCCR	COX
Věk	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}488^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	NS	NS	0,013	NS	NS
% tělesného tuku	**r**	NS	$-0{,}458^{\circledast}$	NS	NS	NS	NS
	p	NS	0,019	NS	NS	NS	NS
% trunkálního tuku	**r**	NS	$-0{,}527^{\circledast\circledast}$	NS	NS	NS	$0{,}481^{\circledast}$
	p	NS	0,007	NS	NS	NS	0,02
% aktivní tělesné hmoty	**r**	NS	$0{,}458^{\circledast}$	NS	NS	NS	NS
	p	NS	0,019	NS	NS	NS	NS
Respirační kvocient	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	$-0{,}477^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,025
Triacylglyceroly	**r**	NS	$0{,}485^{\circledast}$	NS	NS	NS	NS
	p	NS	0,012	NS	NS	NS	NS
Inzulín	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	$0{,}554^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,014
C peptid	**r**	$-0{,}587^{\circledast}$	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,045	NS	NS	NS	NS	NS
HOMA	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	$0{,}550^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,034
TSH	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	$-0{,}453^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,026
Leptin	**r**	NS	NS	$0{,}476^{\circledast}$	NS	NS	NS
	p	NS	NS	0,04	NS	NS	NS
Rezistin	**r**	$-0{,}496^{\circledast}$	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,036	NS	NS	NS	NS	NS
hsCRP	**r**	$-0{,}473^{\circledast}$	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,047	NS	NS	NS	NS	NS

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Tabulka 7.9: Korelace koncentrací mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s Cushingovým syndromem

		PDC/CiS	NQR/CiS	SQR/CiS	NCCR/CiS	COX/CiS
% tělesného tuku	**r**	NS	NS	NS	NS	0,512⊛
	p	NS	NS	NS	NS	0,011
% trunkálního tuku	**r**	NS	NS	NS	NS	0,562⊛⊛
	p	NS	NS	NS	NS	0,005
% aktivní tělesné hmoty	**r**	NS	NS	NS	NS	−0,512⊛
	p	NS	NS	NS	NS	0,011
REE/kg	**r**	NS	−0,396⊛	NS	−0,697⊛⊛	NS
	p	NS	0,05	NS	0,006	NS
Inzulín	**r**	NS	NS	NS	NS	0,527⊛
	p	NS	NS	NS	NS	0,021
Celková bílkovina	**r**	NS	−0,414⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,04	NS	NS	NS
Urea	**r**	NS	NS	−0,409⊛	NS	NS
	p	NS	NS	0,042	NS	NS
Volný tyroxin	**r**	NS	NS	NS	0,656⊛	NS
	p	NS	NS	NS	0,011	NS
IGF-1	**r**	NS	NS	NS	NS	0,448⊛
	p	NS	NS	NS	NS	0,032
Bazální plazmatický kortizol	**r**	NS	NS	0,579⊛⊛	NS	NS
	p	NS	NS	0,002	NS	NS
Leptin	**r**	NS	0,565⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,012	NS	NS	NS

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Aktivita COX korelovala negativně s hodnotami klidového výdeje energie na kilogram hmotnosti. Její mitochondriální koncentrace korelovaly pozitivně s hodnotami BMI, procentem trunkálního tuku a koncentracemi IGF-1 a negativně s hladinami plazmatického kortizolu.

Tabulka 7.10: Korelace aktivit mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s akromegalií

		PDC	CiS	NQR	SQR	NCCR	COX
Věk	**r**	NS	0,455⊛	NS	NS	NS	NS
	p	NS	0,044	NS	NS	NS	NS
% tělesného tuku	**r**	−0,569⊛	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,014	NS	NS	NS	NS	NS
% aktiv.těl.hmoty	**r**	0,569⊛	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,014	NS	NS	NS	NS	NS
REE/kg	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	−0,462⊛
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,046
Celkový cholesterol	**r**	NS	NS	NS	−0,498⊛	NS	NS
	p	NS	NS	NS	0,05	NS	NS
Triacylglyceroly	**r**	NS	NS	NS	NS	0,618⊛	NS
	p	NS	NS	NS	NS	0,043	NS
LDL cholesterol	**r**	NS	NS	NS	−0,552⊛	NS	NS
	p	NS	NS	NS	0,027	NS	NS
HDL cholesterol	**r**	NS	NS	−0,679⊛⊛	NS	NS	NS
	p	NS	NS	0,002	NS	NS	NS
Glyk.hemoglobin	**r**	NS	NS	NS	−0,692⊛⊛	NS	NS
	p	NS	NS	NS	0,006	NS	NS
Urea	**r**	NS	0,500⊛	NS	NS	NS	NS
	p	NS	0,025	NS	NS	NS	NS
TSH	**r**	NS	NS	−0,734⊛⊛	NS	NS	NS
	p	NS	NS	0,001	NS	NS	NS
Baz.plazm.kortizol	**r**	NS	0,642⊛⊛	NS	NS	NS	NS
	p	NS	0,002	NS	NS	NS	NS
Rezistin	**r**	−0,536⊛	NS	0,635⊛	NS	NS	NS
	p	0,048	NS	0,02	NS	NS	NS

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

7.5.3 Obézní pacienti

Enzymová aktivita PDC korelovala u obézních pacientů negativně s koncentracemi TGL, glykémie a glykovaného hemoglobinu. Jeho mitochondriální koncentrace rovněž korelovaly negativně s hladinou glykémie, negativní korelaci jsme našli také ve vztahu k hodnotám TSH.

Tabulka 7.11: Korelace koncentrací mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s akromegalií

		PDC/CiS	NQR/CiS	SQR/CiS	NCCR/CiS	COX/CiS
Věk	**r**	NS	NS	$-0{,}535^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	NS	0,033	NS	NS
BMI	**r**	NS	NS	NS	NS	$0{,}487^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	NS	0,029
% trunkálního tuku	**r**	NS	NS	NS	NS	$0{,}550^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	NS	0,034
Celkový cholesterol	**r**	NS	NS	$-0{,}597^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	NS	0,015	NS	NS
HDL cholesterol	**r**	NS	$-0{,}803^{\circledast\circledast}$	NS	NS	NS
	p	NS	0,0001	NS	NS	NS
Glyk. hemoglobin	**r**	NS	NS	$-0{,}725^{\circledast\circledast}$	NS	NS
	p	NS	NS	0,003	NS	NS
Urea	**r**	$-0{,}561^{\circledast}$	NS	$-0{,}612^{\circledast}$	NS	NS
	p	0,013	NS	0,012	NS	NS
TSH	**r**	NS	$-0{,}676^{\circledast\circledast}$	NS	NS	NS
	p	NS	0,002	NS	NS	NS
IGF-1	**r**	NS	NS	$0{,}589^{\circledast}$	NS	$0{,}503^{\circledast}$
	p	NS	NS	0,021	NS	0,034
Baz.plazm.kortizol	**r**	NS	$-0{,}509^{\circledast}$	$-0{,}603^{\circledast}$	NS	$-0{,}564^{\circledast\circledast}$
	p	NS	0,031	0,013	NS	0,01

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Enzymová aktivita CiS korelovala negativně s procentem trunkálního tuku.

Aktivita NQR korelovala pozitivně s hodnotami systolického krevního tlaku a negativně s koncentracemi celkového a LDL cholesterolu a s hladinami albuminu. Mitochondriální množství NQR korelovalo u obézních pacientů pozitivně se sérovou hladinou inzulínu a negativně opět s koncentracemi celkového a LDL cholesterolu a albumínu.

Aktivita i koncentrace SQR korelovaly pouze s obvodem pasu pacientů, a to negativně.

Aktivita i koncentrace NCCR korelovaly pozitivně s hladinami kreatininu, enzymová aktivita NCCR korelovala pak pozitivně i s hladinou fT3 a IGF-1.

Enzymová aktivita COX korelovala pozitivně s hodnotami klidového výdeje energie na kilogram hmotnosti, s koncentracemi HDL cholesterolu, celkové bílkoviny a albumínu, negativní korelace jsme našli s hodnotami BMI, obvodu pasu a vysoce citlivého CRP. Mitochondriální koncentrace COX korelovaly pozitivně s hladinami celkové bílkoviny a negativně s hodnotami obvodu pasu obézních pacientů.

7.5.4 Zdravé kontroly

Jak u enzymové aktivity tak i u mitochondriální koncentrace PDC jsme prokázali negativní vztah k hladinám celkového a LDL cholesterolu, koncentrace PDC korelovaly dále pozitivně s hladinami FGF-21 a negativně s hladinami urey.

Aktivita CiS korelovala pozitivně s hodnotami respiračního kvocientu zdravých kontrol.

Koncentrace NQR v mitochondrii korelovaly pozitivně s hladinami albuminu a volného tyroxinu a negativně s koncentrací TGL a rezistinu. Množství i aktivita NQR korelovaly negativně s procentem trunkálního tuku a hladinou vysoce senzitivního CRP.

Aktivita i mitochondriální koncentrace SQR korelovaly negativně s hodnotami respiračního kvocientu a hladinou celkové bílkoviny. Pozitivní korelaci enzymové aktivity SQR jsme prokázali s procentem aktivní tělesné hmoty a hladinami volného tyroxinu a negativní s procentem celkového tělesného tuku. U koncentrací SQR jsme prokázali ještě negativní korelaci s hladinami FGF-19.

Z dalších studovaných mitochondriálních enzymů jsme prokázali korelaci už jen u mitochondriální koncentrace COX, a to negativní s hladinou vysoce senzitivního CRP.

7.6 Korelace expresí genů vybraných mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry

7.6.1 Pacienti s Cushingovým syndromem

Exprese DLAT negativně korelovaly s hladinami TGL a TSH.

Exprese CiS korelovaly pozitivně s koncentracemi HDL cholesterolu a adiponektinu a negativně s hodnotami obvodu pasu, koncentrací TGL, rezistinu, FGF-21 a FABP-4.

Tabulka 7.12: Korelace aktivit mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s prostou obezitou

		PDC	CiS	NQR	SQR	NCCR	COX
sTK	**r**	NS	NS	0,346⊛	NS	NS	NS
	p	NS	NS	0,049	NS	NS	NS
BMI	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	−0,363⊛
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,041
Obvod pasu	**r**	NS	NS	NS	−0,358⊛	NS	−0,493⊛⊛
	p	NS	NS	NS	0,044	NS	0,005
	p	NS	0,003	NS	NS	NS	NS
REE/kg	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	0,424⊛
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,024
Celk. cholesterol	**r**	NS	NS	−0,415⊛	NS	NS	NS
	p	NS	NS	0,016	NS	NS	NS
Triacylglyceroly	**r**	−0,357⊛	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,049	NS	NS	NS	NS	NS
LDL cholesterol	**r**	NS	NS	−0,356⊛	NS	NS	NS
	p	NS	NS	0,045	NS	NS	NS
HDL cholesterol	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	0,487⊛⊛
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,005
Glykémie	**r**	−0,468⊛⊛	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,009	NS	NS	NS	NS	NS
Glyk.hemoglobin	**r**	−0,358⊛	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,048	NS	NS	NS	NS	NS
Celk.bílkovina	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	0,465⊛⊛
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,01
Albumin	**r**	NS	NS	−0,480⊛⊛	NS	NS	0,509⊛⊛
	p	NS	NS	0,007	NS	NS	0,005
Kreatinin	**r**	NS	NS	NS	NS	0,493⊛	NS
	p	NS	NS	NS	NS	0,038	NS
fT3	**r**	NS	NS	NS	NS	0,894⊛	NS
	p	NS	NS	NS	NS	0,041	NS
IGF-1	**r**	NS	NS	NS	NS	0,572⊛	NS
	p	NS	NS	NS	NS	0,013	NS
hsCRP	**r**	NS	NS	NS	NS	NS	−0,426⊛
	p	NS	NS	NS	NS	NS	0,038

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Tabulka 7.13: Korelace koncentrací mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s prostou obezitou

		PDC/CiS	NQR/CiS	SQR/CiS	NCCR/CiS	COX/CiS
Obvod pasu	**r**	NS	NS	−0,449⊛	NS	−0,441⊛
	p	NS	NS	0,011	NS	0,013
Celkový cholesterol	**r**	NS	−0,374⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,035	NS	NS	NS
LDL cholesterol	**r**	NS	−0,421⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,018	NS	NS	NS
Glykémie	**r**	−0,408⊛	NS	NS	NS	NS
	p	0,028	NS	NS	NS	NS
Inzulín	**r**	NS	0,393⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,039	NS	NS	NS
Celková bílkovina	**r**	NS	NS	NS	NS	0,390⊛
	p	NS	NS	NS	NS	0,033
Albumin	**r**	NS	−0,463⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,011	NS	NS	NS
Kreatinin	**r**	NS	NS	NS	0,472⊛	NS
	p	NS	NS	NS	0,048	NS
TSH	**r**	−0,366⊛	NS	NS	NS	NS
	p	0,046	NS	NS	NS	NS

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Tabulka 7.14: Korelace aktivit mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u zdravých kontrol

		PDC	CiS	NQR	SQR	NCCR	COX
% tělesného tuku	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}382^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	NS	NS	0,018	NS	NS
% trunk.tuku	**r**	NS	NS	$-0{,}331^{\circledast}$	NS	NS	NS
	p	NS	NS	0,045	NS	NS	NS
% aktiv.těl.hmoty	**r**	NS	NS	NS	$0{,}382^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	NS	NS	0,018	NS	NS
Respir. kvocient	**r**	NS	$0{,}324^{\circledast}$	NS	$-0{,}472^{\circledast\circledast}$	NS	NS
	p	NS	0,047	NS	0,003	NS	NS
Celk.cholesterol	**r**	$-0{,}349^{\circledast}$	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,037	NS	NS	NS	NS	NS
LDL cholesterol	**r**	$-0{,}417^{\circledast}$	NS	NS	NS	NS	NS
	p	0,011	NS	NS	NS	NS	NS
Celk.bílkovina	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}342^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	NS	NS	0,035	NS	NS
Volný tyroxin	**r**	NS	NS	NS	$0{,}322^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	NS	NS	0,049	NS	NS
hsCRP	**r**	NS	NS	$-0{,}482^{\circledast}$	NS	NS	NS
	p	NS	NS	0,015	NS	NS	NS

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Tabulka 7.15: Korelace koncentrací mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u zdravých kontrol

		PDC/CiS	NQR/CiS	SQR/CiS	NCCR/CiS	COX/CiS
% trunk.tuku	**r**	NS	−0,344⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,037	NS	NS	NS
Respir.kvocient	**r**	NS	NS	−0,520⊛⊛	NS	NS
	p	NS	NS	0,001	NS	NS
Celk.cholesterol	**r**	−0,390⊛	NS	NS	NS	NS
	p	0,019	NS	NS	NS	NS
Triacylglyceroly	**r**	NS	−0,443⊛⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,005	NS	NS	NS
LDL cholesterol	**r**	−0,367⊛	NS	NS	NS	NS
	p	0,028	NS	NS	NS	NS
Celk.bílkovina	**r**	NS	NS	−0,352⊛	NS	NS
	p	NS	NS	0,03	NS	NS
Albumin	**r**	NS	0,327⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,048	NS	NS	NS
Urea	**r**	−0,380⊛	NS	NS	NS	NS
	p	0,035	NS	NS	NS	NS
Volný tyroxin	**r**	NS	0,330⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,043	NS	NS	NS
Rezistin	**r**	NS	−0,500⊛	NS	NS	NS
	p	NS	0,013	NS	NS	NS
FGF-19	**r**	NS	NS	−0,459⊛	NS	NS
	p	NS	NS	0,016	NS	NS
FGF-21	**r**	0,469⊛	NS	NS	NS	NS
	p	0,018	NS	NS	NS	NS
hsCRP	**r**	NS	−0,651⊛⊛	NS	NS	−0,483⊛
	p	NS	0,0001	NS	NS	0,015

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

U exprese MT-ND5 jsme prokázali dvě, a to negativní korelace s hladinami TGL a FGF-21.

