



KARLOVA UNIVERZITA V PRAZE

3. lékařská fakulta

MUDr. Jan Polák

Úloha tukové tkáně v etiopatogenezi inzulínové rezistence

Disertační práce

Školitel: Doc. MUDr. Vladimír Štich, PhD

Praha, 2007

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Jan Polák

Název disertační práce: Úloha tukové tkáně v etiopatogenezi inzulinové rezistence

Název disertační práce anglicky: The role of adipose tissue in patogenesis of insulin resistance

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor (směr), kombinace oborů: Preventivní medicína

Školitel: Doc. MUDr. Vladimír Štich, PhD

Rok obhajoby: 2007

Klíčová slova v češtině: tuková tkáň, obezita, adipokiny, lipolýza, inzulinová rezistence

Klíčová slova v angličtině: adipose tissue, obesity, adipokines, lipolysis, insulin resistance

Předmluva a poděkování

Předkládaná disertační práce je založena na klinických studiích uskutečněných v období od dubna 2003 do prosince 2006 v rámci Ústavu tělovýchovného lékařství Centra preventivního lékařství 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Řada experimentů a analýz byla prováděna v úzké spolupráci s Francouzsko-českou laboratoří klinického výzkumu obezity, která představuje společné pracoviště 3. lékařské fakulty a francouzské instituce INSERM (Institut national de la sante et de la recherche medicale) v Toulouse.

Práce byly podpořeny z finančních zdrojů Výzkumného záměru 3.lékařské fakulty UK (grant MSM 0021620814), z grantu Grantové agentury Univerzity Karlovy (GAUK 72/2005), z grantu Grantové agentury České republiky (GACR 303/04/0158), grantů Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví (IGA 6836-3 a IGA NR 8066-3) a francouzským ministerstvem zahraničních věcí.

Chtěl bych poděkovat svému školiteli Doc. Vladimíru Štichovi za uvedení do oblasti výzkumu metabolismu a biologie tukové tkáně doplněné neutuchající mnohostrannou podporou, motivací a zaujetím pro vědeckou práci. Prof. Michalu Andělovi děkuji za stimulující diskuze a úvahy o inzulínové rezistenci nejen u nemocničního lůžka a za možnost klinické práce na II.interní klinice Fakultní nemocnice Královské Vinohrady.

Děkuji spolupracovníkům Jindře Hejnové a Zuzaně Pařízkové bez nichž by žádná z intervenčních studií nebyla proveditelná, Blance Sommerové a Martinu Jačkovi za trpělivou pomoc při optimalizaci metody pro stanovení adiponektinu a kolegyním Evě Klimčákové, Michaele Kováčikové, Zuzaně Kováčové, Magdě Bajzové a Michaele Vítkové za jejich optimismus, přátelskou atmosféru v laboratoři, uvedení do molekulární biologie a stimulující připomínky.

S radostí také děkuji svým rodičům za trvající všemožnou podporu, pomoc a zájem a Martině Žákové za připomenutí, že v životě existují i důležitější radosti než výzkumná činnost.

3.lékařská fakulta UK, květen 2007

Jan Polák

Shrnutí

Tuková tkáň má úzký vztah k etiopatogenezi inzulínové rezistence a k následnému rozvoji metabolických komplikací včetně diabetes mellitus 2. typu a aterosklerózy. Mechanismy zprostředkovávající tuto vazbu jsou v současné době předmětem intenzivního výzkumu. Jedním z mechanismů, které mohou spojovat nadměrnou akumulaci tukové tkáně s rozvojem inzulínové rezistence jsou volné mastné kyseliny, které jsou do cirkulace uvolňovány hydrolýzou lipidů uskladněných v tukové tkáni během procesu lipolýzy. Poruchy v regulaci lipolýzy byla popsána u obézních jedinců a přispívají k vyšší hladině mastných kyselin v plazmě těchto subjektů a k obtížné mobilizaci energetických substrátů během fyzické zátěže. V předkládané disertační práci byla regulace lipolýzy předmětem výzkumu ve dvou publikacích za použití techniky mikrodialýzy. V první publikaci jsme prokázali schopnost upravit poruchu v regulaci katecholaminy-stimulované lipolýzy a v porušené citlivosti podkožní tukové tkáně k anti-lipolytickému účinku inzulínu po silovém tréninku obézních mužů. Ve druhé studii byl prokázán výrazný podíl nově popsané lipolytické dráhy zprostředkované atrial natriuretic peptidem (ANP) na stimulaci lipolýzy během fyzické zátěže.

Vedle dobře definované úlohy volných mastných kyselin je tuková tkáň zdrojem mnoha proteinů s regulační či endokrinní funkcí, souhrnně nazývaných adipokiny, u nichž je rovněž předpokládán podíl v rozvoji inzulínové rezistence. Ve třetí a čtvrté publikaci zahrnuté v této práci je dokumentováno, že nefarmakologické intervence v podobě silově-dynamického i aerobně-vytrvalostního tréninku vedou ke zlepšení inzulínové rezistence u obézních mužů a žen i bez významnějších změn v plazmatické koncentraci studovaných adipokinů (interleukin 6, tumor necrosis factor- α , adiponectin, interleukin-1b) či expresi jejich genů v podkožní abdominální tukové tkáni. Ze studovaných adipokinů jsme pozorovali pokles v plazmatické koncentraci a genové expresi v podkožní tukové tkáni pouze u leptinu, a to i nezávisle na poklesu tukové hmoty. Konečně v páté publikaci byl za použití analytické metody optimalizované na našem pracovišti sledován vliv tradiční nízkokalorické diety na celkovou plazmatickou koncentraci a zastoupení polymerních izoform adiponectinu, představitele rodiny adipokinů s významnými inzulín-senzitizujícími účinky. V této studii prokazujeme příznivý vliv této intervence na zastoupení všech polymerních izoform adiponectinu s nejvýraznějším vzestupem nízkomolekulární formy. Výsledky těchto intervenčních studií tedy nepodporují hypotézu o dominantní úloze adipokinů ve zprostředkování příznivých zdravotních účinků dosažených nefarmakologickými intervencemi, s výjimkou leptinu a adiponectinu.

Studie sdružené v této práci poskytují drobné střípky poznání o regulaci lipolýzy v podkožní tukové tkáni a o úloze adipokinů v etiopatogenezi inzulínové rezistence. Jejich integrace s četnými

dalšími poznatky ostatních výzkumných skupin ve světě poskytuje naději, že etiopatogeneze obezity a inzulínové rezistence bude v dohledné brzké době prozkoumána natolik, aby toto poznání vedlo k vývoji účinných léčebných strategií.

Summary

Adipose tissue is involved in etiopathogenesis of insulin resistance and subsequent metabolic disorders including type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis. Mechanisms responsible for this association are investigated vigorously. One of the well accepted mechanisms linking excessive accumulation of adipose tissue with a development of insulin resistance are free fatty acids, which are released into circulation after hydrolysis of triglycerides stored in adipose tissue in a process of lipolysis. Impairments in a regulation of lipolysis are described in obese patients and lead to increased plasma level of free fatty acids and to impaired mobilisation of energy stores during exercise. In this PhD thesis, regulation of lipolysis in subcutaneous abdominal adipose tissue was investigated using microdialysis technique. In the first paper we have observed that dysregulation in catecholamine-induced lipolysis and impaired insulin action in adipose tissue can be improved by dynamic-strength training in obese men. In the second study, we have demonstrated significant involvement of newly discovered lipolytic pathway mediated by atrial natriuretic peptide in lipolysis stimulation during exercise.

Adipose tissue is producing several protein substances with regulatory and endocrine functions collectively named „adipokines“, that have been suggested to play a role in pathogenesis of insulin resistance. This topic is covered in the third and fourth publication included in this thesis. We have shown that non-pharmacological interventions like dynamic-strength training or aerobic training improve insulin resistance in obese men and women even without major changes in plasma levels or adipose tissue gene expression of investigated adipokines ν (interleukin 6, tumor necrosis factor- α , adiponectin, interleukin-1b). Only leptin was responsive to these interventions in our studies. Finally, in the fifth paper included we have investigated the effect of low-caloric diet on plasma levels and distribution of polymeric isoforms of adiponectin, an important member of adipokine family with profound insulin-sensitizing effects. An increase in all polymeric isoforms was detected using following 10 weeks of low caloric diet, with the low molecular form being the most responsive isoform. These data do not directly support the hypothesis that adipokines (except leptin and adiponectin) play a major role in intervention-induced changes of insulin sensitivity.

Studies integrated into this thesis provide small pieces of knowledge on regulation of lipolysis in subcutaneous adipose tissue and on the role of adipokines in development of insulin resistance. Integration of these results with a great number of results published by other research groups might help to understand the function of adipose tissue in respect to etiopathogenesis of obesity and insulin resistance and lead to a development of effective therapeutical strategies.

1. Úvod

Tato doktorská práce je zpracována formou souboru publikací zabývajících se regulací mobilizace lipidů z podkožní tukové tkáně a endokrinními vlastnostmi podkožní tukové tkáně u obézních dobrovolníků *in vivo*. Celkem je do této práce zahrnuto 5 publikací, které vznikly na pracovišti s dlouholetou zkušeností v intervenčních studiích (Ústav tělovýchovného lékařství 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy) zaměřených na zlepšení inzulínové senzitivity a/nebo redukci tělesné hmotnosti u obézních jedinců. Tento intervenční přístup je zhodnocen v publikacích č. 1, 3, 4 a 5, které jsou založeny na intervenčních protokolech (silově-dynamický trénink, aerobně vytrvalostní trénink a nízkokalorická dietní intervence). Publikace č. 2 je experimentálně fyziologická studie zabývající se nově popsanou úlohou atrial natriuretic peptidu (ANP) v regulaci mobilizace tuků z podkožní tukové tkáně během fyzické zátěže. V publikaci č. 1 byl zkoumán vliv silově-dynamického svalového tréninku na regulaci katecholaminy zprostředkované lipolýzy u obézních mužů. V publikaci č. 3 je využito identického intervenčního protokolu, cílem studie ovšem bylo pozorovat změnu exprese genů pro proteiny produkované v podkožní tukové tkáni s předpokládanou vazbou na etiopatogenezi inzulínové rezistence (souhrnně označované jako adipocytokiny). Publikace č. 4 byla rovněž zaměřena na popis změn v genové expresi adipocytokinů v podkožní tukové tkáni jakožto i na změny jejich plazmatických koncentrací, nicméně jako terapeutická intervence byl v tomto případě zvolen aerobní vytrvalostní trénink. Konečně publikace č. 5 zkoumá vliv nízkokalorické diety na plazmatickou koncentraci adipocytokinů s názvem adiponectin a na plazmatickou distribuci adiponectinových polymerních izoform u obézních žen.