Exprese NDUFA-12 korelovaly negativně s hodnotami systolického tlaku krvi, BMI a obvodu pasu, s koncentracemi inzulínu, leptinu a rezistinu.

Exprese SDHA korelovaly opět negativně s hodnotami obvodu pasu a hladinami rezistinu.

Exprese CYC1 korelovaly pozitivně s hladinou HDL cholesterolu a adiponektinu a negativně s hodnotami obvodu pasu, koncentracemi rezistinu a FABP-4.

Exprese COX4/1 korelovaly pozitivně s koncentracemi adiponektinu a FGF-19 a negativně s hodnotami systolického tlaku krvi, BMI, obvodu pasu, s koncentrací inzulínu a rezistinu.

Exprese ATP5O korelovaly pozitivně s hladinou HDL cholesterolu a negativně s hodnotou respiračního kvocientu a koncentrací rezistinu.

Tabulka 7.16: Korelace expresí mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s Cushingovým syndromem (1. část)

		DLAT	CiS expr	MT-ND5	NDUFA12
sTK	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}603^{\circledast\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,003
BMI	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}460^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,031
Obvod pasu	**r**	NS	$-0{,}446^{\circledast}$	NS	$-0{,}469^{\circledast}$
	p	NS	0,037	NS	0,028
Triacylglyceroly	**r**	$-0{,}536^{\circledast}$	$-0{,}521^{\circledast}$	$-0{,}452^{\circledast}$	NS
	p	0,01	0,013	0,035	NS
HDL cholest.	**r**	NS	$0{,}503^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	0,017	NS	NS
Inzulín	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}525^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,025
TSH	**r**	$-0{,}439^{\circledast}$	NS	NS	NS
	p	0,041	NS	NS	NS
Leptin	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}495^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,043
Adiponektin	**r**	NS	$0{,}520^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	0,033	NS	NS
Rezistin	**r**	NS	$-0{,}682^{\circledast\circledast}$	NS	$-0{,}516^{\circledast}$
	p	NS	0,003	NS	0,034
FGF-21	**r**	NS	$-0{,}520^{\circledast}$	$-0{,}522^{\circledast}$	NS
	p	NS	0,033	0,032	NS
FABP-4	**r**	NS	$-0{,}505^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	0,039	NS	NS

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Tabulka 7.17: Korelace expresí mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s Cushingovým syndromem (2. část)

		SDHA	CYC1	COX4/1	ATP50
sTK	**r**	NS	NS	$-0{,}543^{\circledast\circledast}$	NS
	p	NS	NS	0,009	NS
BMI	**r**	NS	NS	$-0{,}454^{\circledast}$	NS
	p	NS	NS	0,034	NS
Obvod pasu	**r**	$-0{,}590^{\circledast\circledast}$	$-0{,}607^{\circledast\circledast}$	$-0{,}550^{\circledast\circledast}$	NS
	p	0,004	0,003	0,008	NS
RQ	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}430^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,046
HDL cholest.	**r**	NS	$0{,}438^{\circledast}$	NS	$0{,}437^{\circledast}$
	p	NS	0,042	NS	0,042
Inzulín	**r**	NS	NS	$-0{,}496^{\circledast}$	NS
	p	NS	NS	0,036	NS
Adiponektin	**r**	NS	$0{,}618^{\circledast\circledast}$	$0{,}539^{\circledast}$	NS
	p	NS	0,008	0,026	NS
Rezistin	**r**	$-0{,}819^{\circledast\circledast}$	$-0{,}777^{\circledast\circledast}$	$-0{,}746^{\circledast\circledast}$	$-0{,}647^{\circledast\circledast}$
	p	0,0001	0,0001	0,001	0,005
FGF-19	**r**	NS	NS	$0{,}488^{\circledast}$	NS
	p	NS	NS	0,047	NS
FABP-4	**r**	NS	$-0{,}495^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	0,043	NS	NS

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

7.6.2 Pacienti s akromegalií

U pacientů s akromegalií jsme našli jen málo korelací zkoumaných expresí genů mitochondriálních enzymů a komplexů s dalšími parametry.

U expresí CiS a SDHA jsme korelace neprokázali se žádnými ze sledovaných parametrů, exprese DLAT korelovaly pozitivně s hladinami LDL cholesterolu, exprese MT-ND5 s hodnotami systolického a diastolického krevního tlaku.

U expresí NDUFA12 a CYC1 jsme našli signifikantní negativní korelace s hladinami volného tyroxinu a rezistinu. Exprese COX4/1 korelovaly negativně s procentem trunkálního tuku a hladinami rezistinu. Exprese ATP5O korelovaly pozitivně s hodnotami systolického krevního tlaku a negativně s věkem pacientů a koncentracemi FABP-4.

Tabulka 7.18: Korelace expresí genů mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s akromegalií (1. část)

		DLAT	CiS expr	MT-ND5	NDUFA12
sTK	**r**	NS	NS	0,661⊛	NS
	p	NS	NS	0,014	NS
dTK	**r**	NS	NS	0,749⊛⊛	NS
	p	NS	NS	0,003	NS
LDL cholest.	**r**	0,841⊛⊛	NS	NS	NS
	p	0,0001	NS	NS	NS
Volný tyroxin	**r**	NS	NS	NS	−0,555⊛
	p	NS	NS	NS	0,049
Rezistin	**r**	NS	NS	NS	−0,613⊛
	p	NS	NS	NS	0,034

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Tabulka 7.19: Korelace expresí genů mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s akromegalií (2. část)

		SDHA	CYC1	COX4/1	ATP50
Věk	**r**	NS	NS	NS	−0,586⊛
	p	NS	NS	NS	0,035
sTK	**r**	NS	NS	NS	0,588⊛
	p	NS	NS	NS	0,035
% trunk.tuku	**r**	NS	NS	−0,783⊛	NS
	p	NS	NS	0,013	NS
Volný tyroxin	**r**	NS	−0,643⊛	NS	NS
	p	NS	0,018	NS	NS
Rezistin	**r**	NS	−0,578⊛	−0,641⊛	NS
	p	NS	0,049	0,025	NS
FABP-4	**r**	NS	NS	NS	−0,571⊛
	p	NS	NS	NS	0,041

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

7.6.3 Obézní pacienti

Exprese DLAT korelovaly u obézních pacientů pozitivně s hladinami leptinu a negativně s koncentracemi FGF-19.

Exprese CiS korelovaly rovněž negativně s hladinami FGF-19, navíc jsme prokázali negativní korelaci i s koncentracemi HDL cholesterolu.

Exprese MT-ND5 korelovaly pozitivně s hladinami urey a IGF-1 a opět jsme prokázali i negativní korelaci s koncentracemi FGF-19.

Exprese NDUFA12 korelovaly negativně s hladinami celkového a LDL cholesterolu a TSH.

U expresí SDHA a CYC1 jsme našli pouze po jedné negativní korelaci, a to opět s FGF-19.

U exprese COX4/1 jsme neprokázali ani jednu statisticky významnou korelaci se zkoumanými parametry.

Exprese ATP5O korelovaly pozitivně s hladinami rezistinu a negativně s koncentracemi FGF-19.

Tabulka 7.20: Korelace expresí genů mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s prostou obezitou (1. část)

		DLAT	CiS expr	MT-ND5	NDUFA12
Celk.cholest.	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}492^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,011
LDL cholest.	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}437^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,025
HDL cholest.	**r**	NS	$-0{,}397^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	0,045	NS	NS
Urea	**r**	NS	NS	$0{,}409^{\circledast}$	NS
	p	NS	NS	0,042	NS
TSH	**r**	NS	NS	NS	$-0{,}463^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,017
IGF-1	**r**	NS	NS	$0{,}518^{\circledast}$	NS
	p	NS	NS	0,04	NS
Leptin	**r**	$0{,}511^{\circledast}$	NS	NS	NS
	p	0,026	NS	NS	NS
FGF-19	**r**	$-0{,}523^{\circledast}$	$-0{,}851^{\circledast\circledast}$	$-0{,}564^{\circledast\circledast}$	NS
	p	0,018	0,0001	0,01	NS

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

7.6.4 Zdravé kontroly

U expresí DLAT jsme prokázali pouze jednu, a to pozitivní korelaci s hladinami urey.

Tabulka 7.21: Korelace expresí genů mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u pacientů s prostou obezitou (2. část)

		SDHA	CYC1	COX4/1	ATP50
Rezistin	**r**	NS	NS	NS	0,522⊛
	p	NS	NS	NS	0,018
FGF-19	**r**	−0,647⊛⊛	−0,586⊛⊛	NS	−0,447⊛
	p	0,002	0,007	NS	0,048

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Exprese CiS korelovaly pozitivně s hladinami HDL cholesterolu, celkové bílkoviny a FGF-19 a negativně s hodnotami BMI, obvodu pasu, procentem trunkálního tuku, s koncentracemi inzulínu a C peptidu.

Exprese MT-ND5 nekorelovaly signifikantně ani s jedním ze studovaných parametrů.

Exprese NDUFA12 korelovaly pozitivně s hodnotami systolického a diastolického krevního tlaku a hladinami albuminu a negativně s hodnotami procenta trunkálního tuku a hladinami leptinu.

Exprese SDHA korelovaly pozitivně s hladinami albuminu a negativně s hladinami leptinu.

U expresí CYC1 jsme prokázali pozitivní korelace s hodnotami systolického tlaku, s koncentracemi albuminu a kreatininu a negativní korelace s hladinami leptinu a vysoce senzitivního CRP.

Exprese COX4/1 korelovaly pozitivně s hodnotami systolického a diastolického krevního tlaku, s procentem aktivní tělesné hmoty, s hladinami albuminu, urey a kreatininu. Negativní korelace jsme u expresí COX4/1 našli s procentem celkového tělesného tuku a koncentracemi leptinu.

Exprese ATP5O korelovaly pozitivně s procentem aktivné tělesné hmoty a hladinami albuminu a negativně s procentem celkového a trunkálního tělesného tuku, s hladinami leptinu a rezistinu.

Tabulka 7.22: Korelace expresí genů mitochondriálních enzymů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u zdravých kontrol (1. část)

		DLAT	CiS expr	MT-ND5	NDUFA12
sTK	**r**	NS	NS	NS	0,627⊛⊛
	p	NS	NS	NS	0,0001
dTK	**r**	NS	NS	NS	0,463⊛
	p	NS	NS	NS	0,011
BMI	**r**	NS	−0,644⊛⊛	NS	NS
	p	NS	0,0001	NS	NS
Obvod pasu	**r**	NS	−0,445⊛	NS	NS
	p	NS	0,02	NS	NS
% trunk. tuku	**r**	NS	−0,522⊛⊛	NS	−0,383⊛
	p	NS	0,006	NS	0,045
HDL cholest.	**r**	NS	0,525⊛⊛	NS	NS
	p	NS	0,005	NS	NS
Inzulín	**r**	NS	−0,466⊛	NS	NS
	p	NS	0,022	NS	NS
C peptid	**r**	NS	−0,667⊛⊛	NS	NS
	p	NS	0,009	NS	NS
Celk. bílkovina	**r**	NS	0,473⊛	NS	NS
	p	NS	0,013	NS	NS
Albumin	**r**	NS	NS	NS	0,554⊛⊛
	p	NS	NS	NS	0,002
Urea	**r**	0,454⊛	NS	NS	NS
	p	0,022	NS	NS	NS
Leptin	**r**	NS	NS	NS	−0,418⊛
	p	NS	NS	NS	0,042
FGF-19	**r**	NS	0,504⊛	NS	NS
	p	NS	0,012	NS	NS

⊛⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

⊛ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

Tabulka 7.23: Korelace expresí genu mitochondriálních enzymu s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry u zdravých kontrol (2. část)

		SDHA	CYC1	COX4/1	ATP50
sTK	**r**	NS	0,380$^{\circledast}$	0,536$^{\circledast\circledast}$	NS
	p	NS	0,042	0,003	NS
dTK	**r**	NS	NS	0,455$^{\circledast}$	NS
	p	NS	NS	0,015	NS
% teles.tuku	**r**	NS	NS	−0,492$^{\circledast\circledast}$	−0,386$^{\circledast}$
	p	NS	NS	0,008	0,043
% trunk.tuku	**r**	NS	NS	NS	−0,501$^{\circledast\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,008
% akt.tel.hmoty	**r**	NS	NS	0,492$^{\circledast\circledast}$	0,386$^{\circledast}$
	p	NS	NS	0,008	0,043
Albumin	**r**	0,480$^{\circledast\circledast}$	0,603$^{\circledast\circledast}$	0,466$^{\circledast}$	0,519$^{\circledast\circledast}$
	p	0,01	0,001	0,014	0,006
Urea	**r**	NS	NS	0,446$^{\circledast}$	NS
	p	NS	NS	0,025	NS
Kreatinin	**r**	NS	0,480$^{\circledast}$	0,600$^{\circledast\circledast}$	NS
	p	NS	0,013	0,002	NS
Leptin	**r**	−0,588$^{\circledast\circledast}$	−0,695$^{\circledast\circledast}$	−0,680$^{\circledast\circledast}$	−0,598$^{\circledast\circledast}$
	p	0,003	0,0001	0,0001	0,002
Rezistin	**r**	NS	NS	NS	−0,501$^{\circledast}$
	p	NS	NS	NS	0,021
hsCRP	**r**	NS	−0,446$^{\circledast}$	NS	NS
	p	NS	0,033	NS	NS

$^{\circledast\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,01 (2-tailed)

$^{\circledast}$ — Korelace je signifikantní na hladině 0,05 (2-tailed)

r — korelační koeficient

p — statistická významnost

NS — není signifikantní

8. Závěr a diskuse

8.1 Tuková tkáň a její produkty v patogenezi inzulínové rezistence u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií a prostou obezitou

Tuková tkáň působí jako dynamický nárazník kontrolující hladiny volných mastných kyselin (VMK) v krvi, podobně jako působí játra a kosterní svaly na glykémii. V průběhu lačnění uvolňují adipocyty VMK do oběhu, aby se mohly stát zdrojem energie v aerobním metabolizmu tkání, postprandiálně naopak „absorbují" VMK z cirkulace a působí tak protektivně vůči nadměrnému přísunu VMK do buněk [158]. Důležitou je také funkce tukové tkáně jako endokrinního orgánu s produkcí celého spektra látek podílejících se na regulaci energetického metabolizmu, zánětlivých reakcí, s pozitivním nebo negativním efektem na aterogenezu a inzulínovou senzitivitu tkání.

Distribuce tukové tkáně a její metabolické dopady (včetně inzulínové rezistence), resp. inzulínový metabolizmus jako takový, jsou velmi komplexně regulované procesy. Důležitou roli v těchto regulacích hrají jak adipokiny, tak i látky produkované játry, kosterními svaly či dalšími tkáněmi, hormony sympatoadrenálního systému, pohlavní hormony, glukokortikoidy (GK) a růstový hormon (GH) [159, 56, 160].

V případě hyperkortizolizmu se vztah ke vzniku viscerální obezity a inzulínové rezistence vysvětluje zejména zvýšeným přímým účinkem tkáňových hladin kortizolu [109], a to zejména ve viscerální tukové tkáni. Zvýšené lokální hladiny kortizolu by mohly indukovat snížení inzulínové senzitivity jednak prostřednictvím přímého vlivu na vychytávání glukózy, jednak přes změny v endokrinních funkcích tukové tkáně [103, 161]. Ke zvýšené biologické aktivitě kortizolu dochází v důsledku zvýšené aktivace kortizolu z neaktivního kortizonu [103, 110, 111], prostřednictvím zvýšeného počtu nebo hypersenzitivity glukokortikoidních receptorů [112, 113, 114, 115, 116, 117, 118], či nedostatečných hladin kortizol-vážícího globulinu s excesivním množstvím volného kortizolu v buňkách [103, 119, 120]. V případě nadbytku GH vzniká inzulínová rezistence nezávisle na přítomnosti viscerální obezity, jelikož GH jako lipomobilizační hormon podporuje redukci množství abdominálního tuku [104, 125]. Dochází tu k četným postreceptorovým interakcím mezi GH a inzulínovou signální kaskádou v cílových buňkách s následným zhoršením inzulínové senzitivity [128, 129, 130, 131, 132].

Příkladem významných regulátorů metabolické homeostázy, které jsou primárně produkovány jinými tkáněmi (játra, pankreas, střevo) a jen v menší míře též tkání tukovou jsou fibroblastový růstový faktor 21 (FGF-21) a 19 (FGF-19) [85, 86, 96, 97, 82]. Na druhou stranu adipocytární mastné kyseliny vážící protein (FABP-4) patří mezi nejzastoupenější proteiny ve zralých adipocytech [48] a jeho produkce je zastoupená i v imunokompetentních buňkách tukové tkáně, zejména makrofázích.

V naší práci jsme prokázali, že plazmatické hladiny FGF-21 u pacientů s Cushingovým syndromem jsou ve srovnání se zdravými kontrolami významně zvýšené, ale neliší se signifikantně od koncentrací u pacientů s prostou obezitou (kde jsou

ale rovněž významně zvýšené oproti kontrolám). Tento nález naznačuje, že elevované hladiny FGF-21 u pacientů s Cushingovým syndromem souvisí spíše s obezitou a metabolickými abnormalitami indukovanými hyperkortizolizmem, než samotným přímým působením hyperkortizolemie na produkci FGF-21. Tato doměnka je podpořena též nálezem pozitivních korelací mezi FGF-21 a parametry jako obvod pasu, procento trunkálního tuku, hladina celkového cholesterolu a TGL, glykémie, glykovaného hemoglobinu, C peptidu a inzulínu, ale bez nálezu korelace s hladinami plazmatického kortizolu u jednotlivých skupin zkoumaných subjektů.

Změny v hladinách FGF-21 u pacientů s Cushingovým syndromem jsou v souladu s předešlými nálezy, že jak obezita tak přítomnost diabetes mellitus (DM) 2. typu jsou doprovázeny elevovanými koncentracemi FGF-21 [162, 84]. Zvýšené plazmatické koncentrace FGF-21 se dokonce jeví být nezávislým prediktorem rozvoje diabetu u jedinců bez poruchy glukózové homeostázy [163]. Elevované hladiny FGF-21 byly nalazeny nejenom v plazmě, ale i v cerebrospinální tekutině, kde stejně jako v plazmě pozitivně korelovaly s hmotností, BMI a tělesným obsahem tuku, plazmatickými hladinami inzulínu a parametry inzulínové rezistence [89]. Základním parametrem určujícím hladiny FGF-21 se každopádně jeví být tělesný obsah tuku [89]. To podporuje i nález snížených hladin FGF-21 u pacientů s mentální anorexií [164, 85].

Mráz et al. prokázali, že exprese mRNA FGF-21 je detekabilní nejenom v játrech, ale i v subkutánní a viscerální tukové tkáni. Signifikantně vyšší exprese mRNA FGF-21 byly ale nalezeny pouze ve viscerální tukové tkáni obézních vs štíhlých, v subkutánním tuku tyto změny zachyceny nebyly. Tukové exprese byly ale cca. 100krát nižší než exprese jaterní [84].

Podávání FGF-21 u hlodavců i primátů vedlo k významnému zlepšení celé řady metabolických abnormalit, včetně glykémie a inzulínové senzitivity, triacylglycerolémie a hladin HDL cholesterolu [80, 81, 94, 95]. Léčba FGF-21 vedla také ke snížení tělesné hmotnosti u primátů (ale ne u myší) [80, 94]. Zvýšené koncentrace FGF-21 se tedy u obézních pacientů a pacientů s Cushingovým syndromem mohou zdát poněkud paradoxní, jelikož tito pacienti vykazují známky inzulínové rezistence, obezity a dyslipidémie. Předpokládáme, že zvýšené hladiny FGF-21 u těchto pacientů reprezentují kompenzatorní odpověď organizmu s cílem zlepšit inzulínovou senzitivitu a další nepříznivé metabolické ukazatele. Objevují se i předpoklady, že se v případě obezity jedná o stav FGF-21 rezistence [95], resp. zvýšenou expresi FGF-21 pod vlivem nadměrné alimentace [93].

Plazmatické hladiny FGF-21 u pacientů s akromegalií a zdravých kontrol se významně nelišily. Tyto dvě skupiny subjektů se signifikantně neodlišovaly ani v hodnotách procenta trunkálního tuku či v bazálním výdeji energie na kilogram hmotnosti (se kterým FGF-21 rovněž významně koreloval, a to negativně). Prokázali jsme statisticky významnou negativní korelaci mezi koncentracemi FGF-21 a IGF-1, ale pouze u pacientů s Cushingovým syndromem, nikoliv u akromegaliků či dalších zkoumaných skupin subjektů. Předpokládáme, že daný nález lze vysvětlit potencovaným inhibičním účinkem růstového hormonu na lipoproteinovou lipázu v terénu zvýšených hladin kortizolu. Zmíněná lipáza je odpovědná za uvolňování volných mastných kyselin z chylomiker a VLDL částic. Volné mastné kyseliny jsou jedním z faktorů potencujících sekreci FGF-21 [124, 125, 165].

Na rozdíl od změn v koncentracích FGF-21 jsme neprokázali žádné signifi-

kantní změny v plazmatických hladinách FGF-19 při srovnání pacientů s Cushingovým syndromem, obezitou a zdravých kontrol, ani při srovnání akromegaliků a zdravých subjektů. Hladiny FGF-19 korelovaly negativně s hodnotami BMI (Cushingův syndrom), s procentem trunkálního tuku (kontroly) a pozitivně s hodnotami respiračního kvocientu (akromegalie) a HDL cholesterolu (obézní), ale pouze izolovaně u jednotlivých skupin subjektů (uvedeno v závorkách).

Experimentální studie s transgenními myšmi s nadměrnou expresí FGF-19 prokázaly řadu metabolických změn, včetně urychleného metabolizmu, zvýšeného příjmu potravy, poklesu procenta tělesného tuku, poklesu hladin sérových lipidů a zvýšené inzulínové senzitivity [78, 79, 166].

Naše výsledky naznačují, že cirkulující hladiny FGF-19 nejsou zásadně ovlivněny stavem výživy, přítomností inzulínové rezistence/diabetu, chronickým hyperkortizolizmem ani nadměrnou produkcí růstového hormonu/IGF-1. Rovněž Dostálová et al. 2008 prokázali, že ani těžká malnutrice u pacientek s mentální anorexií nemá vliv na cirkulující hladiny FGF-19 [164]. Jsme si ale vědomi, že naše závěry jsou založeny na jednorázovém změření plazmatické hladiny FGF-19 po celonočním lačnění a nemuseli jsme zachytit potenciální dynamické změny v sekreci FGF-19 nebo lokální tkáňové změny jeho koncentrace v místě produkce v závislosti na nutričních změnách.

Sérové hladiny FABP-4 u námi studovaných subjektů vykazují obdobný trend, jako plazmatické hladiny FGF-21. Jejich koncentrace jsou u pacientů s Cushingovým syndromem ve srovnání se zdravými kontrolami významně zvýšené, ale neliší se signifikantně od koncentrací u pacientů s prostou obezitou (kde jsou ale rovněž významně zvýšené oproti kontrolám). Nenalezli jsme žádné signifikantní rozdíly v sérových hladinách FABP-4 mezi akromegaliky a zdravými kontrolami.

Sérové hladiny FABP-4 korelovaly pozitivně s BMI, obvodem pasu, procentem celkového i trunkálního tělesného tuku, s hladinami TGL, LDL cholesterolu (kontroly), glykémie (obézní), či C peptidu (kontroly) a negativně s procentem aktivní tělesné hmoty, hladinami albuminu a HDL cholesterolu (Cushingův syndrom). Zajímavý je nález negativní korelace koncentrací FABP-4 s bazálním výdejem energie na kilogram hmotnosti, respiračním kvocientem (obézní) a hladinami volného tyroxinu (kontroly), který naznačuje možnou účast FABP-4 v regulaci energetické homeostázy. Podstata těchto potenciálních regulací, tj. centrální nebo periferní povaha dějů, není zatím podrobněji prozkoumána.

Sérové hladiny FABP-4 dále pozitivně korelovaly s hladinami bazálního plazmatického kortizolu, ale pouze u pacientů s akromegalií. Je otazné, jestli tato asociace souvisí s negativním vlivem GH na 11β-hydroxysteroiddehydrogenázu 1, která mění inaktivní kortizon na aktivní kortizol, mezi jiným i v tukové tkáni.

S hladinami IGF-1 koreloval FABP-4 negativně, ale opět jen izolovaně ve skupině zdravých kontrol. Ve skupině kontrol vykazoval FABP-4 také nejsilnější negativní korelaci s hladinami albuminu a pozitivní korelaci s hladinami celkové bílkoviny. U potkanů bylo prokázáno, že proteiny přijímané v potravě ovlivňují expresi IGF-1 mRNA v játrech (kasein pozitivně, proteinová restrikce negativně) [167]. To otevírá otázku možné účasti FABP-4 nejenom v lipidovém metabolizmu a glukózové homeostáze, ale i v metabolizmu proteinovém.

Změny v sérových hladinách FABP-4 u pacientů s Cushingovým syndromem jsou v souladu s předešlými nálezy, že jak obezita tak přítomnost DM 2. typu jsou doprovázeny elevovanými koncentracemi FABP-4 [52, 53, 50, 56, 55]. FABP-4 se

účastní spolu s PPAR-γ biologických procesů ovlivňujících inzulínovou senzitivitu a tělesné složení [168], významně koreluje s hladinami zánětlivých markerů asociovaných s obezitou [55], je zahrnut do lipidového metabolizmu [40, 41], aterogenezy [169, 170, 171], i do rozvoje nealkoholové steatohepatitidy u pacientů s DM 2. typu [172]. FABP-4 patří mezi faktory v nejužším vztahu k BMI, kompenzaci diabetu a inzulínové senzitivitě, a to z celého spektra hormonů produkovaných tukovou tkání, včetně těch nejvíc prostudovaných, jakými jsou adiponektin, rezistin či leptin [173, 174, 175, 55].