Seznam zahrnutých publikací:

1. Polák J, Moro C, Klimčáková E, Hejnová J, Majerčík M, Viguerie N, Langin D, Lafontan M, Štich V, Berlan M. Dynamic strength training improves insulin sensitivity and functional balance between adrenergic alpha 2A and beta pathways in subcutaneous adipose tissue of obese subjects. *Diabetologia*. 2005 Dec;48(12):2631-40.
2. Cédric Moro, Jan Polák, Jindra Hejnová, Eva Klimčáková, François Crampes, Vladimír Štich, Max Lafontan and Michel Berlan. Atrial natriuretic peptide stimulates lipid mobilization during repeated bouts of endurance exercise *AJP - Endo* 2006 290:864-869.
3. Klimčáková E, Polák J, Moro C, Hejnová J, Majerčík M, Viguerie N, Berlan M, Langin D, Štich V. Dynamic strength training improves insulin sensitivity without altering plasma levels and gene expression of adipokines in subcutaneous adipose tissue in obese men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Dec;91(12):5107-12.
4. Polák J, Klimčáková E, Moro C, Viguerie N, Berlan M, Hejnová J, Richterová B, Kraus I, Langin D, Štich V. Effect of aerobic training on plasma levels and subcutaneous abdominal adipose tissue gene expression of adiponectin, leptin, interleukin 6, and tumor necrosis factor alpha in obese women. *Metabolism*. 2006 Oct;55(10):1375-81.
5. Polák J, Kováčová Z, Jaček M, Klimčáková E, Kováčiková M, Vítková M, Kuda O, Šebela M, Samcová E, Štich V. An increase in plasma adiponectin multimeric complexes follows hypocaloric diet-induced weight loss in obese and overweight premenopausal women. *Clin Sci (Lond)*. 2007 Jun;112(11):557-65.

Metabolismus tukové tkáně v etiopatogenezi inzulinové rezistence

Nadměrná, patologická akumulace tukových zásob v organismu označovaná termínem obezita představuje na prahu 21. století celosvětový problém, přerůstající již dnes do pandemických rozměrů. Podle statistických údajů EASO (European Association for the Study of Obesity) z roku 2003, minimálně 135 milionů obyvatel Evropské unie (přibližně 20% evropské populace) splňuje diagnostická kritéria pro obezitu (BMI, body mass index $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) a 400 milionů jedinců trpí nadváhou definovanou jako BMI v rozmezí 25-30 kg/m^2 . Podle údajů Světové zdravotnické organizace (WHO) dosáhla v roce 2005 prevalence obezity u dospělé populace (15-100 let) v České republice 20.7 % u žen a 18.5 % u mužů.

Odhady vývoje prevalence obezity i nadváhy v následujících 20-ti letech udávají zdvojnásobní počtu nemocných do roku 2020 (108). Tyto odhady jsou podpořeny zjištěním, že v průměru 20 % evropské dětské populace (do 18-ti let) je obézních, s ještě výraznějším postižením zemí jižní a východní Evropy, kde prevalence dětské obezity přesahuje 30% (131). Závažnost problému je ještě výraznější v USA (300 milionů obyvatel), kde 35% dospělých trpí nadváhou a dalších 30% je obézních.

Obezita je asociována se vznikem řady závažných onemocnění a patologických stavů, zejména s rozvojem inzulinové rezistence, diabetes mellitus 2. typu, hypertenze, aterosklerózy, dyslipidemie, syndromem polycystických ovarií, řadou nádorových onemocnění, artrózou nosných kloubů, dnou, psychologickými obtížemi atd. Obézní jedinci jsou často subjekty sociální diskriminace počínající již v dětství (149) a projevující se později např. ve znevýhodnění při hledání zaměstnání či v dosažení nižšího stupně vzdělání (100; 169). V neposlední řadě přináší léčba obezity a zejména s obezitou asociovaných onemocnění významnou ekonomickou zátěž, která je odhadována na zhruba 8% celkových zdravotních nákladů.

Podrobné patofyziologické mechanismy a mediátory zprostředkující vazbu mezi nadměrnou kvantitou tukové tkáně na straně jedné a zvýšenou morbiditou a mortalitou na straně druhé jsou předmětem intenzivního studia v posledních několika desetiletích. Pozornost vedle volných mastných kyselin (uvolněných do cirkulace během procesu lipolýzy v tukové tkáni) v poslední době přitahuje i celá řada působků proteinové povahy (adipokiny), které jsou produkovány a uvolňovány z tukové tkáně a mají více či méně úzký vztah k regulaci inzulinové sensitivity ve svalu, játrech ale ovlivňují např. i sekreci inzulinu v pankreatu. Oba tyto směry výzkumu, tedy regulace lipolýzy a produkce adipokinů jsou reflektovány v této práci.

Z evolučního hlediska umožňovaly adipocyty (jakožto buňky specializované na akumulaci energetických zásob získaných v období relativního kalorického nadbytku) přežití v periodách nedostatku nebo úplné absence potravy. Adipocyty ve vhodné kvantitě, lokalizaci a kvalitě jsou ovšem pro přežití i současného Evropana zcela nepostradatelné a nezastupitelné, neboť ostatní tkáň lidského organismu nejsou uzpůsobeny pro ukládání přebytečné energie. Pokud jsou zásobní schopnosti tukové tkáň překročeny, dochází k ukládání lipidů do jiných tkání, zejména jaterní a svalové. Takto ektopicky uložené lipidy závažným způsobem narušují metabolismus těchto buněk a tkání, způsobují poruchy v regulaci glukózového metabolismu a přispívají k dysfunkci a apoptóze (programované smrti) takto postižených buněk (178; 188). Klinickým korelátem pak jsou patologické stavy označované jako jaterní steatóza, non-alkoholická steatohepatitida (NASH), inzulinová rezistence či diabetes mellitus 2. typu. Důležitým poznatkem, podporujícím hypotézu chápající tukovou tkáň jako nepostradatelný „nárazník“ chránící ostatní tkáň před potenciálně nevýhodnou akumulací tuků, je nález inzulinové rezistence, dyslipidemie a diabetu 2. typu u pacientů s kongenitální nebo získanou úplnou absencí případně výraznou funkční insuficiencí tukové tkáň - lipoatrofií (80). Transplantace tukové tkáň transgenním myším (FIP/F1), které nemají vytvořenou bílou tukovou tkáň a představují tak zvířecí model lipoatrofie, vede k vymizení nebo výraznému zlepšení diabetu, dyslipidemie, jaterní steatózy a dalších metabolických poruch. Tyto experimenty významně mění chápání úlohy tukové tkáň.

Tradičně je tuková tkáň v lidském organismu považována za úložiště přebytečné energie v podobě lipidů pro jejich pozdější uvolňování, popřípadě je uváděna termoizolační a ochranná funkce. Vysvětlení epidemiologických asociací mezi obezitou a poruchou metabolismu sacharidů manifestovanou jako inzulinová rezistence či diabetes mellitus 2. typu je ovšem potřeba hledat v interakci mezi tukovou tkáň (a jejími produkty) a ostatními tkáněmi účastnícími se glukózové homeostázy. Dominantní úlohu zde má svalová a jaterní tkáň. Svalová tkáň sehrává v etiopatogenezi inzulinové rezistence důležitou roli, neboť za klidových podmínek zajišťuje většinu (cca 80%) inzulinem stimulovaného odsunu glukózy z krevního řečiště a představuje také majoritní tkáň pro utilizaci mastných kyselin. Studium interakcí tuk-sval popřípadě tuk-jaterní tkáň včetně eventuelního ovlivnění energetického metabolismu působením látek uvolněných z tukové tkáň představuje centrální složku ve zkoumání patogeneze inzulinové rezistence.

Lipolýza v tukové tkáni a její regulace:

Nejdéle známou schopností tukových buněk je shromažďovat přebytečné energetické substráty v podobě kapénky triglyceridů ve své cytoplasmě a pohotově je ve vhodnou chvíli

hydrolyzovat na glycerol a mastné kyseliny v procesu lipolýzy. Neesterifikované mastné kyseliny jsou následně transportovány přes cytoplazmatickou membránu adipocytu a uvolňovány do krevního oběhu, odkud mohou být následně vychytávány a využívány v cílových tkáních (např. pracujícím svalu). Ačkoli bylo identifikováno několik enzymů zprostředkujících lipolýzu z triglyceridů na diglyceridy a monoglyceridy (ATGL-adipose triglyceride lipase (234) , HSL-hormon sensitive lipase) a následně i hydrolyzu monoglyceridů (MGL-monoglyceride lipase), klíčovým enzymem s největší aktivitou a možností humorální regulace v tomto procesu v lidské tukové tkáni je HSL (119). Humorální regulace lipolýzy v tukové tkáni je zprostředkována interakcí lipolytických hormonů (katecholaminy, ANP-atrial natriuretic peptide, růstový hormon, glukagon) a anti-lipolytických působků, z nichž nejvýznamnější ji regulace inzulínem.

Katecholaminy zprostředkovaná lipolýza:

Účinek katecholaminů (adrenalinu a noradrenalinu) na lipolýzu se uplatňuje za fyziologických podmínek zejména při fyzické zátěži. Jejich účinek je zprostředkován aktivací membránových receptorů (β_2 a α_2 -adrenergních receptory). Jejich aktivace má však opačné efekty, jelikož jsou spřaženy s odlišnými G-proteiny. Aktivace β_2 -adrenergních receptorů na povrchu adipocytů, které jsou spřaženy s Gs-proteinem vede k nitrobuněčné aktivaci adenylát-cyklázy, produkci cAMP a konečně aktivaci proteinkinázy A, která fosforylací aktivuje hormon senzitivní lipázu (124). Naopak aktivace α_2 -adrenergních receptorů, které je spřaženy s Gi-proteinem vede k potlačení produkce cAMP a poklesu lipolýzy. Paralelní přítomnost β a α_2 -adrenergního receptorů na povrchu lidských adipocytů byla demonstrována *in-vitro* funkčními studii s použitím selektivních ligandů (114). O celkovém lipolytickém účinku katecholaminů na tukovou buňku tak rozhoduje relativní zastoupení β a α_2 -adrenergních receptorů a afinita jednotlivých aminů k těmto receptorům.

Významná dysregulace v lipolytické odpovědi na stimulaci katecholaminy (zejména adrenalinem, který má vyšší afinitu k α_2 receptoru) byla pozorována u obézních jedinců, u kterých dochází k výrazně nižší stimulaci lipolýzy, či dokonce k potlačení lipolýzy, v porovnání s neobézními subjekty (137; 142; 167; 203). Na tomto jevu se podílí vyšší počet a aktivita α_2 -adrenergních receptorů na membráně adipocytů obézních jedinců (113).

Atrial natriuretic peptide (ANP) lipolytická dráha:

Vedle katecholaminů byla v roce 2000 popsána regulace lipolýzy zprostředkovaná skrze ANP (Atrial natriuretic peptide) (189). ANP stimuluje adipocytární membránový receptor (NPR-A subtyp), který je spojen s nitrobuněčně lokalizovaným enzymem, guanylát cyklázou, po jejíž

aktivaci dochází k elevaci buněčné koncentrace cGMP a aktivaci cGMP-dependentní kinázy (PKG). PKG následně fosforyluje hormon senzitivní lipázu a stimuluje lipolýzu (190). ANP výrazně stimuluje lipolýzu *in vitro* na izolovaných lidských adipocytech a tento účinek je specifický pro lidskou tukovou tkáň, efekt ANP je zcela zanedbatelný u hlodavců (191). Intravenózní nebo lokální (mikrodialýza) infuze farmakologických dávek rekombinantního humánního ANP stimuluje mobilizaci lipidů z tukové tkáně nezávisle na aktivaci sympatického nervového systému (189). Fyziologická relevance ANP v regulaci lipolýzy je dále podpořena faktem, že plazmatické hladina ANP se během fyzické zátěže zvyšuje 2-3x společně se zvyšující se lipolytickou odpovědí (146).

Vedle mobilizace lipidů z tukové tkáně je dalším faktorem ovlivňujícím množství a distribuci tukových zásob proces opačný, tedy mechanismy zprostředkovávající ukládání plazmatických triglyceridů do intracelulárního prostoru adipocytů. Na tomto velmi pečlivě regulovaném procesu přestupu lipidů z krevních kapilár do adipocytů, jejich uložení ve formě triglyceridů podílí celá řada enzymů a transportních proteinů, z nichž rozhodující úlohu má lipoproteinová lipáza (LPL). LPL je lokalizována na endotelu kapilárního řečiště tukové tkáně (a dalších tkání využívajících jako substrát mastné kyseliny, např. svalová tkáň) a zprostředkovává hydrolýzu triglyceridů obsažených v chylomikronech a VLDL (very-low density lipoprotein), čímž umožňuje následný přestup takto uvolněných mastných kyselin do adipocytů a opětovnou resyntézu triglyceridů uvnitř adipocytu. Dynamická rovnováha mezi aktivací LPL a HSL v tukové tkáni je zajištěna endokrinní regulací, v níž nejvýznamnější roli hraje inzulin. Po příjmu kombinované potravy dochází k vzestupu hladiny inzulinu v plazmě, aktivaci LPL v tukové tkáni (naopak k potlačení aktivity LPL ve svalové tkáni) (60) a inhibici aktivity adipocytární HSL. Tyto děje mají zabezpečit odsun mastných kyselin (triglyceridů) do tkáně k tomuto účelu kompetentní a fylogeneticky určené, tedy do tukové tkáně. Naopak ve stavu lačnění a při nízké hladině inzulinu je aktivována adipocytární HSL (LPL v tukové tkáni inhibovaná) a mastné kyseliny jsou z tukových zásob uvolňovány k utilizaci metabolicky aktivními tkáněmi. Regulace obou těchto navzájem recipročních dějů je u pacientů s inzulinovou rezistencí a diabetes mellitus 2. typu porušena (50). Postprandiální aktivita LPL v tukové tkáni není u těchto subjektů dostatečně zvýšena a naopak aktivita LPL ve svalové tkáni zůstává zvýšena (61), následkem je protrahovaná postprandiální hyperlipémie a usnadněné ektopické ukládání lipidů do jiných tkání než tukové, např. do svalové tkáně, kde ovšem takto uložené triglyceridy zasahují do schopnosti svalové buňky přijímat a zpracovávat glukózu, přispívají tedy k rozvoji inzulinové rezistence na úrovni svalové buňky (160). Dysregulace se dotýká i HSL, jejíž aktivita není u obézních a inzulinorezistentních subjektů

dostatečně potlačena inzulínem. Vyšší bazální lipolýza a nižší klidová oxidace mastných kyselin u obézních a inzulínorezistentních jedinců (104) vede k vyšší plazmatické hladině volných mastných kyselin, které mají nepříznivý vliv na rozvoj inzulínové rezistence, jak je popsáno níže.

Neesterifikované mastné kyseliny v rozvoji inzulínové rezistence:

Plazmatické volné (neesterifikované) mastné kyseliny (NEMK), v anglosaské literatuře označované jako NEFA či FFA (Non-Esterified Fatty Acids, FFA-Free Fatty Acids), se v plazmě objevují následkem třech různých procesů: 1) lipolýzou triglyceridů uložených v tukové tkáni, 2) lipolýzou triglyceridů uložených v chylomikronech či VLDL za pomoci LPL (větší část takto uvolněných NEMK je transportována do adipocytů k uskladnění, část ovšem uniká a objeví se v plazmě), 3) přímým přestupem z gastrointestinálního traktu (zejména NEMK s krátkým řetězcem). Výsledná plazmatická koncentrace NEMK je dána rovnováhou mezi jejich uvolňováním do cirkulace a jejich vychytáváním (zejména v tukové a jaterní tkáni k re-esterifikaci a ve svalu, srdci a dalších tkáních, kde slouží jako energetický substrát v oxidativní fosforylaci). S narůstající akumulací tukových kapánek v adipocytu se zvětšuje jeho velikost a postupně se rozvíjí inzulínová rezistence na úrovni adipocytu. Tento stav lze chápat jako ochranu adipocytu před další akumulací lipidů, nicméně při pokračujícím nadbytku energetických substrátů jsou tyto ukládány do ostatních tkání (jaterní, svalová, pankreas) (129). Cirkulující NEMK mají řadu fyziologických funkcí (jsou významným zdrojem energie zejména pro pracující sval a během hladovění, v těhotenství mají vliv na relativní inzulínorezistenci matky (42) a usnadňují tak dostupnost glukózy pro fétus). Vedle svého fyziologického významu mají NEMK pravděpodobně také význam v patogenezi inzulínové rezistence (129), jelikož obézní jedinci a pacienti s diabetes mellitus 2. typu mají obvykle vyšší hladinu NEMK v porovnání se zdravými subjekty (16; 174). Elevace NEMK byla demonstrována jako nezávislý rizikový faktor progrese inzulínové rezistence a vzniku diabetes mellitus 2. typu (44). Efekt neesterifikovaných mastných kyselin se v kontextu porušené glukózové homeostázy nejvíce projevuje v interakci se svalovou, jaterní a endokrinně pankreatickou tkání.

Mastné kyseliny a svalové tkáň:

Již v roce 1963 s revizí v roce 1998 popsal Randle (171; 172) kompetici mezi oxidativní užití glukózy a mastných kyselin. Oxidace mastných kyselin vede k produkci acetyl-CoA a zvyšování koncentrace NADH (nicotinamid adenin dinucleotid). Výsledkem těchto procesů je snížení aktivity enzymu pyruvát dehydrogenáza a inhibice Krebsova cyklu s následnou akumulací citrátu. Citrát pak inhibuje enzym fosfofruktokinázu, hromadí se metabolit glukóza-6-fosfát a konečně nahromaděný glukóza-6-fosfát inhibuje svalovou hexokinázu, čímž se omezuje schopnost svalové buňky přijímat a využít glukózu, vzniká inzulínová rezistence na úrovni buňky. Později

byla tato hypotéza rozšířena o další komplementární mechanismy. Během energetického nadbytku a vyšší dostupnosti NEMK dochází ve svalové buňce k akumulaci malonyl-koenzymu A a tím k inhibici mitochondriálního membránového proteinu CPT-1 (carnitin-palmitoyl transferáza), přenášejícího mastné kyseliny do mitochondrií k oxidaci. Následkem této inhibice je akumulace meziproduktů, zejména LCFA-CoA (mastných kyselin s dlouhým řetězcem-koenzym A), který alosterickým způsobem inhibuje řadu enzymů zapojených do utilizace a vychytávání glukózy a syntézy glykogenu (225). LCFA-CoA mohou být dále esterifikovány na diacylglycerol (DAG), což je jeden z mnoha nitrobuněčných sekundárních posílů, a skrze DAG inhibovat inzulínovou signalizační kaskádu zejména díky fosforylaci inzulínového receptoru a dalších navazujících proteinů proteinkinázou C (51). Rovněž přímá interakce LCFA s GLUT 4 transportérem se může na vzniku inzulínové rezistence podílet (198). V neposlední řadě je pozornost věnována také vztahu NEMK a indukci oxidativního stresu, což je další mechanismus aktivace proteinkinázy C a tudíž i poruchy glukózového metabolismu (112).

Mastné kyseliny a jaterní tkáň:

Také s jaterní složkou inzulínové rezistence jsou úzce spjaty volné mastné kyseliny. U zdravých lidských probandů (46) a u pacientů s diabetem 2. typu (32) bylo prokázáno zvýšení glukoneogeneze při experimentálním zvýšení hladiny volných mastných kyselin a návrat k normální produkci glukózy po normalizaci hladin NEMK v plazmě. Zde je ovšem potřeba zdůraznit komplikovanost regulace glukózového metabolismu v jaterní buňce a rozlišit zvýšení celkové produkce glukózy od pouhého zvýšení glukoneogeneze. Díky jaterní autoregulaci produkce glukózy dochází totiž paralelně se zvýšením glukoneogeneze k potlačení glykogenolýzy a celková produkce glukózy se tedy po stimulaci NEMK nemění (48; 205). Tato autoregulace je alespoň částečně zprostředkována glukóza-6-fosfátem, která inhibuje glykogen fosforylázu a stimuluje glykogen syntázu (83). Někteří autoři popisují poruchu této autoregulace u pacientů s diabetes mellitus 2. typu (32; 208), u nichž glykogenolýza stoupá spolu hladinou mastných kyselin v plazmě, stejně jako glukoneogeneza a může tak přispívat ke zvýšení celkové jaterní produkce glukózy a ke vzniku hyperglykémie. Z terapeutického hlediska by intervence (farmakologické i nefarmakologické) snižující hladinu NEMK v plazmě mohly výrazně přispět ke zlepšení kompenzace diabetu. Toto je pravděpodobně jeden z mechanismů, kterým je zprostředkován efekt thiazolidindionů (např. rosiglitazon) na zlepšení inzulínové rezistence. Po jejich podání dochází mimo jiné také k poklesu hladiny NEMK (140). Aplikace procesů popsaných v Randlově cyklu v jaterní buňce byla rovněž spojována se zvýšením glukoneogenezy: acetyl-CoA stimuluje pyruvát carboxylázu a nahromaděný NADH se účastní produkce glycerinaldehydu-3-fosfát. Rovněž LCFA-CoA

akumulovaný v hepatocytu má podobné účinky jako jeho akumulace ve svalové buňce, včetně aktivace proteinkinázy C a interakce s enzymy glykolytické dráhy (53).