Pozitivní korelace FABP-4 s BMI je podtržena nálezy z vícerých studiích, kde významný pokles hmotnosti morbidně obézních jedinců (konzervativní i chirurgickou cestou) vedl k signifikantnímu poklesu hladin FABP-4 v horizontu 1 roku [57, 55]. Na druhou stranu je zajímavý nález Engla et al. v jeho studii s pacienty s 3. stupněm obesity podstupujícími laparoskopickou gastrickou bandáž. Prokázal, že po provedení výkonu došlo překvapivě k nárůstu sérových hladin FABP-4 s maximem v době největšího poklesu hmotnosti (3 měsíce po operaci). Rok po provedení výkonu byly hladiny FABP-4 i přes maximální pokles hmotnosti o 24,9 kg nezměněné oproti bazálním hladinám před výkonem. To naznačuje možnost, že FABP-4 není pouze stacionárním markerem metabolického syndromu, ale odráží také dynamické změny v objemu tukové masy [176]. Obdobně Haluzikova et al. neprokázali signifikantní rozdíl/pokles v hladinách FABP-4 u pacientek se sníženým objemem tělesného tuku při mentální anorexii oproti zdravým kontrolám [177].

Podle recentních prací tedy představuje FABP-4 významné pojítko mezi sekreční dysfunkcí tukové tkáně a dalšími metabolickými abnormalitami zahrnutými do syndromu inzulínové rezistence. Zatím ale není jasné, jestli zde FABP-4 vystupuje pouze jako marker, nebo se aktivně uplatňuje v etiopatogeneze těchto dějů.

Na závěr lze shrnout, že naše práce prokázala, že jak prostá obezita, tak obezita doprovázející hyperkortizolizmus je spojená s významně zvýšenými cirkulujícími hladinami FGF-21 a FABP-4 oproti zdravým kontrolám. Koncentrace obou látek byly srovnatelné mezi pacienty s Cushingovým syndromem a prostou obezitou. Tento fakt spolu s chybějící korelací mezi hladinami FGF-21, resp. FABP-4 a hladinami plazmatického kortizolu naznačují, že se jedná nejspíš o vliv obezity a její metabolických důsledků, nežli o samotné přímé působení hyperkortizolémie na produkci FGF-21 a FABP-4. U plazmatických hladin FGF-19 jsme nenašli žádné signifikantní rozdíly mezi zkoumanými skupinami pacientů. Absence signifikantních rozdílů cirkulujících hladin FGF-21, FGF-19 a FABP-4 mezi akromegaliky a zdravými kontrolami je v souladu s naší vstupní hypotézou, že v případě akromegalie není endokrinní dysfunkce tukové tkáně zásadní pro rozvoj inzulínové rezistence. V případě nadbytku růstového hormonu vzniká inzulínová rezistence zejména na základě četných postreceptorových interakcí mezi růstovým hormonem a inzulínovou signální kaskádou.

8.2 Mitochondriální dysfunkce v patogenezi inzulínové rezistence u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií a prostou obezitou

Významným faktorem ve vývoji inzulínové rezistence a DM 2. typu vůbec je funkčnost mitochondriálního aparátu buněk. Normálně a efektivně probíhající mitochondriální oxidační pochody (respirační řetězec s produkcí energie, metabolizmus glukózy a zejména VMK) jsou nezbytné k normální buněčné funkci a ochraně buněk před přetížením lipidovými metabolity. Jedná se jak o β-buňky pankreatu nezbytné pro dostatečnou produkci inzulínu, tak i o buňky hlavních cílových tkání inzulínu. Normálně fungující inzulínová signální kaskáda je v těchto buňkách nezbytná pro udržení glukózové homeostázy v organizmu.

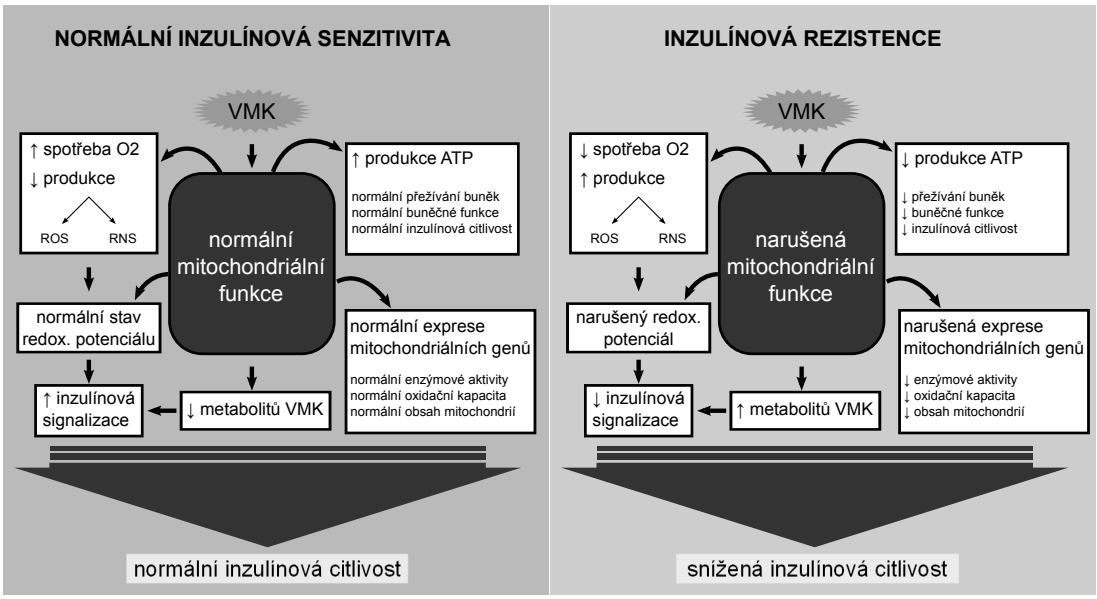
Správná funkce mitochondriálního dýchacího řetězce je důležitá nejen z hlediska dostatečné produkce energie, ale i z hlediska tvorby kyslíkových radikálů (ROS — reactive oxygen species). Pokud dojde k nerovnováze mezi jejich tvorbou a odbouráváním v mitochondrii, mohou tyto radikály následně poškozovat nejen samotnou mitochondrii, ale nepřímo i jiné buněčné komponenty a celé tkáně [136, 138, 139].

Přibývá důkazů, že ROS produkované β-buňkami pankreatu hrají důležitou roli v rozvoji DM 2. typu. ROS způsobují změny propustnosti vnitřní mitochondriální membrány pro protony vzniklé v dýchacím řetězci s následnou nedostatečnou tvorbou transmembránového potenciálu a mitochondriálního ATP, jakožto zdroje energie. To vede k nedostatečné glukózou-stimulované sekreci inzulínu v β-buňkách. ROS dále přispívají k oxidaci fosfolipidů v mitochondriálních membránách. Dochází k průniku cytochromu c do cytosolu a ke spuštění apoptosy buňky. Tímto mechanizmem pak dochází k redukci celkového počtu β-buněk pankreatu, což opět vede k oslabení inzulínové produkce a vývoji DM 2. typu [150]. Je ale známý i negativní vliv ROS na samotnou inzulínovou signalizační kaskádu [178].

Navíc byly u pacientů s DM 2. typu popsané četné morfologické změny mitochondrií v β-buňkách pankreatu [150] a změny ve smyslu mutací, polymorfizmů či epigenetických odchylek v mitochondriální DNA [179, 180, 181]. ROS jsou totiž potenciální hrozbou pro poškození mitochondriální DNA, která mimo jiné kóduje některé z proteinů dýchacího řetězce. Nesprávně fungující dýchací řetězec jakožto důsledek mutací mitochondriální DNA může vést k další nadměrné tvorbě ROS a tak k uzavření circulus vitiosus [20, 182].

Důležitou pro prevenci vzniku inzulínové rezistence je rovněž efektivně fungující mitochondriální beta-oxidace VMK v tukové tkáni. Jakmile se totiž toto přirozené skladiště triacylglycerolů (TGL) přesytí, mění se také jeho funkční vlastnosti. Hypertrofické adipocyty mají výrazně sníženou diferenciační schopnost, převažuje v nich tvorba adipocytárních hormonů vyvolávající inzulínovou rezistenci, dochází k nedostatečné inhibici hormonsenzitivní lipázy s následnou chronicky zvýšenou lipolýzou a vzestupem hladin VMK v krvi [183]. VMK následně invadují a hromadí se kromě jiného v β-buňkách, hepatocytech a myocytech, kde způsobují přetížení mitochondriálního metabolizmu s nadměrnou tvorbou ROS.

Dalším negativním vlivem nadbytku VMK je negativní regulace exprese genů zapojených do glukózového a lipidového metabolizmu [184], a to i těch mitochondriálních, včetně genů respiračního řetězce. Konečným efektem je pak vznik mito-



Obrázek 8.1: Mitochondriální funkce v podmínkách normální a porušené inzulínové senzitivity (upraveno podle [189]). RNS — reaktivní dusíkové radikály

chondriální dysfunkce a pokles mitochondriální biogeneze [185, 186, 187]. Tím se uzavírá další circulus vitiosus, jelikož nedostatečná mitochondriální funkce a biogeneze vede ke snížení beta-oxidace VMK, což aktivuje signální kaskády vedoucí ke snížení glukózového transportu [188]. Negativní efekt VMK na inzulínovou senzitivitu tkání je ale dán i přímou interakcí VMK s inzulínovou signalizační kaskádou [144, 145, 146] (Obr. 8.1).

V naší práci jsme prokázali přítomnost mitochondriálních změn u všech studovaných skupin pacientů ve srovnání s kontrolami, tj. u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií, ale nejvýrazněji se projevily u pacientů s prostou obezitou.

U pacientů s obezitou byl přítomen signifikantní pokles expresí všech zkoumaných mitochondriálních enzymů — souvisejících s metabolizmem glukózy a VMK (tj. PDC a CiS), ale i enzymů všech komplexů dýchacího řetězce. Nukleární gen kódující PDC a mitochondriální gen kódující komplex I dýchacího řetězce se exprimovaly významně méně i ve srovnání s pacienty s hyperkortizolizmem. U obézních pacientů byla dále přítomna snížená aktivita komplexu II dýchacího řetězce ve srovnání s kontrolami.

U pacientů s Cushingovým syndromem jsme prokázali významně sníženou expresi genů pro CiS a enzymatické komplexy II a I-III dýchacího řetězce. U pacientů s akromegalií byl přítomen signifikantní pokles v expresích genů pro PDC i CiS, mitochondriálního genu pro enzymatický komplex I, ale i nukleárních genů pro komplexy II a I-III. Absolutní množství komplexu I dýchacího řetězce bylo u akromegaliků paradoxně významně vyšší ve srovnání s kontrolami, byť v počtu mitochondrií se tyto skupiny významně nelišily (srovnatelná aktivita CiS). Tento nález je vzhledem k nálezu snížené exprese mitochondriálního genu tohoto komplexu pravděpodobně vysvětlitelný na úrovni jeho nukleárně kódovaných komponent. Předpokládáme, že by se mohlo jednat o kompenzační mechanizmus.

Míra snížení exprese genů pro mitochondriální enzymy u jednotlivých vyšet-

řovaných skupin pacientů odpovídá přibližně procentu výskytu poruchy glukózového metabolizmu u těchto pacientů — tj. největší procento u obézních a nejmenší u hyperkortizolemických pacientů. Tyto výsledky jsou v souladu s dřívejšími nálezy, že u jedinců s DM 2. typu dochází k celkovému snížení oxidativní kapacity mitochondrií [20]. Mitochondrie s defektem v respiračním řetězci následně není schopná zvýšit aktivitu hexokináz (enzymů zpracovávajících vstupující glukózu) nad bazální úroveň [8, 137].

Většina glukózy vstupující do pankreatické buňky přispívá svým metabolizmem k tvorbě mitochondriálního membránového potenciálu, jednak prostřednictvím tvorby acetyl-CoA, částečně prostřednictvím elevace cytosolického vápníku (Ca++), který následně vstupuje do mitochondrie. Obě látky vstupují do Krebsova cyklu (Ca++ jako kofaktor enzymů). Z Krebsova cyklu vystupují mimo jiné produkty, které zvyšují potenciál vnitřní membrány zvýšenou dodávkou protonů po jejich zapojení do respiračního řetězce. Za normálních okolností slouží k redukci membránového potenciálu ADP prostřednictvím formace ATP. V případě hyperglykémie ale dosahuje spotřeba ADP již maxima a vzniká jeho nedostatek. Potenciál vnitřní membrány tedy zůstává vysoký a vede ke zvýšené tvorbě ROS s následným poškozením a dediferenciací pankreatických buněk a ztrátou responsivity vůči glukóze. Nedostatek ADP vzniká ale i jiným mechanizmem — jeho dostupnost totiž závisí od aktivity adenin nukleotidového translokátoru (ANT), který zprostředkovává ADP-ATP výměnu mezi mitochondriální matrix a cytosolem buňky. V případě nadbytku VMK, který je typický u obézních osob, dochází k útlumu aktivity ANT a následně ke zvýšené tvorbě ROS výše uvedeným způsobem [134, 140, 141].

Úzký vztah mitochondriálních funkcí k metabolickému profilu pacientů jsme prokázali i při analýze korelací jednotlivých mitochondriálních enzymů a expresí jejich genů s antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry.

Exprese nukleárních i mitochondriálních genů pro mitochondriální enzymy měly tendenci negativně korelovat s hodnotami BMI, obvodu pasu, s procentem trunkálního tuku, hladinami TGL, C peptidu, inzulínu, s koncentracemi FGF-21 (u obézních pacientů FGF-19), FABP-4, leptinu a rezistinu. Pozitivní byly naopak korelace s procentem aktivní tělesné hmoty, hodnotami krevního tlaku, hladinami adiponektinu či HDL cholesterolu.

Samotné aktivity a koncentrace mitochondriálních enzymů měly navic tendenci negativně korelovat i s hodnotami bazálního výdeje energie na kilogram hmotnosti, s hladinami celkového a LDL cholesterolu, s hladinami glykémie, glykovaného hemoglobinu a HOMA indexem. Výjimkou byl komplex IV dýchacího řetězce (cytochrom c oxidáza) u pacientů s Cushingovým syndromem a akromegalií, kde jeho aktivita i koncentrace v mitochondrii měly tendence opačné, tj. pozitivní korelace směřovaly spíše k negativním metabolickým ukazatelům.