Mastné kyseliny a pankreatické β -buňky:

Volné mastné kyseliny uplatňují svůj vliv i na samotné β -buňky pankreatu. Pozoruhodné jsou rozdíly v efektu krátkodobé a dlouhodobé expozice pankreatických β -buněk zvýšené hladině NEMK. Krátkodobá expozice NEMK (< 6 hodin) vede ke zvýšení glukózou-stimulovaného výdeje inzulínu z β -buněk (43). Intenzita této stimulace je přitom přímo úměrně závislá na délce řetězce a stupni nenasycenosti mastné kyseliny (161). Přesné molekulární mechanismy zodpovědné za tento efekt nejsou do detailu stanoveny, nicméně se podobně jako v případě tukové a jaterní tkáně předpokládá alespoň částečný podíl LCFA-CoA nahromaděného při nadbytku malonyl-CoA a následné aktivaci proteinkinázy C (230). Protrahovaná perfuze myšského pankreatu či vystavení *in-vitro* β -buněčných kultur přibližně dvojnásobné koncentraci NEMK, než je fyziologická hladina, vede ke snížení glukózou stimulované sekrece inzulínu. Kontroverzní nálezy a řada hypotéz vysvětlujících tento efekt bylo dosud publikováno. Interakce NEMK s GLUT 2 transportérem, indukce oxidativního stresu a zvýšená intracelulární produkce ceramidu byla demonstrována *in vitro* a na zvířecích modelech (129). Rovněž interakce NEMK s biosyntézou inzulínu, „processingem“ proinsulinu a transkripcí genu pro inzulín byly popsány a mohou se podílet na výše popsaném efektu (71; 98).

Potvrzení těchto regulací *in vivo* v experimentech s lidskými dobrovolníky je ovšem složitější, zejména z metodologického hlediska. Inzulínová sekrece je totiž u zdravých (nediabetických) jedinců v přísně regulovaném vztahu k inzulínové senzitivitě. Při zachovalé funkci β -buňky je při poklesu inzulínové senzitivity zvýšena sekrece inzulínu tak, aby celková schopnost ukládání glukózy zůstala zachována (99). Jedinci s diabetes mellitus 2. typu, kde je přítomna dysfunkce pankreatických β -buněk nedochází k adekvátnímu kompenzatornímu zvýšení sekrece inzulínu při zhoršení inzulínové senzitivity periferních tkání (zejména svalů) a dochází tak k poruše schopnosti ukládat glukózu mimo cirkulaci. Je nezbytné podotknout, že při tomto ději nemusí nezbytně docházet ke snížení absolutní sekrece inzulínu z pankreatu. Při intravenózní infuzi lipidů a heparinu dochází účinkem heparinu k aktivaci lipoproteinové lipázy a štěpení podaných triglyceridů na NEMK a glycerol. Tímto se experimentálně dosahuje zvýšení koncentrace plazmatických NEMK. Jak již bylo uvedeno dříve, NEMK *per se* indukují ve svalové a jaterní tkáni pokles inzulínové senzitivity (a tudíž kompenzatorní zvýšení sekrece inzulínu v pankreatu), a proto je nezbytné k tomuto efektu přihlídnout při hodnocení změn v inzulínové sekreci po podání NEMK (21). Při respektování těchto výzkumných aspektů se zdá, že výše uvedené *in vitro* experimentální data jsou potvrzována i *in vivo*. Krátkodobá expozice vyšší hladině NEMK zvyšuje sekreci inzulínu přesně v takové míře,

aby byl kompenzován pokles v periferní inzulínové senzitivitě. Při protražované expozici NEMK se tato regulace ztrácí a β -buňky nejsou schopny adekvátně zvýšit sekreci inzulínu, dochází tedy jak k poklesu periferní inzulínové senzitivity, tak k poklesu schopnosti odklízet glukózu z krevního řečiště (43; 161).

Vyšší koncentrace volných mastných kyselin je častým nálezem u obézních jedinců (16; 174), přesto pouze u cca 20% obézních jedinců se rozvine manifestní diabetes 2.typu (31). Je tedy pravděpodobné, že samotné zvýšení NEMK nepostačuje ke vzniku diabetes mellitus 2.typu. K tomuto zlomu je pravděpodobně zapotřebí tolik zřejmá genetická predispozice (168). U jedinců bez této genetické zátěže dochází k výše popsaným dějům v návaznosti na vyšší koncentraci volných mastných kyselin, tyto jedinci jsou postiženi inzulínovou rezistencí. Vzniklá hyperinzulinémie je ovšem kompenzatorní a tato kompenzace je metabolicky vyhovující. Oněch 20% obézních jedinců s genetickou predispozicí svou inzulínovou rezistencí kompenzovanou nemají a rozvíjí se u nich diabetes mellitus 2. typu.

Z terapeutického pohledu mají volné mastné kyseliny a související ektopické ukládání lipidů do svalové a jaterní tkáně význam pro pochopení mechanismu účinku terapie moderními léky ze skupiny agonistů transkripčních faktorů označovaných jako PPAR receptory (peroxisome proliferator-activated receptor). V klinické praxi se široce využívají hypolipidemika fibrátového typu působící na molekulární úrovni skrze aktivaci PPAR α receptorů, které následně ovlivňují přepis genetické informace celé řady genů, z nichž největší význam v tomto kontextu mají enzymy zapojené do kaskády oxidativní utilizace mastných kyselin v játrech a kosterním svalu (199). Následným snížením nevhodně uložených lipidů v hepatocytech dochází ke snížení produkce VLDL a zlepšení lipidového profilu. Naopak inzulín-senzitizující farmaka ze skupiny thiazolidindionů, např. rosiglitazon, se aktivují PPAR γ transkripční faktory a ovlivňují lipidový metabolismus zejména v tukové tkáni a následně i v tkáni svalové a jaterní. Thiazolidindiony indukují diferenciaci adipocytů a zvyšují vychytávání NEMK z cirkulace a jejich ukládání preferenčně do podkožní tukové tkáně, čímž snižují jejich plazmatickou koncentraci a zlepšují inzulínovou rezistenci. Efekty obou těchto agonistů PPAR receptorů jsou ovšem daleko komplexnější a jejich účinek je zprostředkován několika mechanismy, jedním z nichž je ovlivnění metabolismu NEMK.

Adipocytokiny:

V posledních 15ti letech byla identifikována celá řada látek proteinové povahy, které jsou produkovány a secernovány tukovou tkání a souhrnně označovány jako adipocytokiny nebo adipokiny. Některé z těchto substancí mají efekt pouze parakrinní, působí na ostatní adipocyty a další buňky přítomné v tukové tkáni (makrofágy, fibroblasty, endotelie), většina je však secernována do krevního řečiště a působí pak na vzdálené cílové orgány (sval, játra, pankreas, mozek). Na tukovou tkáň je tak v současné době nahlíženo jako na velmi potentní endokrinní orgán (210) zasahující produkovanými hormony do celé řady dějů na úrovni celého organismu. V současné době bylo identifikováno několik desítek endokrinně aktivních látek produkovaných v tukové tkáni, výběr z nich je uveden v tabulce 1. Spektrem svého účinku představují velmi heterogenní skupinu, zahrnující molekuly podílející se na regulaci intermediárního metabolismu, centrální regulaci příjmu potravy, tkáňové utilizaci substrátů a regulaci inzulínové senzitivity vzdálených tkání. Mnohé mají intimní vliv k etiopatogenezi aterosklerózy (126), jiné jsou zodpovědné za regulaci imunitních odpovědí a spolupodílejí se tak na vytvoření mírného prozánětlivého stavu, který se podílí na etiopatogenezi inzulínové rezistence (85) a kardiovaskulárních onemocnění (195). Biologické účinky a vztah k etiopatogenezi inzulínové rezistence pro relevantní adipocytokiny (tedy takové, která byly předmětem zájmu v publikacích zahrnutých do této doktorské práce) je shrnut v následujícím textu. Pozornost je věnována adiponectinu, leptinu, tumor necrosis factoru- α (TNF- α) a interleukinu-6.

Adiponectin

Adiponectin byl poprvé popsán v roce 1995, jedná se o protein složený z 247 aminokyselin a jeho produkce byla popsána téměř výhradně v diferencovaných adipocytech (187). V plasmě je tento protein přítomen ve významném množství (2-20 mg/l u zdravých dobrovolníků) a tvoří tak přibližně 0.01% všech plazmatických bílkovin (13). Jeho struktura je tvořena dvěma strukturálně odlišnými doménami, z nichž jedna vykazuje strukturální homologii s kolagenem VIII a druhá s faktorem komplementu C1q(135), tyto strukturální homologie se odrážejí i ve fyziologických účincích adiponectinu.

Adiponectin se výrazně uplatňuje v ochraně arteriální stěny před vznikem a progresí procesu aterosklerózy. Zabraňuje transformaci makrofágů v pěníte buňky a snižuje expresi povrchových adhezních molekul na povrchu makrofágů (151), čímž zasahuje do časných stadií vzniku aterosklerotického plátu. Díky své homologii s kolagenem má adiponectin schopnost adherovat k subendoteliálnímu prostoru poškozené cévy a významně omezovat nežádoucí proliferaci buněk a hyperplasii medie během reparačních procesů (150).

Významnou úlohu má adiponectin v regulaci globálního sacharidového metabolismu. Parenterální podání adiponectinu vede k výraznému zlepšení inzulinové rezistence na zvířecím modelu diabetu (229), dochází ke zvyšování utilizace a transportu glukózy a mastných kyselin ve svalu (223; 228), jaterních i v tukových buňkách, zároveň adiponectin potlačuje glukoneogenezi v hepatocytech (132). Dlouhodobá aplikace adiponectinu vedla ke snížení hmotnosti u myší krmených vysokotukovou dietou bez ovlivnění množství přijaté potravy (69). Tyto metabolické a inzulin senzitivující účinky jsou pravděpodobně na molekulární úrovni zprostředkovány skrze aktivaci enzymu AMP-kináza (228), který představuje centrální buněčnou energetickou výhybku. Spontánně dochází k aktivaci AMP-kinázy při poklesu koncentrace ATP v buňce. Následné zvýšení oxidace lipidů a glukózy tak vede k obnově intracelulárních hladin ATP a k obnovení energetické rovnováhy v buňce.

U lidských subjektů plazmatická koncentrace adiponectinu negativně koreluje s obsahem tuku v těle, koncentrací triglyceridů, lačnou glykemií, lačnou inzulinemií a parametry inzulinové rezistence (136; 212). Naopak plazmatická hladina HDL cholesterolu je pozitivně asociována s hladinou adiponectinu. Někteří autoři dokládají, že adiponectin by mohl být vhodným markerem k odlišení obézních subjektů s dosud zachovalou citlivostí periferních tkání k účinkům inzulinu od obézních pacientů s rozvinutou inzulinovou rezistencí (6). Adiponectin tvoří mezi ostatními adipocytokiny výjimku v tom smyslu, že jeho plazmatická hladina je snížena u osob s nadbytkem tukových zásob, diabetiků 2. typu (13; 91) a osob s ischemickou chorobou srdeční (94). Adipocyty za těchto patologických stavů nejsou schopny produkovat adiponectin v odpovídající míře, ovšem mechanismy zodpovědné za tuto poruchu nejsou dosud známy. Existují rovněž pohlavní rozdíly v plazmatické hladině adiponectinu s vyšším obsahem adiponectinu u ženského pohlaví (90; 220; 226), adiponectin by tak mohl spolupodílet na nižší incidenci kardiovaskulárních chorob u žen.

V lidské plazmě se adiponectin vyskytuje ve formě několika polymerních izoform. Základní stavební jednotka adiponectinu se sdružuje po 3, 6 a více molekulách dohromady a tvoří tak trimer (LMW, low molecular weight), hexamer (MMW, medium molecular weight) a souhrn polymerů o vyšší molekulové hmotnosti nazývaných souhrnně jako vysokomolekulární forma adiponectinu (HMW, high molecular weight).

Do současnosti bylo publikováno několik experimentálních i epidemiologických studií poukazujících na úzkou souvislost mezi stupněm polymerace adiponectinu v plazmě a jeho biologickým efektem. Potlačení apoptózy endoteliálních buněk *in vitro* a snížení plazmatické koncentrace glukózy u myší jsou zprostředkovány výhradně vysokomolekulární formou adiponectinu (107; 152; 153; 211). Stupněm inzulinové rezistence u lidských obézních subjektů a pacientů s diabetes mellitus 2. typu je negativně asociován s relativním zastoupením

vysokomolekulární formy adiponectinu, nikoli s jeho celkovým množstvím (154). Množí se tedy hypotézy vyzdvihující vysokomolekulární formu adiponectinu jako biologicky aktivní izoformu. Zajímavým se zdá být i zjištění, že ženy vykazují signifikantně vyšší hladinu vysokomolekulární formy adiponectinu v porovnání s muži (93; 220; 226).

Z klinického a terapeutického hlediska představuje adiponectin slibnou cílovou molekulu, jejíž plazmatickou hladinu a zastoupení polymerních izoform lze farmakologicky velmi výrazně ovlivnit spolu s pozitivním ovlivněním inzulinové rezistence. Skupina moderních antidiabetik označovaná souhrnně jako thiazolidindiony, např. rosiglitazon, mimo jiné výrazně zvyšují hladinu celkového adiponectinu v séru stejně jako zastoupení jeho vysokomolekulární izoformy (2; 7; 155). Méně přesvědčivé a ve svých závěrech nejednotné jsou výsledky prací popisující vliv redukce hmotnosti pomocí dietní intervence, pohybové aktivity, změny životního stylu či pomocí chirurgického zákroku na plazmatickou koncentraci adiponectinu či zastoupení jednotlivých izoform. Někteří autoři dokládají možnost ovlivnění hladiny adiponectinu pomocí těchto intervencí (58; 111; 232), v jiných pracích naopak hladina adiponectinu zůstala beze změn i přes ovlivnění inzulinové rezistence a dalších metabolických parametrů (3; 34; 96; 130; 183).

Leptin

Leptin je dalším příslušníkem rodiny adipokinů, který je ovšem produkován kromě adipocytů v menší míře také v jiných tkáních (žaludek, játra, placenta, sval) (17). Je složen ze 167 aminokyselin, před jeho sekrecí do cirkulace ovšem dochází k odštěpení signální sekvence a tudíž má plazmatický leptin 146 aminokyselin ve svém řetězci (233). Gen kódující sekvenci leptinu se nazývá *ob* (odvozeno od slova „obesity“) a jeho exprese je vyšší v podkožní tukové tkáni v porovnání s tukovou tkání lokalizovanou ve viscerální-omentální oblasti (95). Leptin má zásadní podíl v udržování tělesné hmotnosti, jeho účinek je zprostředkován působením na hypothalamická centra, kde je působením leptinu potlačen příjem potravy a naopak stimulován energetický výdej (128). Recentní práce poukazují i na vztah leptinu k hypothalamickým centřům regulujícím reprodukční funkce a sekreci gonadotropinů, kdy leptin funguje na jedné straně jako indikátor dostatečných tukových (energetických) zásob k úspěšné reprodukci (45). Vrozeným deficit leptinu či jeho receptoru se u lidských subjektů fenotypicky manifestuje obezitou, dyslipidemií a inzulinovou rezistencí. Parenterálním podáváním rekombinantního leptinu těmto pacientům jsou tyto příznaky potlačeny a tělesná hmotnost normalizována (62). Mutace v leptinovém systému tak představují jednu z forem monogenně podmíněné obezity. Na tomto místě je nutné zdůraznit, že u naprosté většiny obézních pacientů nelzáme naopak zvýšenou hladinu leptinu a terapeutické užití rekombinantního leptinu se ukázalo pro pacienty netrpící genetickou poruchou v leptinové dráze

jako neúčinné. Problematika centrálních účinků leptinu je podrobně dokumentována a shrnuta v přehledných člancích (68; 185).

Kromě účinků na centrální nervový systém působí leptin také v periferních metabolicky aktivních tkáních a pravděpodobně se i tímto mechanismem podílí na etiopatogenezi inzulínové rezistence. Receptor pro leptin (a tudíž možnost ovlivnění buněčných pochodů leptinem) na svém povrchu nese řada různých typů lidských buněk včetně myocyty, hepatocytů, adipocyty a pankreatických β -buněk. V tukové tkáni leptin přímo interaguje jak s účinky inzulínu na buněčný metabolismus (glukózový transport, aktivace glykogen-syntázy, lipogeneze, inhibice lipolýzy) tak s vazbou inzulínu na membránové receptory (147). Leptin negativním způsobem ovlivňuje také humánní pankreatické beta buňky, kde svým působením snižuje jejich schopnost sekrece inzulínu v závislosti na stoupající glykémii (194). Ve svalové dochází pod vlivem leptinu k aktivaci klíčového enzymu regulujícího buněčný energetický metabolismus – AMP-kinázy a tím ke zvýšení oxidace svalových lipidů (139), což bylo dokumentováno na myších modelech (148). Periferní účinky leptinu se mohou spolupodílet na ochraně organismu před negativními vlivy nadměrné akumulace tukových zásob. Pokud je organismus vychýlen z energetické rovnováhy směrem k pozitivní kalorické bilanci, sekrece leptinu z tukové tkáně se zvyšuje a je signálem v hypothalamických centrech k omezení příjmu potravy. Paralelně se zvyšuje účinkem leptinu užití mastných kyselin ve svalové tkáni. Leptin tak za fyziologických podmínek chrání kosterní svalstvo před patologickou akumulací triglyceridů, která není žádoucí a vede ke zhoršení inzulínové senzitivity daných tkání (215). Ve vazbě na tuto hypotézu je i nález nižší produkce leptinu omentální (viscerální) tukovou tkání v porovnání s tukovou tkání lokalizovanou v podkoží a nižší plazmatická koncentrace leptinu u pacientů s centrální obezitou (219), která je spojena s vyšším rizikem rozvoje kardiovaskulárních komplikací (22).

Významné mohou být i účinky leptinu na jaterní buňky. Na myších modelech leptin snižuje aktivitu enzymu stearyl-koenzym A desturáza-1 (SCA-1), což je klíčový enzym v kaskádě syntézy triglyceridů a jejich následném transportu do cirkulace v podobě VLDL částic (49). Deaktivace tohoto enzymu vede ke snížení tvorby triglyceridů a omezení syntézy VLDL částic, naopak je potencována užití hromadících se prekurzorů (mastných kyselin) v podobě oxidativní fosforylace (49). Tímto mechanismem by mohla inhibice SCA-1 představovat i významný prvek v ochranu před rozvojem aterosklerózy. Tyto poznatky získané zejména při experimentech na geneticky modifikovaných myších modelech a v *in vitro* studiích bude nutno ovšem dále ověřit na lidských tkáních a *in vivo*.

Jak je z uvedených příkladů patrné, některé účinky leptinu na periferní tkáně jsou spíše inzulín senzitivující, např. výše popsany efekt na svalový metabolismus či jaterní buňky, jiné by

naopak vedly ke zhoršení inzulínové citlivosti (účinek na pankreatické beta buňky a adipocyty). Komplexní pochopení role leptinu a dalších adipokinů za různých fyziologických a patologických stavů je v současné době předmětem intenzivního vědeckého úsilí

Interleukin-6 a tumor necrosis factor- α

Tuková tkáň není složena pouze z adipocytů a méně diferencovaných buněk adipocytární linie (preadipocytů), na její stavbě se podílí také endotelie, imunokompetentní buňky (zejména makrofágy) a další mesenchymální buňky, v některých pracích označované jako stroma-vaskulární frakce. Ačkoli co do kvantity tyto neadipocytární buňky představují méně významnou složku, jejich přítomnost zásadním způsobem ovlivňuje biologické vlastnosti tukové tkáně a je spolupodílí se na rozvoji patologických stavů spojených s obezitou. Buňky stromavaskulární frakce jsou z převážné míry zodpovědné za produkci celé řady prozánětlivých cytokinů a dalších molekul v tukové tkáni (interleukin-6 (67), tumor necrosis factor- α (87), interleukin-1 (81), interleukin 10 (59), plasminogen activator inhibitor (186)). Obezita je charakterizována zvýšenými plazmatickými hladinami těchto cirkulujících cytokinů a rozvojem pro-zánětlivého stavu, který je asociován s rozvojem inzulínové rezistence a vznikem metabolických onemocnění jako diabetes mellitus 2. typu a kardiovaskulární onemocnění (18; 165; 209).

Interleukin 6 (IL-6) je prozánětlivý cytokin produkován celou řadou buněk (makrofágy, ostatní imunokompetentní buňky, fibroblasty, endotelie, myocyty). Významným zdrojem IL-6 za klidových podmínek je tuková tkáň, podílející se zhruba z 30% na jeho plazmatické koncentraci (143). Plazmatická hladina IL-6 i intenzita jeho produkce v tukové tkáni je pozitivně asociována s nadměrnou akumulací tukové tkáně (105) a s parametry inzulínové rezistence (19). Vyšší koncentrace IL-6 byla v experimentech asociována s poruchou glukózové homeostázy, jelikož infuze rekombinantního IL-6 lidským dobrovolníkům vedla ke zvýšení jaterní produkce glukózy a lačné glykémie (206). Na molekulární úrovni byly tyto účinky zprostředkovány interferencí s inzulínovou signalizační kaskádou v jaterní buňce (192). V lidské podkožní tukové tkáni aktivuje podání rekombinantního IL-6 lipolýzu s následným uvolněním volných mastných kyselin do cirkulace (216). Úloha IL-6 ovšem není zcela jednoznačně definována, jelikož existuje řada studií s rozporupnými závěry. Například u modelu IL-6 deficitní myši (knock-out model) dochází k rozvoji obezity, inzulínové rezistence a porušené glukózové toleranci (221).