Negativní korelace mitochondriálních parametrů s hladinami FGF-21 je v souladu s nálezem Suomalainena et al., že zvýšené sérové koncentrace FGF-21 korelují s defekty v respiračním řetězci mitochondrií, zejména v kosterních svalech. FGF-21 dokonce považuje za potenciální biomarker pro detekci mitochondriální dysfunkce u lidí [190].

Zajímavé jsou i vztahy mitochondriálních parametrů k hormonálním hladinám. Pozitivní korelace enzymových aktivit, koncentrací i expresí jejich genů jsme prokázali s hladinami volného tyroxinu a IGF-1 a negativní s hladinami TSH. To

pravděpodobně souvisí s obecnými stimulačními účinky hormonů štítné žlázy na metabolizmus organizmu, jakožto i s účinky růstového hormonu (kterého výkonným hormonem v tkáních je právě IGF-1) na prevenci akumulace tuku a stimulaci lipidové mobilizace. Korelace s hladinami plazmatického kortizolu byly převážně negativní, našli jsme ale i dvě pozitivní (a to v případě mitochondriálního obsahu komplexu II u pacientů s Cushingovým syndromem a aktivity CiS, tj. množství mitochondrií u pacientů s akromegalií). Negativní korelace mitochondriálních parametrů s kortizolémií jsou opět vysvětlitelné nepříznivým vlivem glukokortikoidů v rámci regulací metabolizmu lipidů a glukózy.

Další zajímavou kapitolou je negativní korelace mitochondriálních paramerů k hladinám vysoce senzitivního CRP, jakožto ukazatele zánětlivého stavu v organizmu, jakým prostředí obezity a inzulínové rezistence je [60]. Tento nález souvisí opět s problematikou škodlivosti přebytku VMK v organizmu a přetížení mitochondriálního metabolizmu.

VMK jsou schopné přímé aktivace zánětlivých signalizačních kaskád prostřednictvím receptorů TLR (Toll-like receptors). Tyto signalizační dráhy jsou centrálními koordinátory zánětlivých odpovědí a procesů a indikují tvorbu zánětlivých mediátorů podporujících vznik inzulínové rezistence [22, 191]. Dále byl prokázán stimulační efekt VMK na tvorbu TNF-α, IL-1β a IL-6 v leukocytech [192, 193, 194], jakožto i přímý vliv těchto cytokinů na snížení mitochondriálních funkcí v exponovaných buňkách [195, 196].

Důležitý je také již zmiňovaný nález pozitivní korelace zkoumaných mitochondriální parametrů s procentem aktivní tělesné hmoty v organizmu.

Kosterní sval má vedle významného postavení jako místa inzulínem stimulované postprandiální utilizace glukózy i majoritní podíl na vychytávání VMK z oběhu, jelikož jejich beta-oxidace je jeho základním zdrojem energie v podmínkách lačnění. Zdravý kosterní sval je schopen přepínat svůj metabolizmus mezi dvěma základními procesy. V průběhu lačnění probíhá predominantně lipidová oxidace doprovázená vysokým vychytáváním VMK z oběhu, postprandiálně dochází ke zvýšenému vychytávání glukózy, k její oxidaci a ukládání pod vlivem inzulínové stimulace se současnou supresí lipidové oxidace. Inzulínová rezistence ve svalu znamená nejen omezenou inzulínovou stimulaci glukózového metabolizmu, ale také neschopnost inzulínu regulovat lipidový metabolizmus a celkově ztrátu schopnosti přepínat adekvátně mezi metabolizmem těchto živin. Tento jev se nazývá též metabolická inflexibilita [197, 198]. Právě snížená beta-oxidace VMK v mitochondriích během lačnění spolu s nadměrnou nabídkou VMK je významným mechanizmem vedoucím k akumulaci VMK ve svalových buňkách.

Redukce hmotnosti o 5-10% za pomoci redukční diety, ale zejména pravidelného aerobného tréninku, se považuje za základní režimové opatření v léčbě a prevenci DM 2. typu. Při pohybu totiž dochází ke zvýšení enzymové oxidační kapacity a tak k potenciaci beta-oxidace VMK z intracelulárních zásob s následným zlepšením inzulínové senzitivity kosterních svalů [199]. V rozporu s těmito fakty se zdá být pozorování, že dlouhodobá pohybová zátěž vysoce vytrvalostně trénovaných sportovců zvyšuje obsah TGL ve svalových buňkách. Jedná se však o stav úměrný zvýšené kapacitě oxidačních enzymů svalových vláken typu 1. Zdá se, že periodické zvyšování a snižování obsahu TGL ve svalech, které se objevuje při aerobním cvičení, není asociované s inzulínovou rezistencí. Naopak neschopnost, nebo nemožnost periodické deplece TGL ve svalových vláknech, což je typické

pro jedince se sedavým životním stylem, s inzulínovou rezistencí přímo souvisí [200, 201].

Závěrem lze shrnout, že poruchy mitochondriálních funkcí jsme prokázali u všech zkoumaných skupin pacientů, tj. pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií i obézních, ve srovnání se zdravými kontrolami. Míra této dysfunkce přibližně odpovídala procentu pacientů s prokázanou poruchou glukózového metabolizmu v jednotlivých skupinách. Dle našich očekávání byly tyto změny nejvýraznější ve skupině pacientů s obezitou, nejmírnější ale ve skupině subjektů s hyperkortizolizmem.

Pokud se týká otázky přímé příčinné souvislosti mitochondriální dysfunkce a nadprodukce kortizolu, resp. růstového hormonu u námi zkoumaných endokrinních diagnóz, naše výsledky nejsou zcela jednoznačné. Domníváme se ale, že nadprodukce ani jednoho z daných hormonů není etiopatogenetickou příčinou nalezených mitochondriálních změn. Pozitivní korelace vyšetřovaných mitochondriálních parametrů se sérovými hladinami IGF-1 je v kontrastu s nálezem negativních změn v mitochondriálních funkcích u pacientů s akromegalií. Převážně negativní korelace mitochondriálních parametrů s koncentracemi plazmatického kortizolu by sice odpovídaly negativním nálezům u pacientů s Cushingovým syndromem, ale u této skupiny pacientů byly tyto změny vyjádřeny nejméně. Předpokládáme tedy, že nálezy mitochondriální dysfunkce u pacientů s hyperkortizolizmem i s nadprodukcí růstového hormonu/IGF-1 jsou pouze nepřímým důsledkem dlouhodobých metabolických účinků zvýšených hladin zmíněných hormonů, resp. negativních interakcí růstového hormonu s inzulínovou signální kaskádou.

Seznam použité literatury

[1] Isomaa, B., Almgren, P., Tuomi, T., Forsén, B., Lahti, K., Nissén, M., Taskinen, M.R., Groop, L. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. Diabetes Care 2001; 24: 683–689.

[2] Montague, C.T., O'Rahilly, S. The perils and portliness: causes and consequences of visceral adiposity. Diabetes 2000; 49: 883–888.

[3] Shimomura, I., Funahashi, T., Takahashi, M., Maeda, K., Kotani, K., Nakamura, T., Yamashita, S., Miura, M., Fukuda, Y., Takemura, K., Tokunaga, K., Matsuzawa, Y. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. Nat Med 1996; 414: 799–806.

[4] Hotamisligil, G.S., Shargill, N.S., Spiegelman, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor-α: direct role in obesity-linked insulin resistance. Science 1993; 259: 87–91.

[5] Sartipy, P., Loskutoff, D.J. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2003; 100: 7265–7270.

[6] Friedman, J.M., Halaas, J.L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. Nature, 1998; 395: 763–770.

[7] Matsuzawa, Y., Funahashi, T., Kihara, S., Shimomura, I. Adiponectin and metabolic syndrome. Aterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2004; 24: 29–33.

[8] Wiederkehr, A., Wollheim, CB. Minireview: Implication of mitochondria in insulin secretion and action. Endocrinology 2006; 147(6): 2643–2649.

[9] Kershaw, E.E., Flier, J.S. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89 (6): 2548–2556.

[10] Wajchenberg, B.L. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. Endocr Rev 2000; 21(6): 697–738.

[11] Abate, N., Garg, A., Peshock, R.M., Stray-Gundersen, J., Grundy, S.M. Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. J Clin Invest 1995; 96:88–98.

[12] Goodpaster, B.H., Thaete, F.L., Simoneau, J.A., Kelley, D.E. Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle composition predict insulin sensitivity independently of visceral fat. Diabetes 1997; 46:1579–1585.

[13] Svedberg, J., Björntorp, P., Smith, U., Lönnroth, P. Free-fatty acid inhibition of insulin binding, degradation, and action in isolated rat adipocytes. Diabetes 1990; 39: 570–574.

[14] Ferrannini, E., Barrett, E.J., Bevilacqua, S., DeFronzo, R.A. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in men. J Clin Invest 1983; 72: 1737–1747.

[15] Bevilacqua, S., Bonadonna, R., Buzzigoli, G., Boni, C., Ciociaro, D., Maccari, F., Giorico, M.A., Ferrannini, E. Acute elevation of free fatty acid levels leads to hepatic insulin resistance in obese subjects. Metabolism 1987; 36: 502–506.

[16] Boden, G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. Diabetes 1995; 45: 3–10.

[17] Insulin Function, Insulin Resistance and Food Intake Control of Secretion. [online]. [cit. 2012-07-20]. Dostupné z: `http://themedicalbiochemistrypage.org/insulin.php`.

[18] Brunzell, J.D., Hokanson, J.E. Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. In Proceedings of the Conference on Therapeutic Approaches to Type 2 Diabetes. Diabetes Care 1999; 22 (9): C10-C13.

[19] Petersen, K.F., Shulman, G.I. Etiology of insulin resistance. Am J Med 2006; 119 (5): S10–16.

[20] Schrauwen, P., Hesselink, M.K.C. Oxidative Capacity, Lipotoxicity, and Mitochondrial Damage in Type 2 Diabetes. Diabetes 2004; 53: 1412–1417.

[21] Hulver, M.W., Dohm, G.L. The molecular mechanism linking muscle fat accumulation to insulin resistance. Proc Nutr Soc 2004; 63(2): 375–380.

[22] Arkan, M.C., Hevener, A.L., Greten, F.R., Maeda, S., Li, Z.W., Long, J.M., Wynshaw-Boris, A., Poli, G., Olefsky, J., Karin, M. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. Nat Med 2005; 11(2): 191–198.

[23] Després, J.P., Moorjani, S., Lupien, P.J., Tremblay, A., Nadeau, A., Bouchard, C. Genetic aspects of susceptibility to obesity and related dyslipidemias. Mol Cell Biochem 1992; 113: 151–169.

[24] Fain, J.N., Madan, A.K., Hiler, M.L., Cheema, P., Bahouth, S.W. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. Endocrinology 2004; 145: 2273–2282.

[25] Margetic, S., Gazzola, C., Pegg, G.G., Hill, R.A. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. Int J Obes Relat Metab Disord 2002; 26: 1407–1433.

[26] Bjorbaek, C., Kahn, B.B. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. Recent Prog Horm Res 2004; 59: 305–331.

[27] Flier, J.S. Clinical review 94: what's in a name? In search of leptin's physiologic role. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83: 1407–1413.

[28] Flier, J.S. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. Cell 2004; 116: 337–350.

[29] Flier, J.S., Harris, M., Hollenberg, A.N. Leptin, nutrition, and the thyroid: the why, the wherefore, and the wiring. J Clin Invest 2000; 105: 859–861.

[30] Hileman, S.M., Pierroz, D.D., Flier, J.S. Leptin, nutrition, and reproduction: timing is everything. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85: 804–807.

[31] Chan, J.L., Heist, K., DePaoli, A., Veldhuis, J.D., Mantzoros, C.S. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. J Clin Invest 2003; 111: 1409–1421.

[32] Lord, G.M., Matarese, G., Howard, J.K., Baker, R.J., Bloom, S.R., Lechler, R.I. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. Nature 1998; 394: 897–901.

[33] Cock, T.A., Auwerx, J. Leptin: cutting the fat off the bone. Lancet 2003; 362: 1572–1574.

[34] Singhal, A., Jamieson, N., Fewtrell, M. et al.: Adiponectin predicts insulin resistance but not endothelial dysfunction in zouny healthy adolescents. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90: 4615–4621.

[35] Hotta, K., Funahashi, T., Bodkin, N.L., Ortmeyer, H.K., Arita, Y., Hansen, B.C., Matsuzawa, Y. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. Diabetes 2001; 50: 1126–1133.

[36] Chandran, M., Phillips, S.A., Ciaraldi, T., Henry, R.R. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? Diabetes Care 2003; 26: 2442–245.

[37] Diez, J.J., Iglesias, P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. Eur J Endocrinol 2003; 148: 293–300.

[38] Kubota, N., Terauchi, Y., Yamauchi, T., Kubota, T., Moroi, M., Matsui, J., Eto, K., Yamashita, T., Kamon, J., Satoh, H., Yano, W., Froguel, P., Nagai, R., Kimura, S., Kadowaki, T., Noda, T. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. J Biol Chem 2002; 277: 25863–2586.

[39] Maeda, N., Shimomura, I., Kishida, K., Nishizawa, H., Matsuda, M., Nagaretani, H., Furuyama, N., Kondo, H., Takahashi, M., Arita, Y., Komuro, R., Ouchi, N., Kihara, S., Tochino, Y., Okutomi, K., Horie, M., Takeda, S., Aoyama, T., Funahashi, T., Matsuzawa, Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. Nat Med 2002; 8: 731–737.

[40] Binas, B., Danneberg, H., McWhir, J., Mullins, L., Clark, A.J. Requirement for the heart-type fatty acid binding protein in cardiac fatty acid utilization. Faseb J 1999; 13: 805–812.