TNF α (tumor necrosis factor α) byl mezi historicky prvními z řady adipocytokinů navržen jako spojující článek mezi obezitou a inzulínovou rezistencí (144). Exprese genu pro TNF α je zvýšena v podkožní tukové tkáni obézních jedinců a někteří autoři pozorovali pokles plazmatických hladin toto proteinu i jeho genové exprese v tukové tkáni po redukci hmotnosti (35; 40; 105). Na

zvířecím modelu a *in vitro* indukuje TNF α inzulinovou rezistenci přímou interakcí s inzulinovým receptorem resp. s postreceptorovou signalizační kaskádou (89) (88; 118) a aktivací lipolýzy spolu s inhibicí aktivity lipoproteinové lipázy, oba tyto efekty vedou ke zvýšení hladiny volných mastných kyselin (65; 102; 142). Přestože tuková tkáň a zejména makrofágy zde lokalizované produkují TNF α , katetrizačními experimenty bylo zjištěno, že takto lokálně produkovaný TNF α není do systémové cirkulace z podkožní tukové tkáně uvolňován (142). TNF α tedy pravděpodobně působí parakrinně v tukové tkáni a podílí se na regulaci inzulinové senzitivity na lokální úrovni (181).

Shrnutí úvodní části:

Tuková tkáň je v současné době chápána jako endokrinní orgán uvolňující do cirkulace vedle volných mastných kyselin celou řadu potentních látek hormonální povahy, které ovlivňují buněčné pochody ve vzdálených tkáních. Některé z těchto látek prokazatelně významně ovlivňují inzulinovou senzitivitu v kosterním svalu, játrech a vlastní tukové tkáni, jiné působí navíc i mechanismy zprostředkovanými skrze centrální nervový systém (leptin). Řada produktů tukové tkáně má úzký vztah k regulaci imunitní a zánětlivé odpovědi a podílí se tak na navození celotělového mírného zánětlivého stavu, který je společným rizikovým faktorem pro rozvoj aterosklerózy a diabetes mellitus 2. typu. Ovlivnění endokrinních funkcí tukové tkáně je již v současné době cílem některých farmakologických i nefarmakologických intervencí vedoucích ke zlepšení inzulinové rezistence, v budoucnu se dá v tomto ohledu předpokládat vývoj dalších nových látek ze skupiny hypolipidemik a antidiabetik. Přes tyto povzbudivé fakty zůstává většina otázek týkajících se regulace a přesné úlohy jednotlivých adipokinů v regulaci celotělové inzulinové senzitivity u člověka nezodpovězena a jsou v současné době předmětem výzkumu v řadě laboratoří.

2. Cíle práce:

Etiopatogeneze inzulínové rezistence ve vztahu k obezitě a porušení regulaci metabolismu tukové tkáně je předmětem současného intenzivního výzkumu, potencovaného dále možnostmi identifikace z farmakologického hlediska potenciálně užitečných cílových molekul a pochodů. Porucha v regulaci mobilizace lipidů v tukové tkáni (lipolýza) u obézních subjektů se podílí na vyšší koncentraci NEMK v plazmě těchto subjektů a mlže přispívat ke vzniku inzulínové rezistence, jak popsáno dříve. Dvě práce byly zaměřeny na regulaci lipolýzy v podkožní tukové tkáni s následujícími cíly:

Publikace č. 1: Cílem studie bylo zjistit, zda silově-dynamický trénink modifikuje regulaci lipolýzy v podkožní tukové tkáni, zejména s ohledem na podíl α 2-adrenergní anti-lipolytické dráhy.

Publikace č. 2: Relativní zapojení drah regulovaných katecholaminy a ANP (atrial natriuretic peptide) v kontrole mobilizace lipidů v podkožní tukové tkáni bylo studováno během opakované fyzické zátěže.

Endokrinní funkce tukové tkáně a produkce adipokinů s předpokládanou úlohou v rozvoji inzulínové rezistence byla studována ve třech intervenčních studiích s následujícími cíly:

Publikace č. 3: Cílem studie bylo definovat, zda je zlepšení inzulínové senzitivity po silově dynamickém tréninku spojeno se změnami v plazmatické koncentraci a genové expresi vybraných adipokinů

Publikace č. 4: Cílem studie bylo zjistit, zda aerobní trénink indukuje změny v genové expresi a plazmatické koncentraci vybraných adipokinů se vztahem k inzulínové rezistenci

Publikace č. 5: Cílem studie bylo zkoumat, zda změny v inzulínové rezistenci indukované nízkokalorickou dietou jsou spojeny se změnami v plazmatické koncentraci a zastoupení jednotlivých polymerních izoform adiponectinu

3. Publikace č. 1: Vliv silově-dynamického tréninku na funkční rovnováhu mezi β - a α_2 - adrenergní lipolytickou dráhou

3.1 Úvod a cíle studie

Lipolýza v lidské tukové tkáni je kontrolována souhrou mezi aktivací jednotlivých subtypů adrenergních receptorů. *In vitro* studie s izolovanými adipocyty jasně demonstrují potlačení adrenalinem či noradrenalinem indukované lipolýzy při paralelní stimulaci α_2 -adrenergních receptorů. Celkový efekt katecholaminů na danou tukovou buňku je dán relativním zastoupením a aktivací β a α_2 receptorů (14; 115). Řada studií poukázala na poruchu v regulaci adrenergní lipolýzy v tukové tkáni obézních jedinců zprostředkovanou zejména alterací v β -adrenergní dráze. Nicméně také poruchy v α_2 -adrenergní signalizaci přispívají k porušené regulaci mobilizaci lipidů u obézních subjektů (201). Tuková tkáň je důležitou cílovou tkání pro metabolické účinky inzulínu, který výrazně inhibuje lipolýzu a interaguje s β -adrenergní signalizační kaskádou. Inzulín aktivuje intracelulární enzym fosfodiesterázu-3B, která hydrolyzuje cAMP a desenzitizuje tak buňku k účinku β -adrenergní stimulace (47).

Inzulínová rezistence je běžným nálezem u obézních pacientů a její ovlivnění je cílem mnoha intervenčních studií. Souhra mezi β - a α_2 -adrenergními receptorovými drahami nebyla dosud u obézních subjektů zkoumána *in vivo* za použití techniky mikrodialýzy. Primárním cílem této studie je popsat vliv silově-dynamického tréninku na regulaci β - a α_2 -adrenergní lipolýzy v podkožní tukové tkáni za bazálních podmínek a během hyperinzulinémie navozené pomocí hyperinzulinemického euglykemického klempu. Pro korelaci fyziologických pozorování se změnami na genové úrovni byla exprese klíčových genů podílejících se na regulaci lipolýzy stanovena v bioptických vzorcích podkožní tukové tkáně pomocí RT-qPCR metody.

3.2 Metody

12 obézních mužů (věk 47.4 ± 2.8 let; body mass index = 32.7 ± 0.9) bylo vyšetřeno během euglykemického hyperinzulinemického klempu před a po 3-měsíčním silově dynamickém tréninku. Lipolytický efekt perfuze čistého isoproterenolu a adrenalinu nebo v kombinaci s phentolaminem (α_2 -receptorový antagonist) byl měřen v podkožní tukové tkáni metodou mikrodialýzy a extracelulární koncentrace glycerolu před započítím klempu a v jeho třetí hodině. Biopsie podkožní tukové tkáně byly získány před a po ukončení tréninku pro stanovení genové exprese. Index HOMA-IR byl vypočítán podle rovnice $HOMA-IR = (\text{glykémie} \times \text{inzulinémie}) / 22.5$. Parametr SI_{klempe} (index inzulínové senzitivity odvozený z parametrů euglykemického hyperinzulinemického klempu) je definován jako $(M / (G \times \Delta I)) / 18$, kde M představuje rychlost infuze glukózy během

rovnovážného stavu během klempu (mg/min); G představuje rovnovážnou koncentraci glukózy během klempu (mmol/l) a ΔI představuje rozdíl mezi klidovou a rovnovážnou koncentrací inzulínu během klempu ($\mu\text{U/ml}$).

Podrobný popis metod je uveden v Publikaci č. 1

3.3 Výsledky

Antropometrické a biochemické parametry

Silově dynamický trénink vedl ke zlepšení inzulínové senzitivity měřeno indexem spotřeby glukózy během hyperinzulinemického euglykemického klempu o 34%. Během intervence nedošlo ke změně tělesné hmotnosti ani k signifikantnímu úbytku tukové hmoty. Výsledky shrnující antropometrické a biochemické parametry jsou sumarizovány v Tabulce 1.1.

Tabulka 1.1 Antropometrické a metabolické parametry před a po 3-měsíčním silově- dynamickém tréninku

	Před tréninkem	Po tréninku	<i>p</i>
Antropometrické parametry			
Hmotnost (kg)	109.3±3.7	109.5±3.7	NS
BMI (kg/m ²)	32.9±1.1	33.0±1.2	NS
% tukové hmoty	32.2±1.4	31.3±1.5	NS
% tukuprosté hmoty	68.5±1.4	70.4±1.2	NS
VO ₂ max ml/kg/min	2.33±0.12	2.50±0.14	NS
Metabolické a hormonální parametry			
Celkový cholesterol (mmol/l)	5.05±0.21	5.04±0.31	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	1.12±0.09	1.12±0.08	NS
Triglyceridy (mmol/l)	1.65±0.31	1.69±0.38	NS
Noradrenalin (pg/ml)	307±20	321±22	NS
Adrenalin (pg/ml)	40±4	41±3	NS
Leptin (ng/ml)	15.6±1.5	13.1±1.4	0.02
Glukóza (mmol/ml)	7.12±1.09	6.26±0.47	NS
Inzulín ($\mu\text{U/ml}$)	10.9±3.9	5.3±1.7	NS
HOMA-IR	3.34±0.4	1.56±0.56	0.05
Hyperinzulinemický euglykemický klemp			
Glucose disposal rate (mg/min/kg)	3.0±0.4	4.05±0.36	0.02
SI clamp	2.60±0.60	3.58±0.75	0.04

Data jsou prezentována jako průměr±SE. N=12, *p*-hodnota pro porovnání před vs po tréninku BMI (body mass index), VO₂max (maximální spotřeba kyslíku), HDL cholesterol (high density lipoprotein cholesterol), HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance index), vypočteno jako: HOMA-IR = (glykémie x inzulínémie) / 22.5

SI_{klemp} (index inzulínové senzitivity odvozený z parametrů euglykemického hyperinzulinemického klempu) je definován jako $(M/(G \times \Delta I))/18$, kde M představuje rychlost infuze glukózy během rovnovážného stavu během klempu (mg/min); G představuje rovnovážnou koncentraci glukózy během klempu (mmol/l) a ΔI představuje rozdíl mezi klidovou a rovnovážnou koncentrací inzulínu během klempu ($\mu\text{U/ml}$).

Genová exprese v podkožní tukové tkáni

Expres klíčových genů regulujících lipolýzu (α_2 a β_2 adrenergní receptor, hormon-senzitivní lipáza a phosphodiesteráza-3B) byla stanovena v podkožní tukové tkáni. Silově dynamický trénink nevedl ke změnám v expresi těchto genů.

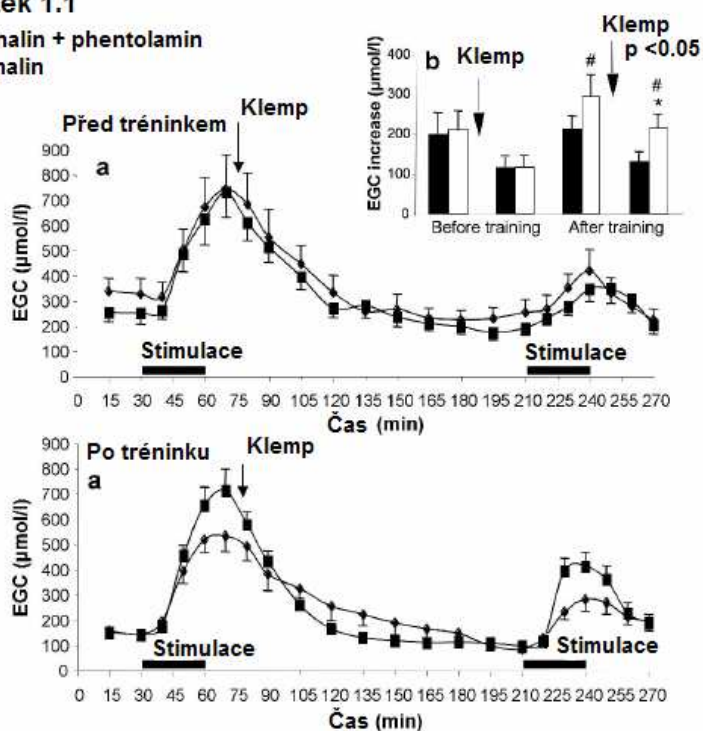
Lipolytická odpověď na perfuzi isoproterenolu, adrenalinu a jejich kombinaci s phentolaminem během euglykemického klempu.

Bazální (klidová) extracelulární koncentrace glycerolu v tukové tkáni (EGC) byla nižší po absolvování silově dynamického tréninku v porovnání s EGC před tréninkem (331 ± 53 versus 149 ± 27 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0.05$). Perfuze adrenalinu indukovala vzestup EGC na začátku i ve třetí hodině klempu, nicméně efekt adrenalinu na stimulaci EGC byl o 36% procent nižší ve třetí hodině klempu v porovnání se stimulací před započítáním klempu a nebyl ovlivněn tréninkem (Obr. 1.1).

Přidání phentolaminu do roztoku adrenalinu v mikrodialyzační sondě nevedlo ke zvýšení EGC odpovědi po stimulaci adrenalinem před tréninkem (Obr. 1.1a). Výrazná potenciace lipolytické odpovědi měřená EGC bylo pozorováno při perfuzi phentolaminu a adrenalinu po tréninku jak před tak během klempu (Obr. 1.1b)

Obrázek 1.1

■ Adrenalin + phentolamin
◆ Adrenalin



Obrázek č. 1.1 In situ efekt perfuze samotného adrenalinu ($10 \mu\text{mol/l}$) (■) nebo v kombinaci s phentolaminem ($100 \mu\text{mol/l}$) (◆) na extracelulární koncentraci glycerolu v abdominální podkožní tukové tkáni během euglykemického hyperinzulinemického klempu, před a po silově dynamickém tréninku u obézních osob. a: absolutní hodnoty extracelulární koncentrace glycerolu. b: změny v extracelulární koncentraci glycerolu po perfuzi adrenalinu (■) nebo adrenalinu + phentolaminu (□) (změny glycerolu byly vypočítány takto: průměrná koncentrace glycerolu v průběhu 30-ti minut minus průměrná koncentrace glycerolu z 2 dvou 15-ti minutových frakcí získaných před infuzí) # $p < 0.05$ porovnání adrenalin vs adrenalin+phentolamin

3.4 Diskuze

Největším přínosem této studie je nález, že 3 měsíční silově dynamický trénink vede ke zlepšení inzulínové senzitivity (poklesu inzulínové rezistence). Inzulínová senzitivita byla zvýšena jak na úrovni celého organismu, jak dokumentováno parametry euglykemického

hyperinzulinemického klempu, ale také na lokální, tkáňové úrovni v tukové tkáni, kde došlo k významným změnám v adrenergní regulaci lipolytických drah. Nebyly přitom pozorovány signifikantní změny v objemu celkové tukové tkáně.

Lipolýza je v lidských tukových buňkách řízena zejména interakcí mezi katecholaminy a inzulínem. Adrenalin a nor-adrenalin aktivují jak lipolytické β -adrenergní receptory, tak α_2 -receptory, které zprostředkovávají anti-lipolytický efekt. Antilipolytický efekt adrenalinu je hraje významnou roli v podkožní tukové tkáni obézních jedinců. V předchozích studiích jsme prokázali, že u obézních subjektů je aktivace α_2 -adrenoreceptorů zodpovědná za snížení katecholaminy indukovaného lipolytického efektu v klidu (177) i během fyzické zátěže (82; 201). *In vitro* experimenty na izolovaných adipocytech dokumentují, že inzulín modifikuje funkční rovnováhu mezi β - a α_2 -adrenergní regulací ve prospěch α_2 antilipolytické odpovědi (56; 134).

Pacienti účastníci se této studie splňovali kritéria pro zařazení mezi inzulino-rezistentní subjekty, jak potvrzuje porovnání parametrů odvozených z hyperinzulinemického klempu s hodnotami získanými při studiu referenčních populací (101; 197). V porovnání se zdravými subjekty, byla lipolytická odpověď po stimulaci β -adrenergními agonisty snížena cca 2-3x u souboru obézních, inzulino-rezistentních subjektů participujících v naší studii (204). Navíc jsme v této studii nepozorovali zvýšení adrenalinem-indukované lipolytické odpovědi po zablokování α_2 -adrenergních receptorů, jak jsme v minulosti popsali u obézních žen (177). Tyto výsledky nás vedou k hypotéze, že u inzulino-rezistentních obézních jedinců je snížena β -adrenergní aktivace lipolýzy v podkožní abdominální tukové tkáni. Nabízí se také hypotéza, že při rozvinuté inzulínové rezistenci není stimulace α_2 -adrenergních receptorů adrenalinem schopná dostatečně inhibovat β -adrenergní stimulaci, jelikož po perfuzi phentolaminu nedošlo ke zvýšení adrenalinem-indukované lipolýzy. Tato hypotéza je dále potvrzena i během hyperinzulinemického klempu, kdy dochází k potlačení katecholaminy-indukované lipolýzy. Narozdíl od zdravých osob (201), během klempu nedošlo u inzulino-rezistentních subjektů v naší studii k potenciaci lipolýzy phentolaminem, což je další pozorování, které dokumentuje, že snížení katecholaminy-indukované lipolytické odpovědi během hyperinzulinemického klempu při rozvinuté inzulínové rezistenci nelze vysvětlit aktivací α_2 -antilipolytické dráhy.

Tříměsíční silově dynamický trénink vedl k modifikaci lipolytické regulace v podkožní tukové tkáni. Prvním důležitým zjištěním je fakt, že došlo k poklesu spontánní klidové lipolýzy, měřeno extracelulární koncentrací glycerolu v kontrolní sondě. Podobně i během klempu byla inzulínem zprostředkovaná inhibice spontánní lipolýzy výraznější po tréninkovém programu v porovnání se stavem na počátku studie. Tyto výsledky dokumentují, že silově dynamický trénink indukoval zlepšení citlivosti tukové tkáně k antilipolytickému efektu inzulínu. Blokáda α_2 -receptorů

zvýšila adrenalinem-indukovanou lipolytickou odpověď po tréninku, ovšem nikoli před tréninkem. To naznačuje, že po silově dynamickém tréninku (a zlepšení inzulínové senzitivity) je obnovena schopnost adrenalinu aktivovat α_2 -antilipolytickou dráhu. Identické regulace byly pozorovány během klempu, kdy phentolamine zvýšil adrenalinem-indukovanou lipolýzu po, ovšem nikoli před tréninkem (Obr. 1.1). Z celkového hlediska ze zdá, že tyto efekty jsou vysvětlitelné zlepšením inzulínové senzitivity na lokální úrovni v tukové tkáni, které bylo indukováno silově-dynamickým tréninkem. V tomto smyslu lze tedy uzavřít, že silově-dynamický trénink má obdobné efekty na inzulínovou rezistenci jako aerobní trénink. Jelikož nedošlo k ovlivnění exprese genů regulujících lipolýzu, nejsou efekty vyvolané tréninkem vysvětlitelné změnou na úrovni genové transkripce.

Závěrem tedy lze shrnout, že tato studie dokládá zlepšení celotělové i tkáňové inzulínové senzitivity pomocí silově-dynamického tréninku u obézních subjektů. Navíc tato intervence indukuje změnu ve funkční rovnováze mezi β a α_2 -adrenergní regulací lipolýzy receptorů. U obézních a inzulino-rezistentních jedinců není α_2 -adrenergní cesta schopna efektivně působit proti β -receptory zprostředkované lipolýze. Silově dynamický trénink upravuje vztahy mezi těmito lipolýzu regulujícími drahami u obézních subjektů a zlepšuje tak stav metabolické inflexibility tukové tkáně.

4. Publikace č. 2: Atrial natriuretic peptid- stimulovaná lipolýza během fyzické zátěže

4.1 Úvod

Tradičně je vzestup lipolýzy v lidské tukové tkáni během fyzické zátěže připisován vzestupu plazmatické hladiny katecholaminů a paralelnímu poklesu plazmatické hladiny inzulínu, oba tyto pochody vedou ke zvýšení intracelulární koncentrace cAMP (cyklického adenosin-monofosfátu) a aktivace hormon senzitivní lipázy (15; 114). Nedávné zjištění, že natriuretické peptidy významně aktivují lipolýzu, indukuje nové otázky ohledně regulace lipidové mobilizace (189; 190). Natriuretické peptidy působí skrze aktivaci specifických membránových receptorů spřažených s intracelulární produkcí cGMP (cyklického guanosin-monofosfátu) a aktivací cGMP-dependentní kinázy, která následně fosforyluje (aktivuje) hormon senzitivní lipázu (189; 190). Atriální natriuretický peptid (ANP) má výraznou lipolytickou aktivitu *in vitro* i *in vivo*, nicméně tato dráha je specifická pro tukovou tkáň primátů, včetně člověka (72; 189; 191). Během fyzické zátěže dochází ke 2-3 násobnému zvýšení plazmatické koncentrace ANP, ostatní natriuretické peptidy za fyziologických podmínek nejsou během fyzické zátěže zvýšeny a na regulaci lipolýzy se tedy pravděpodobně ve větší míře nepodílejí (145).