[41] Levy, E., Menard, D., Delvin, E., Stan, S., Mitchell, G., Lambert, M., Ziv, E., Feoli-Fonseca, J.C., Seidman, E. The polymorphism at codon 54 of the FABP2 gene increases fat absorption in human intestinal explants. J Biol Chem 2001; 276: 39679–39684.

[42] Wolfrum, C., Borrmann, C.M., Borchers, T., Spener, F. Fatty acids and hypolipidemic drugs regulate peroxisome proliferator-activated receptors alpha - and gamma-mediated gene expression via liver fatty acid binding protein: a signaling path to the nucleus. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 2323–2328.

[43] Chmurzynska, A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. J Appl Genet 2006; 47: 39–48.

[44] Coe, N.R., Bernlohr, D.A. Physiological properties and functions of intracellular fatty acid binding proteins. Biochim Biophys Acta 1998; 1391: 287–306.

[45] Hertzel, A.V., Bernlohr, D.A. The mammalian fatty acid-binding protein multigene family: molecular and genetic insights into function. Trends Endocrinol Metab 2000; 11: 175–180.

[46] Boord, J.B., Fazio, S., Linton, M.F. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis. Curr Opin Lipidol 2002; 13:141–147.

[47] Smith, E.R., Storch, J. The Adipocyte Fatty Acid-binding Protein Binds to Membranes by Electrostatic Interactions. J Biol Chem 1999; 274 (50): 35325–35330.

[48] Makowski, L., Hotamisligil, G.S. Fatty acid binding proteins–the evolutionary crossroads of inflammatory and metabolic responses. J Nutr 2004; 134: 2464S-2468S.

[49] Baar, R.A., Dingfelder, C.S., Smith, L.A., Bernlohr, D.A., Wu, C., Lange, A.J., Parks, E.J. Investigation of in vivo fatty acid metabolism in AFABP/aP2(-/-) mice. Am J Physiol Endocrinol Metab 2005; 288(1): E187–193.

[50] Xu, A., Wang, Y., Xu, J.Y., Stejskal, D., Tam, S., Zhang, J., Wat, N.M., Wong, W.K., Lam, K.S. Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. Clin Chem 2006; 52: 405–413.

[51] Makowski, L., Brittingham, K.C., Reynolds, J.M., Suttles, J., Hotamisligil, G.S. The fatty acid-binding protein, aP2, coordinates macrophage cholesterol trafficking and inflammatory activity. Macrophage expression of aP2 impacts peroxisome proliferator-activated receptor gamma and IkappaB kinase activities. J Biol Chem 2005; 280(13): 12888–12895.

[52] Karpisek, M., Stejskal, D., Kotolova, H., Kollar, P., Janoutova, G., Ochmanova, R., Cizek, L, Horakova, D., Yahia, R.B., Lichnovska, R., Janout, V. Treatment with atorvastatin reduces serum adipocyte-fatty acid binding protein value in patients with hyperlipidaemia. Eur J Clin Invest 2007; 37: 637- 642.

[53] Stejskal, D., Karpisek, M. Adipocyte fatty acid binding protein in a Caucasian population: a new marker of metabolic syndrome? Eur J Clin Invest 2006; 36: 621–625.

[54] Xu, A., Tso, A.W., Cheung, B.M., Wang, Y., Wat, N.M., Fong, C.H., Yeung, D.C., Janus, E.D., Sham, P.C., Lam, K.S. Circulating adipocyte-fatty acid binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study. Circulation 2007; 115: 1537–1543.

[55] Terra, X., Quintero, Y., Auguet, T., Porras, J.A., Hernández, M., Sabench, F., Aguilar, C., Luna, A.M., Del Castillo, D., Richart, C. FABP 4 is associated with inflammatory markers and metabolic syndrome in morbidly obese women. Eur J Endocrinol 2011; 164(4): 539–547.

[56] Haluzik, M.M., Anderlova, K., Dolezalova, R., Adamikova, A., Haluzikova, D., Housova, J., Svacina, S., Haluzik, M. Serum adipocyte fatty acid binding protein levels in patients with type 2 diabetes mellitus and obesity: the influence of fenofibrate treatment. Physiol Res 2009; 58(1): 93–99.

[57] Reinehr, T., Stoffel-Wagner, B., Roth, C.L. Adipocyte fatty acid-binding protein in obese children before and after weight loss. Metabolism 2007; 56(12): 1735–1741.

[58] Maeda, K., Cao, H., Kono, K., Gorgun, C.Z., Furuhashi, M., Uysal, K.T., Cao, Q., Atsumi, G., Malone, H., Krishnan, B., Minokoshi, Y., Kahn, B.B., Parker, R.A., Hotamisligil, G.S. Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes. Cell Metab 2005; 1:107–119.

[59] Furuhashi, M., Tuncman, G., Gorgun, C.Z., Makowski, L., Atsumi, G., Vaillancourt, E., Kono, K., Babaev, V.R., Fazio, S., Linton, M.F.,Sulsky, R., Robl, J.A., Parker, R.A., Hotamisligil, G.S. Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. Nature 2007; 447: 959–965.

[60] Fain, J.N. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. Vitam Horm. 2006; 74: 443–77.

[61] Meier, C.A., Thalmann, S. White adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. Bull Acad Natl Med. 2007; 191(4–5): 897–910.

[62] Banerjee, R.R., Lazar, M.A. Resistin: molecular history and prognosis. J Mol Med 2003; 81: 218–226.

[63] Steppan, C.M., Bailey, S.T., Bhat, S., Brown, E.J., Banerjee, R.R., Wright, C.M., Patel, H.R., Ahima, R.S., Lazar, M.A.. The hormone resistin links obesity to diabetes. Nature 2001; 409: 307–312.

[64] Degawa-Yamauchi, M.B.J.E., Juliar, B.E., Watson, W., Kerr, K., Jones, R.M., Zhu, Q., Considine, R.V. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2003; 88: 5452–5455.

[65] Banerjee, R.R., Rangwala, S.M., Shapiro, J.S., Rich, A.S., Rhoades, B., Qi, Y., Wang, J., Rajala, M.W., Pocai, A., Scherer, P.E., Steppan, C.M., Ahima, R.S., Obici, S., Rossetti, L., Lazar, M.A. Regulation of fasted blood glucose by resistin. Science 2004; 303: 1195–1198.

[66] Adeghate, E. An update on the biology and physiology of resistin. Cellular and Molecular Life Sciences 2004; 61: 2485–2496.

[67] Vendrell, J., Broch, M., Vilarrasa, N., Molina, A., Gomez, J.M., Gutierrez, C., Simon, I., Soler, J., Richart, C. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. Obesity Research 2004; 12: 962–971.

[68] Milan, G., Granzotto, M., Scarda, A., Calcagno, A., Pagano, C., Federspil, G., Vettor, R. Regional adipose tissue differences of resistin and adiponectin expression in genetically obese rats: effect of weight loss. Obesity Research 2002; 10: 1095–1103.

[69] Silswal, N., Singh, A.K., Aruna, B., Mukhopadhyay, S., Ghosh, S., Ehtesham, N.Z. Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophages by NF-kappaB-dependant pathway. Biochem Biochys Res Commun 2005; 334(4): 1092–1101.

[70] Verma, S., Li, S.H., Wang, C.H., Fedak, P.W., Li, R.K., Weisel, R.D., Mickle, D.A. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidnce of adipokine-endothelial interaction. Circulation 2003; 108(6): 736–740.

[71] Lu, S.C., Shieh, W.Y., Chen, C.Y., HSU, S.C., Chen, H.L. Lipopolysaccharide increases resistin gene expression in vivo and in vitro. FEBS Lett 2002; 530(1–3): 158–162.

[72] Heilbronn, L.K., Rood, J., Janderova, L., Albu, J.B., Kelley, D.E., Ravussin, E., Smith, S.R. Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89(4):1844–1848.

[73] Savage, D.B., Sewter, C.P., Klenk, E.S., Segal, D.G., Vidal-Puig, A., Considine, R.V., O'Rahilly. S. Resistin/Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator activated receptor-gamma action in humans. Diabetes 2001; 50: 2199–2202.

[74] Way, J.M., Gorgun, C.Z., Tong, Q., Uysal, K.T., Brown, K.K., Harrington, W.W., Oliver, W.R. Jr, Wilson, T.M., Kliewer, S.A., Hotamisligil, G.S. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. Journal of Biological Chemistry 2001; 276: 25651–25653.

[75] Bottecher, R.T., Niehrs, C. Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development. Endocr Rev2005; 26: 63–77.

[76] Grose, R., Dickson, C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. Cytokine Growth Factor Rev 2005; 16: 179–186.

[77] Presta, M., Dell'era, P., Mitola, S., Moroni, E., Ronca, R., Rusnati, M. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. Cytokine Growth Factor Rev 2005; 16: 159–178.

[78] Tomlinson, E., Fu, L., John, L., Hultgren, B., Huang, X., Renz, M., Stephan, J.P., Tsai, S.P., Powell-Braxton, L., French, D., Stewart, T.A. Transgenic mice expressing human fibroblast growth factor-19 display increased metabolic rate and decreased adiposity. Endocrinology 2002; 143: 1741–1747.

[79] Fu, L., John, L.M., Adams, S.H., Yu, X.X., Tomlinson, E., Renz, M., Williams, P.M., Soriano, R., Corpuz, R., Moffat, B., Vandlen, R., Simmons, L., Foster, J., Stephan, J.P., Tsai, S.P., Stewart, T.A. Fibroblast growth factor 19 increases metabolic rate and reverses dietary and leptin-deficient diabetes. Endocrinology 2004; 145: 2594–2603.

[80] Kharitonenkov, A., Shiyanova, T.L., Koester, A., Ford, A.M., Micanovic, R., Galbreath, E.J., Sandusky, G.E., Hammond, L.J., Moyers, J.S., Owens, R.A., Gromada, J., Brozinick, J.T., Hawkins, E.D., Wroblewski, V.J., Li, D.S., Mehrbod, F., Jaskunas, S.R., Shanafelt, A.B. FGF-21 as a novel metabolic regulator. J Clin Invest 2005; 115: 1627–1635.

[81] Wente, W., Efanov, A.M., Brenner, M., Kharitonenkov, A., Koester, A., Sandusky, G.E., Sewing, S., Treinies, I., Zitzer, H., Gromada, J. Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. Diabetes 2006; 55: 2470–2478.

[82] Kharitonenkov, A., Larsen, P. FGF21 reloaded: challenges of a rapidly growing field. Trends Endocrinol Metab 2011; 22(3): 81–86.

[83] Nishimura, T., Nakatake, Y., Konishi, M., Itoh, N. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. Biochim Biophys Acta 2000; 1492: 203–206.

[84] Mraz, M., Bartlova, M., Lacinova, Z., Michalsky, D., Kasalicky, M., Haluzikova, D., Matoulek, M., Dostalova, I., Humenanska, V., Haluzik, M. Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity; Clin Endocrinol (Oxf) 2009; 71(3): 369–375.

[85] Dostalova, I., Haluzikova, D., Haluzik, M. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator with potential therapeutic properties in obesity/type 2 diabetes mellitus. Physiol Res 2009; 58(1): 1–7.

[86] Kharitonenkov, A., Shanafelt, A.B. Fibroblast growth factor-21 as a therapeutic agent for metabolic diseases. BioDrugs 2008; 22(1): 37–44.

[87] Inagaki, T., Dutchak, P., Zhao, G., Ding, X., Gautron, L., Parameswara, V., Li, Y., Goetz, R., Mohammadi, M., Esser, V., Elmquist, J.K., Gerard, R.D., Burgess, S.C., Hammer, R.E., Mangelsdorf, D.J., Kliewer, S.A. Endocrine Regulation of the Fasting Response by PPARalpha-Mediated Induction of Fibroblast Growth Factor 21. Cell Metab 2007; 5: 415–425.

[88] Badman, M.K., Pissios, P., Kennedy, R., Koukos, G., Flier, J.S., Maratos-Flier, E. Hepatic Fibroblast Growth Factor 21 Is Regulated by PPARalpha and Is a Key Mediator of Hepatic Lipid Metabolism in Ketotic States. Cell Metab 2007; 5: 426–437.

[89] Tan, B.K., Hallschmid, M., Adya, R., Kern, W., Lehnert, H., Randeva, H.S. Fibroblast growth factor 21 (FGF21) in human cerebrospinal fluid: relationship with plasma FGF21 and body adiposity. Diabetes 2011; 60(11): 2758–2762.

[90] Mashili, F.L., Austin, R.L., Deshmukh, A.S., Fritz, T., Caidahl, K., Bergdahl, K., Zierath, J.R., Chibalin, A.V., Moller, D.E., Kharitonenkov, A., Krook, A. Direct effects of FGF21 on glucose uptake in human skeletal muscle: implications for type 2 diabetes and obesity. Diabetes Metab Res Rev 2011; 27(3): 286–297.

[91] Lundasen, T., Hunt, M.C., Nilsson, L.M., Sanyal, S., Angelin, B., Alexson, S.E., Rudling, M. PPARalpha is a key regulator of hepatic FGF21. Biochem Biophys Res Commun 2007; 360: 437–440.

[92] Domouzoglou, E.M., Maratos-Flier, E. Fibroblast growth factor 21 is a metabolic regulator that plays a role in the adaptation to ketosis. Am J Clin Nutr 2011; 93(4): 901S-905.

[93] Uebanso, T., Taketani, Y., Yamamoto, H., Amo, K., Ominami, H., Arai, H., Takei, Y., Masuda, M., Tanimura, A., Harada, N., Yamanaka-Okumura, H., Takeda, E. Paradoxical regulation of human FGF21 by both fasting and feeding signals: is FGF21 a nutritional adaptation factor? PLoS One 2011; 6(8): e22976.

[94] Kharitonenkov, A., Wroblewski, V.J., Koester, A., Chen, Y.F., Clutinger, C.K., Tigno, X.T., Hansen, B.C., Shanafeld, A.B., Etgen, G.J. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. Endocrinology 2007; 148: 774–781.

[95] Kralisch, S., Fasshauer, M. Fibroblast growth factor 21: effects on carbohydrate and lipid metabolism in health and disease. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2011; 14(4): 354–359.

[96] Jones, S. Mini-review: endocrine actions of fibroblast growth factor 19. Mol Pharm 2008; 5: 42–48.

[97] Lundasen, T., Galman, C., Angelin, B., Rudling, M. Circulating intestinal fibroblast growth factor 19 has a pronounced diurnal variation and modulates hepatic bile acid synthesis in man. J Intern Med 2006; 260: 530–536.

[98] Gälman, C., Angelin, B., Rudling, M. Pronounced variation in bile acid synthesis in humans is related to gender, hypertriglyceridaemia and circulating levels of fibroblast growth factor 19. J Intern Med. 2011; 270(6): 580–588.

[99] Pivonello, R., Faggiano, A., Lombardi, G., Colao, A. The metabolic syndrome and cardiovascular risk in Cushing's syndrome. Endocrinol Metab Clin North Am 2005; 34(2): 327–39.

[100] Walker, B.R. Glucocorticoids and Cardiovascular Disease. European Journal of Endocrinology 2007; 157 (5): 545–559.

[101] Vondra, K., Hampl, R. Glukokortikoidy a diabetes mellitus. Vnitř Lék 2006; 5: 493–497.

[102] Watts, L.M., Machem, V.P., Leedom, T.A. et al. Reduction of Hepatic and Adipose Tissue Glucocorticoid Receptor Expression With Antisense Oligonucleotides Improves Hyperglycemia and Hyperlipidemia in Diabetic Rodents Without Causing Systemic Glucocorticoid Antagonism. Diabetes 2005; 54: 1846–1853.

[103] Wang, M. The role of glucocorticoid action in the pathophysiology of the metabolic syndrome. Nutr Metab 2005; 2: 3–17.

[104] Marek, J., Hána, V., Kršek, M. How corticoids, growth hormone and oestrogens influence lipids and atherosclerosis. Vnitř Lék 2007; 53(4): 386–390.

[105] Walker, B.R., Soderberg, S., Lindahl, B. et al. Independent effects of obesity and cortisol in predicting cardiovascular risk factors in men and women. Journal of Internal Medicine 2000; 247: 198–204.

[106] Oltmanns, K.M., Dodt, B., Schulte, B. et al. Cortisol correlates with metabolic disturbances in a population study of type 2 diabetic patients. Eur J Endocrinol 2006; 154(2): 325–331.

[107] Rebuffé-Scrive, M., Lundholm, K., Björntorp, P. Glucocorticoid hormone binding to human adipose tissue. Eur J Clin Invest 1985; 15: 267–27.

[108] Pasquali, R. Visceral obesity: a condition of altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis function? Program of the Satellite Symposium of the Eighth International Congress on Obesity: Endocrinology of Obesity: Basic Clinical and Therapeutic Aspects 1998, Venice, Italy (Abstract).

[109] Purnell, J.Q., Kahn, S.E., Samuels, M.H., Brandon, D., Loriaux, D.L., Brunzell, J.D. Enhanced cortisol production rates, free cortisol, and 11beta-HSD-1 expression correlate with visceral fat and insulin resistance in men: effect of weight loss. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009; 296: E351–357.

[110] Masuzaki, H., Flier, J.S. Tissue-specific glucocorticoid reactivating enzyme, 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 beta-HSD1) - a promising drug target for the treatment of metabolic syndrome. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 2003; 3(4): 255–262.

[111] Wake, D.J., Walker, B.R. Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in obesity. Endocrine 2006; 29(1): 101–108.

[112] Van Rossum, E.F.C., Lamberts, S.W.J. Polymorphisms in the Glucocorticoid Receptor Gene and Their Associations with Metabolic Parameters and Body Composition. Recent Prog Horm Res 2004; 59: 333–357.

[113] Lin, R.C.I., Wang, X.L., Morris, B.J. Association of Coronary Artery Disease With Glucocorticoid Receptor N363S Variant. Hypertension 2003; 41: 404–407.

[114] Rosmond, R. The Glucocorticoid Receptor Gene and Its Association to Metabolic Syndrome. Obesity Research 2002; 10: 1078–1086.

[115] Van Rossum, E.F., Koper, J.W., Huizenga, N.A. et al. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene, which decreases sensitivity to glucocorticoids in vivo, is associated with low insulin and cholesterol levels. Diabetes 2002; 51: 3128 -3134.

[116] Van Rossum, E.F.C., Feelders, R.A., Van den Beld, A.W. et al. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with better survival and low C-reactive protein levels in elderly men. Am J Med 2004; 117(3): 158–162.

[117] Van Rossum, E.F.C., De Jong, F.J., Den Heijer, T. et al. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene protects against white matter lesions and dementia, 82. In: Program & Abstracts of the 85th Annual Meeting of The Endocrine Society, Philadelphia 2003.

[118] Van Rossum, E.F.C., Voorhoeve, P.G., Te Velde, S.J. et al. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with a beneficial body composition and muscle strength in young adults. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89 (8): 4004–4009.

[119] Fernandez-Real, J.M., Puget, M., Grasa, M. et al. Serum Corticosteroid-Binding Globulin Concentration and Insulin Resistance Syndrome: A Population Study. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87 (10): 4686–4690.

[120] 104. Fernandez-Real, J.M., Pugeat, M., López-Bermejo, A. et al. Corticosteroid-binding globulin affects the relationship between circulating adiponectin and cortisol in men and women. Metabolism 2005; 54(5): 584–589.

[121] Pasarica, M.., Zachwieja, J.J., Dejonge, L. et al. Effect of growth hormone on body composition and visceral adiposity in middle-aged men with visceral obesity. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92(11): 4265–4270.

[122] Ahmad, A.M., Hopkins, M.T., Thomas, J., Ibrahim, H., Fraser, W.D., Vora, J.P. Body composition and quality of life in adults with growth hormone deficiency; effects of low-dose growth hormone replacement. Clin Endocrinol 2001;54(6): 709–717.

[123] Vilar, L., Naves, L.A., Costa, S.S., Abdalla, L.F., Coelho, C.E., Casulari, L.A. Increase of classic and nonclassic cardiovascular risk factors in patients with acromegaly. Endocr Pract 2007; 13(4): 363–72.

[124] Wajchenberg, B.L. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. Endocr Rev 2000; 21(6): 697–738.

[125] Franco, C., Brandberg, J., Lönn, L. et al. Growth Hormone Treatment Reduces Abdominal Visceral Fat in Postmenopausal Women with Abdominal Obesity: A 12-Month Placebo-Controlled Trial. J Clin Endocrinol Metab 2004; 90(3): 1466–1474.

[126] Ridderstrale, M. Signaling Mechanism for the Insulin-like Effects of Growth Hormone - Another Example of a Classical Hormonal Negative Feedback Loop. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 2005; 5(1): 79–92.

[127] Gaur, S., Schwartz, Y., Tai, L.R., Frick, G.B., Goodman, H.M. Insulin Produces a Growth Hormone-Like Increase in Intracellular Free Calcium Concentration in Okadaic Acid-Treated Adipocytes. Endocrinology 1998; 139 (12): 4953–4961.

[128] Dominici, F.P., Turyn, D. Growth Hormone-Induced Alterations in the Insulin-Signaling System. Exp Biol Med 2002; 227: 149–157.

[129] Del Rincon, J.P., Iida, K., Gaylinn, B.D. et al. Growth Hormone Regulation of p85 alpha Expression and Phosphoinositide 3-Kinase Activity in Adipose Tissue. Mechanism for Growth Hormone-Mediated Insulin Resistance. Diabetes 2007; 56: 1638–1646.

[130] Barbour, L.A., Rahman, S.M., Gurevich, I. et al. Increased P85-alpha Is a Potent Negative Regulator of Skeletal Muscle Insulin Signaling and Induces in Vivo Insulin Resistance Associated with Growth Hormone Excess. J Biol Chem 2005; 280 (45): 37489–37494.

[131] Ueki, K., Kondo, T., Kahn, C.R. Suppressor of cytokine signaling R1 (SOCS-1) and SOCS-3 cause insulin resistance through inhibition of tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins by discrete mechanisms. Mol Cell Biol 2004; 24(12): 5434–5446.

[132] Fasshauer, M., Kralisch, S., Klier, M., Lossner, U., Bluher, M., Klein, J., Paschke, R. Insulin resistance-inducing cytokines differentially regulate SOCS mRNA expression via growth factor- and Jak/Stat-signaling pathways in 3T3-L1 adipocytes. J Endocrinol 2004; 181(1): 129–138.

[133] Semenkovich, C.F. Insulin resistance and atherosclerosis. J Clin Invest 2006; 116(7): 1813–1822.

[134] Maassen, J.A. Mitochondrial dysfunction in adipocytes: the culpirit in type 2 diabetes? Diabetologia 2006; 49: 619–620.

[135] Mariana Ruiz Villarreal. A diagram showing a mitochondrion of the eukaryotic cell. `http://en.wikipedia.org/wiki/File:Animal_mitochondrion_diagram_en_%28edit%29.svg`.

[136] Fromenty, B., Robin, M.A., Igoudjil, A., Mansouri, A., Pessayre, D. The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH. Diabetes & Metabolism 2004; 30 (2): 121–138.

[137] Gerbitz, K.D., Gempel, K., Brdiczka, D. Mitochondria and diabetes. Genetic, biochemical, and clinical implications of the cellular energy circuit. Diabetes 1996; 45(2): 113–26.

[138] Indo, H.P., Davidson, M., Yen, H.C., Suenaga, S., Tomita, K., Nishii, T., Higuchi, M., Koga, Y., Ozawa, T., Majima, H.J. Evidence of ROS generation by mitochondria in cells with impaired electron transport chain and mitochondrial DNA damage. Mitochondrion 2007; 7: 106–118.

[139] Newsholme, P., Gaudel, C., Krause, M. Mitochondria and diabetes. An intriguing pathogenetic role. Adv Exp Med Biol 2012; 942: 235–247.

[140] Maassen, J.A., 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. Mitochondrial Diabetes Molecular Mechanisms and Clinical Presentation. Diabetes 2004; 53: S103-S109.

[141] Maassen, J.A., van Essen, E., van den Ouweland, J.M., Lemkes, H.H. Molecular and clinical aspects of mitochondrial diabetes mellitus. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2001; 109(3): 127–34.

[142] Bartlett, K., Eaton, S. Mitochondrial beta-oxidation. European Journal of Biochemistry 2004; 271 (3): 462.

[143] Sugden, M.C., Holness, M.J. Recent advances in mechanisms regulating glucose oxidation at the level of the pyruvate dehydrogenase complex by PDKs. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003; 284: E855-E862.

[144] Hirabara, S.M., Curi, R., Maechler, P. Saturated fatty acid-induced insulin resistance is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells. J Cell Physiol 2010; 222: 187–194.

[145] Consitt, L.A., Bell, J.A., Houmard, J.A. Intramuscular lipid metabolism, insulin action, and obesity. IUBMB Life 2009; 61: 47–55.

[146] Samuel, V.T. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. Trends Endocrinol Metab 2011; 22: 60–65.

[147] Slawik, M., Vidal-Puig, A.J. Lipotoxicity, overnutrition and energy metabolism in aging. Ageing Res Rev 2006; 5(2):144–64.

[148] Unger, R.H. Lipotoxic diseases. Annu Rev Med 2002; 53: 319–36.

[149] Pessayre, D., Fromenty, B., Mansouri, A. Mitochondrial injury in steatohepatitis. Eur J Gastroenterol Hepatol 2004; 16(11): 1095–105.

[150] Ma, Z.A. The role of peroxidation of mitochondrial membrane phospholipids in pancreatic β-cell failure. Curr Diabetes Rev. 2012; 8(1): 69–75.

[151] Weir, J.B. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. J Physiol 1949; 109: 1–9.

[152] Gellerich, F.N., Deschauer, M., Chen, Y., Muller, T., Neudecker, S., Zierz, S. Mitochondrial respiratory rates and activities of respiratory chain complexes correlate linearly with heteroplasmy of deleted mtDNA without threshold and independently of deletion size. Biochim Biophys Acta 2002; 1556: 41–52.

[153] Fox, J.E.B., Reynolds, C.C., Boyles, J.K. Studying the platelet cytoskeleton in Triton X-100 lysates. Methods in Enzymology. Academic Press New York 1992; 215: 42–47.

[154] Bohm, M., Honzik, T., Snajperkova, A., Knopova, S., Zeman, J., Hansikova, H. Activities of respiratory chain complexes in isolated platelets. Klin Biochem Metab 2003; 11: 97–101.

[155] Srere, P.A. Citrate synthase, in Colowick, S. P., Kaplan, N. O. (eds): Methods in Enzymology. Academic Press New York 1969; 13: 3–11.

[156] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry 1951; 193: 265–275.

[157] Constantin-Teodosiu, D., Cederblad, G., Hultman, E. A sensitive radioisotopic assay of pyruvate dehydrogenase complex in human muscle tissue. Anal Biochem 1991; 198: 347–351.

[158] Sharma, A.M., Staels, B. Review: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and adipose tissue-understanding obesity-related changes in regulation of lipid and glucose metabolism.J Clin Endocrinol Metab 2007; 92(2): 386–95.

[159] Anderlova, K., Dolezalova, R., Housova, J., Bosanska, L., Haluzikova, D., Kremen, J., Skrha, J., Haluzik, M. Influence of PPAR-alpha agonist fenofibrate on insulin sensitivity and selected adipose tissue-derived hormones in obese women with type 2 diabetes. Physiol Res 2007; 56(5): 579–86.

[160] Havel, P.J. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. Curr Opin Lipidol 2002; 13(1): 51–59.

[161] Andrews, R.C., Walker, B.R. Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. Clin Sci (Lond) 1999; 96: 513–23.

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

[163] Chen, C., Cheung, B.M., Tso, A.W., Wang, Y., Law, L.S., Ong, K.L., Wat, N.M., Xu, A., Lam, K.S. High plasma level of fibroblast growth factor 21 is an Independent predictor of type 2 diabetes: a 5.4-year population-based prospective study in Chinese subjects. Diabetes Care 2011; 34(9): 2113–2115.

[164] Dostalova, I., Kavalkova, P., Haluzikova, D., Lacinova, Z., Mraz, M., Papezova, H., Haluzik, M. Plasma concentrations of fibroblast growth factor 19 and 21 in patients with anorexia nervosa. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93(9): 3627–2632.

[165] Mead, J.R., Irvine, S.A., Ramji, D.P. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. J. Mol. Med. 2003; 80 (12): 753–769.

[166] Wu, A.L., Coulter, S., Liddle, C., Wong, A., Eastham-Anderson, J., French, D.M., Peterson, A.S., Sonoda, J. FGF19 regulates cell proliferation, glucose and bile acid metabolism via FGFR4-dependent and independent pathways. PLoS One 2011; 6(3): e17868.

[167] Miura, Y., Kato, H., Noguchi, T. Effect of dietary proteins on insulin-like growth factor-1 (IGF-1) messenger ribonucleic acid content in rat liver. British Journal of Nutrition 2007; 67 (2): 257.

[168] Damcott, C.M., Moffett, S.P., Feingold, E., Barmada, M.M., Marshall, J.A., Hamman, R.F., Ferrell, R.E. Genetic variation in fatty acid-binding protein-4 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma interactively influence insulin sensitivity and body composition in males. Metabolism 2004; 53(3): 303–309.

[169] Fu, Y., Luo, L., Luo, N., Garvey, W.T. Lipid metabolism mediated by adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene expression in human THP-1 macrophages. Atherosclerosis 2006; 188(1): 102–111.

[170] Fu, Y., Luo, N., Lopes-Virella, M.F., Garvey, W.T. The adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene facilitates foam cell formation in human THP-1 macrophages. Atherosclerosis 2002; 165(2): 259–269.

[171] Kalay, N., Yarlioglues, M., Ardic, I., Kaya, M.G., Vardar, A., Inanc, T., Dogan, A., Ikizceli, I., Koç, F., Oguzhan, A., Ergin, A. The role of heart-type fatty acid-binding protein in predicting properties of coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndrome. Coron Artery Dis 2010; 21(7): 435–440.

[172] Koh, J.H., Shin, Y.G., Nam, S.M., Lee, M.Y., Chung, C.H., Shin, J.Y. Serum adipocyte fatty acid-binding protein levels are associated with nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients. Diabetes Care 2009; 32: 147–152.

[173] Anderlova, K., Kremen, J., Dolezalova, R., Housova, J., Haluzikova, D., Kunesova, M., Haluzik, M. The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women. Physiol Res 2006; 55: 277–283.

[174] McTernan, C.L., McTernan, P.G., Harte, A.L., Levick, P.L., Barnett, A.H., Kumar, S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. Lancet 2002; 359: 46–47.

[175] Weyer, C., Funahashi, T., Tanaka, S., Hotta, K., Matsuzawa, Y., Pratley, R.E., Tataranni, P.A. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86: 1930–1935.

[176] Engl, J., Ciardi, C., Tatarczyk, T., Kaser, S., Laimer, M., Laimer, E., Weiss, H., Aigner, F., Molnar, C., Tilg, H., Patsch, J.R., Ebenbichler, C.F. A-FABP–a biomarker associated with the metabolic syndrome and/or an indicator of weight change? Obesity (Silver Spring) 2008; 16: 1838–1842.

[177] Haluzikova, D., Dostalova, I., Kavalkova, P., Roubicek, T., Mraz, M., Papezova, H., Haluzik, M. Serum concentrations of adipocyte fatty acid binding protein in patients with anorexia nervosa. Physiol Res 2009; 58(4): 577–581.

[178] Bloch-Damti, A., Bashan, N. Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. Antioxid Redox Signal 2005; 7: 1553–1567.

[179] Guo, L.J., Oshida, Y., Fuku, N., Takeyasu, T., Fujita, Y., Kurata, M., Sato, Y., Ito, M., Tanaka, M. Mitochondrial genome polymorphisms associated with type-2 diabetes or obesity. Mitochondrion 2005; 5: 15–33.

[180] Juo, S.H.H., Lu, M.Y., Bai, R.K., Liao, Y.C., Trieu, R.B., Yu, M.L., Wong, L.J.C. A common mitochondrial polymorphism 10398A > G is associated metabolic syndrome in a Chinese population. Mitochondrion 2010; 10: 294–299.

[181] Wallace, D.C., Fan, W. Energetics, epigenetics, mitochondrial genetics. Mitochondrion 2010; 10: 12–31.

[182] Rains, J.L., Jain, S.K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. Free Radic Biol Med 2011; 50: 567–575.

[183] 118. Anderlová, K., Haluzík, M. Tuková tkáň a inzulínová rezistence. DMEV 2005; 8(2): 87–96.

[184] Schmid, G.M., Converset, V., Walter, N., Sennitt, M.V., Leung, K.Y., Byers, H., Ward, M., Hochstrasser, D.F., Cawthorne, M.A., Sanchez, J.C. Effect of high-fat diet on the expression of proteins in muscle, adipose tissues, and liver of C57BL/6 mice. Proteomics 2004; 4: 2270–2282.

[185] Sparks, L.M., Xie, H., Koza, R.A., Mynatt, R., Hulver, M.W., Bray, G.A., Smith, S.R. A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. Diabetes 2005; 54: 1926–1933.

[186] Petersen, K.F., Dufour, S., Befroy, D., Garcia, R., Shulman, G.I. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patientswith type 2 diabetes. N Engl J Med 2004; 350: 664–671.

[187] Heilbronn, L.K., Gan, S.K., Turner, N., Campbell, L.V., Chisholm, D.J. Markers of mitochondrial biogenesis and metabolism are lower in overweight

and obese insulin-resistant subjects. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92: 1467–1473.

[188] Lowell, B.B., Shulman, G.I. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. Science 2005; 307: 384–387.

[189] Martins, A.R., Nachbar, R.T., Gorjao, R., Vinolo, M.A., Festuccia, W.T., Lambertucci, R.H., Cury-Boaventura, M.F., Silveira, L.R., Curi, R., Hirabara, S.M. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. Lipids Health Dis 2012; 11: 30.

[190] Suomalainen, A., Elo, J.M., Pietiläinen, K.H., Hakonen, A.H., Sevastianova, K., Korpela, M., Isohanni, P., Marjavaara, S.K., Tyni, T., Kiuru-Enari, S., Pihko, H., Darin, N., Õunap, K., Kluijtmans, L.A., Paetau, A., Buzkova, J., Bindoff, L.A., Annunen-Rasila, J., Uusimaa, J., Rissanen, A., Yki-Järvinen, H., Hirano, M., Tulinius, M., Smeitink, J., Tyynismaa, H. FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study. Lancet Neurol 2011; 10(9): 806–818.

[191] Hotamisligil, G.S. Inflammation and metabolic disorders. Nature 2006; 444: 860–867.

[192] Håversen, L., Danielsson, K.N., Fogelstrand, L., Wiklund, O. Induction of proinflammatory cytokines by long-chain saturated fatty acids in human macrophages. Atherosclerosis 2009; 202: 382–393.

[193] Wen, H., Gris, D., Lei, Y., Jha, S., Zhang, L., Huang, M.T., Brickey, W.J., Ting, J.P. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. Nat Immunol 2011; 12: 408–415.

[194] Bunn, R.C., Cockrell, G.E., Ou, Y., Thrailkill, K.M., Lumpkin, C.K. Jr, Fowlkes, J.L. Palmitate and insulin synergistically induce IL-6 expression in human monocytes. Cardiovasc Diabetol 2010; 9: 73.

[195] Ji, C., Chen, X., Gao, C., Jiao, L., Wang, J., Xu, G., Fu, H., Guo, X., Zhao, Y. IL-6 induces lipolysis and mitochondrial dysfunction, but does not affect insulin-mediated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. J Bioenerg Biomembr 2011; 43: 367–375.

[196] Yasuhara, R., Miyamoto, Y., Akaike, T., Akuta, T., Nakamura, M., Takami, M., Morimura, N., Yasu, K., Kamijo, R. Interleukin-1beta induces death in chondrocyte-like ATDC5 cells through mitochondrial dysfunction and energy depletion in a reactive nitrogen and oxygen species-dependent manner. Biochem J 2005; 389: 315–323.

[197] Kelley, D.E., Mandarino, L.J. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. Diabetes 2000; 49(5): 677–683.

[198] Wohl, P., Krušinová, E., Kratochvílová, S., Klementová, M., Wohl, P., Pelikánová, T. Inzulinová rezistence u diabetiků - metabolická inflexibilita. DMEV 2005; 8(4): 174–178.

[199] Hoeks, J., Schrauwen, P. Muscle mitochondria and insulin resistance: a human perspective. Trends Endocrinol Metab 2012 Jun 20. [Epub ahead of print].

[200] Kelley, D.E., Goodpaster, B.H. Skeletal Muscle Triglyceride. An aspect of regional adiposity and insulin resistance. Diabetes Care 2001; 24: 933–941.

[201] Short, K.R., Vittone, J.L., Bigelow, M.L., Proctor, D.N., Rizza, R.A., Coenen-Schimke, J.M., Nair, K.S. Impact of Aerobic Exercise Training on Age-Related Changes in Insulin Sensitivity and Muscle Oxidative Capacity. Diabetes 2003; 52: 1888–1896.

Seznam použitých zkratek

1.LF UK 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

11β-HSD1 11β-hydroxysteroiddehydrogenáza 1

ACE inhibitor inhibitor angiotenzín-konvertujícího enzymu

A akromegalie

ACTH adenokortikotropní hormon

AFABP adipocyte fatty acid binding protein, adipocytární mastné kyseliny vážící protein

AMP adenosinmonofosfát

ANT adenin nukleotidový translokátor

ATP5O mitochondriální gen komponenty F-typu ATP syntázy, podjednotky O (oligomycin vážoucí frakce) (ATP syntáza)

ATP adenosintrifosfát

BMI body mass index

CBG corticosteroid-binding globulin, kortikosteroidy vážoucí protein

cDNA complementary DNA, DNA syntetizovaná z mediátorové RNA

C carbonium, uhlík

C zdravé kontroly

CiS citrátsyntáza

CNS centrální nervový systém

CO_2 oxid uhličitý

CoA koenzym A

CoQ_{10} koenzym Q_{10}, ubichinon

COX4/1 nukleární gen cytochrom c oxidázy, podjednotky IV, izoformy 1 (komplex IV dýchacího řetězce)

COX cytochrom c oxidáza, komplex IV dýchacího řetězce

CRP C reaktivní protein

CS Cushingův syndrom

CYC1 nukleární gen cytochromu c-1 (komplex I-III dýchacího řetězce)

DEXA dual-energy X-ray absorptiometry, denzitometrická metoda

DLAT nukleární gen dihydrolipoamid S-acetyltransferázy (pyruvátdehydrogenázový komplex)

DM 2.typu diabetes mellitus 2.typu

DNA deoxyribonukleová kyselina

dTK diastolický krevní tlak

EDTA kyselina etylen-diamin-tetraoctová, antikoagulační činidlo

ELISA enzyme-linked immune-sorbent assay, imunobiochemická metoda

FABP fatty acid binding protein, mastné kyseliny vážící protein

FGF fibroblast growth factor, fibroblastový růstový faktor

fT3 free T3, volný trijodtyronin

fT4 free T4, volný tyroxin

GH growth gormone, růstový hormon

GKR glukokortikoidní receptor

GK glukokortikoidy

HDL high density lipoproteins, lipoproteiny s vysokou denzitou

HOMA homeostasis model assessment

HPLC high performance liquid chromatography, biochemická metoda

hsCRP vysoko senzitivní C-reaktivní protein

HSL hormonsenzitivní lipáza

ICAM1 intracelulární cytoadhezivní molekula-1

IGF-1 insulin-like growth factor-1, inzulínu podobný růstový faktor-1

IKKβ inhibitor kinázy β nukleárního faktoru κB

IL interleukin

IRMA immunoradiometric assay, munobiochemická metoda

KATP draslíkové ATP řízené kanály

LDL low density lipoproteins, lipoproteiny s nízkou denzitou

mRNA mediátorová ribonukleová kyselina

MT-ND5 mitochondriální gen NADH dehydrogenázy, podjednotky 5 (komplex I dýchacího řetězce)

mtDNA mitochondriální deoxyribonukleová kyselina

NCCR NADH-cytochrom c reduktáza, komplex I-III dýchacího řetězce

nDNA nukleární deoxyribonukleová kyselina

NDUFA12 nukleární gen NADH dehydrogenázy ubiquinon 1 α, subkomplexu 12 (komplex I dýchacího řetězce)

NFκB nukleární faktor κB

NO oxid dusnatý

NQR NADH-koenzym Q10 oxidoreduktáza, komplex I dýchacího řetězce

OB pacienti s obezitou

oGTT orální glukózový toleranční test

PAD perorální antidiabetika

PBS phosphate buffered saline, fosfátem pufrovaný fyziologický roztok

PCR polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce

PDC pyruvátdehydrogenázový komplex

PI3K fosfatidylinositol-3-kináza

PPAR-γ peroxisome proliferator-activated receptor-γ

REE resting energy expenditure, klidový výdej energie

RIA radioimmunoassay, imunobiochemická metoda

RNA ribonukleová kyselina

RNS reactive nitrogen species, reaktivní dusíkové radikály

ROS reactive oxygen species, kyslíkové radikály

RQ respiratory quotient, respirační kvocient

SDHA nukleární gen sukcinát dehydrogenázového komplexu, podjednotky A (komplex II dýchacího řetězce)

SERPIN serine protease inhibitors, inhibitory serinových proteáz

SOCS SH2-doménu obsahující supresor cytokínové signalizace

SQR sukcinát-koenzym Q10 oxidoreduktáza, komplex II dýchacího řetězce

sTK systolický krevní tlak

TGL triacylglyceroly

TNF–α tumor necrosis factor-α

TSH tyreoidální stimulační hormon

VCAM1 vaskulární buněčná adhezivní molekula-1

VFN Všeobecná fakultní nemocnice

VLDL very low density lipoprotein, lipoproteiny s velmi nízkou denzitou

VMK volné mastné kyseliny

WHR waist-to-hip ratio, poměr obvodu pasu a boků