V dřívějších studiích bylo dokumentováno, že hormonální a metabolická odpověď na dvě po sobě následující fyzické zátěže o stejné intenzitě je odlišná (200). Během druhé fyzické zátěže, následující 60 minut po ukončení první zátěže, dochází k větší sekreci adrenalinu a k nárůstu lipolytické odpovědi zátěž. Podrobnější mechanismy zodpovědné za tento efekt nejsou dosud známé. Cílem této studie je zkoumat interakci mezi katecholaminy a ANP v regulaci lipolýzy během dvou po sobě následujících periodách fyzické zátěže.

4.2 Metody

8 zdravých mužů (věk 23 ± 0.6 let, body mass index 24.0 ± 0.7 kg/m²) podstoupilo dvě periody fyzické zátěže na bicyklovém ergometru. Každá perioda zátěže trvala 45 minut, intenzita zátěže byla v obou případech 50% individuální maximální spotřeby kyslíku. První a druhá perioda byly odděleny 60 minutami odpočinku. Extracelulární koncentrace glycerolu, odpovídající lipolýzu v podkožní tukové tkáni, byla měřena pomocí mikrodialýzy. Celkem byly u každého dobrovolníka aplikovány tři mikrodialyzační sondy do abdominální podkožní tukové tkáně. Kontrolní sonda byla promývána Ringerovým roztokem, další sonda byla promývána Ringerovým roztokem a phentolaminem (selektivní blokátor α_2 -adrenergních receptorů) a poslední sonda byla promývána Ringerovým roztokem, phentolaminem a propranololem (blokátor β -adrenergních receptorů).

Podrobný popis metod je uveden v Publikaci č. 2

4.3 Výsledky

Hormonální odpověď na fyzickou zátěž

Koncentrace adrenalinu, noradrenalinu, glukózy, inzulínu, růstového hormonu a ANP v klidu, během obou zátěží a během intervalu mezi zátěžemi jsou shrnuty v Tabulce č. 2.1. Hladina noradrenalinu vzrostla během obou period fyzické zátěže, nebyly pozorovány rozdíly mezi dynamikou vzestupu noradrenalinu mezi prvním (E1) a druhým cvičením (E2). Naopak koncentrace adrenalinu vrostla signifikantně více během E2 v porovnání s E1 a růstového hormonu (GH) během E2 vzrostla méně oproti E1. Hladiny glukózy se během E1 nezměnily, ovšem poklesla během E2. Plazmatická koncentrace inzulínu poklesla během E1, poté v „recovery“ periodě dosáhla bazálních hodnot a poté opět poklesla během E2 k hodnotám nižším než byly naměřeny v E1 ($p < 0.001$). Plazmatická koncentrace ANP byla zvýšena v průběhu E1 a poté poklesla k bazálním hodnotám, zatímco během E2 byly naměřeny hodnoty převyšující plazmatickou koncentraci ANP během E1.

Tabulka 2.1 Plazmatické koncentrace glukózy a hormonů v klidu, během první (E1) a druhé (E2) fyzické zátěže

Čas (min)	Klid 30	E1			E2		
		60	75	Recovery 135	165	180	Recovery 210
Noradrenalin pg/ml	294±28	827±65†	901±75†	332±34	987±58†	992±45†	
Adrenalin pg/ml	62±4	87±5†	109±9†	65±2	141±28*†	185±38*†	
Glukóza mmol/l	4.9±0.2	5.1±0.2	4.8±0.2	4.9±0.4	4.5±0.2†	4.4±0.2*†	4.2±0.2*†
Insulin μ U/ml	11.5±1.1	9.3±0.8	8.4±0.7†	12.6±1.3	10.4±0.8	7.0±0.4*†	8.8±0.8
GH ng/ml	4.8±0.7		14.8±5.3†	3.9±1.1		7.1±0.5*†	
ANP pg/ml	60.9±3.5		83.1±2.6†	65.5±3.8		92.7±3.4*†	

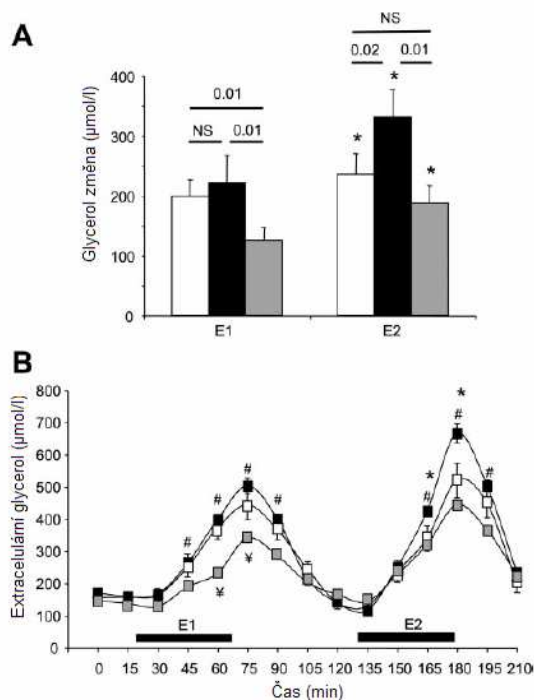
Data jsou vyjádřena jako průměr±SE, GH (growth hormone), ANP (Atrial natriuretic peptide), † $p < 0.05$ v porovnání s hodnotami měřeními v klidu nebo po 60 minutách odpočinku, * $p < 0.05$ v porovnání s hodnotami naměřenými během E1

Reakce extracelulární koncentrace glycerolu (EGC) na obě fyzické zátěže

V porovnání s kontrolní sondou nebyla EGC v sondě promývané phentolaminem odlišná během E1, ale byla signifikantně vyšší během E2. V sondě s duální α i β adrenergí blokádou (phentolamin plus propranolol) byla EGC během E1 nižší v porovnání se sondou kontrolní i se sondou obsahující phentolamin. Během E2 byly však EGC s sondě s duální blokádou nižší než v sondě s phentolaminem, ale nebyla odlišná od kontrolní sondy. Data jsou sumarizována na obrázku č.2.1B.

Rozdíly v odpovědi extracelulární koncentrace glycerolu během E1 a E2 jsou shrnuty na obrázku 2.1A. Ve všech sondách došlo během E2 k vyššímu nárůstu EGC v porovnání s E1. Phentolamin signifikantně zvýšil EGC během E2, ovšem nikoli během E1. Duální blokáda α i β adrenergických receptorů způsobila 35% pokles EGC během E1, tento efekt ale nebyl patrný během E2.

Obrázek 2.1



Obrázek č. 2.1. A: změny v extracelulární koncentraci glycerolu (EGC) během první (E1) a druhé (E2) fyzické zátěže v kontrolní sondě (□), v sondě promývané phentolaminem (■) a v sondě promývané phentolaminem+propranololem (šedé čtverce). Změny byly vypočteny jako rozdíl mezi průměrnými hodnotami získanými během E1 a E2 a hodnotami naměřenými před fyzickou zátěží. Data jsou vyjádřena jako průměr±SE. * $p < 0.05$ v porovnání s E1. NS (not significant). B: EGC v abdominální podkožní tukové tkáni v kontrolní sondě (□), v sondě promývané phentolaminem (■) a v sondě promývané phentolaminem+propranololem (šedé čtverce) během opakované 45-minutové zátěže na bicyklovém ergometru (E1 a E2). Data jsou vyjádřena jako průměr±SE. * $p < 0.05$ sonda s phentolaminem versus kontrolní sonda, † $p < 0.05$ sonda phentolamin+propranolol versus kontrolní sonda, # $p < 0.05$ sonda phentolamin+propranolol versus phentolamin

Změny v extracelulární koncentraci cAMP a cGMP během obou fyzických zátěží

Extracelulární koncentrace cAMP a cGMP byly měřeny k určení relativního přispění katecholaminů (cAMP) a ANP (cGMP) k regulaci lipolýzy během fyzické zátěže. Analýzy byly provedeny z dialyzátu získaného ze sond promývaných phentolaminem a phentolaminem+propranololem během E1 a E2. Výsledky ukazují, že extracelulární koncentrace cGMP vzrostla během E1 i E2 bez rozdílu mezi sondami. Podobně i extracelulární koncentrace cAMP vzrostla během E1 a E2, ovšem nárůst cAMP byl nižší v sondě promývané phentolaminem+propranololem v porovnání se sondou promývanou pouze phentolaminem.

4.4 Diskuze

Tato studie dokumentuje významný podíl ANP ve stimulaci lipolýzy v abdominální podkožní tukové tkáni během po sobě následujících period fyzické zátěže. Řada předchozích studií byla zaměřena na úlohu adrenalinu a inzulínu v této regulaci, nicméně úloha ANP nebyla dosud v tomto kontextu zkoumána. Dvě po sobě následující 45-minutové epizody fyzické zátěže oddělené 60 minutami odpočinku byly využity ke stimulaci sympatického nervového systému a zvýšení plazmatických hladin ANP. Za využití mikrodialyzační techniky a selektivní blokády β - a α_2 -adrenergických receptorů jsem prokázali, že více než 50% z lipolytické odpovědi indukované

fyzickou zátěží a nezávislé na adrenergním systému (blokáda receptorů) je zprostředkováno ANP-dependentními mechanismy.

V předchozí studii jsme prokázali, že lokální infuze propranololu efektivně blokuje lipolytický efekt isoproterenolu (β -agonista) v tukové tkáni (145). Blokáda α_2 -adrenergních receptorů během fyzické zátěže zvyšuje extracelulární koncentraci glycerolu v podkožní tukové tkáni, omezením anti-lipolytického efektu α_2 stimulace (202). V naší studii tento efekt nedosáhl statistické signifikance během E1, ale byl významně přítomen v průběhu E2. Plazmatické koncentrace adrenalinu byla 1.7krát vyšší během E2 v porovnání s E1, zatímco vzestup hladin noradrenalinu byl u obou zátěží identický. V přítomnosti paralelní blokády β - a α_2 receptorů došlo pouze k částečné redukci cvičením-indukované lipolýzy o 35% během E1 i E2 porovnání se sondou promývanou pouze phentolaminem. Tyto výsledky potvrzují, že na reziduálním zvýšení lipolýzy po duální blokádě adrenergních receptorů se podílejí non-adrenergní mechanismy, pravděpodobně zahrnující pokles v plazmatické hladině inzulínu a zvýšení plazmatické koncentrace ANP.

Nejvýznamnějším dokladem podporující úlohu ANP v regulaci lipolýzy (měřeno EGC) je nález, že EGC v sondě promývané phentolaminem+propranololem byla výrazně vyšší během E2 v porovnání s E1. Dále jsme v této studii pozorovali, že extracelulární koncentrace cGMP v tukové tkáni (odrážející lokální ANP aktivitu (145)) byly identicky zvýšené během obou zátěžových period, zatímco lokální extracelulární koncentrace cAMP (odrážející aktivitu β -adrenergních receptorů) byla snížena v sondě s duální adrenergní blokádou, demonstrující jiný původ stimulace lipolýzy. Parametry této non-adrenergní lipolýzy jsou pozitivně asociovány s plazmatickou koncentrací ANP i lokální extracelulární koncentrací cGMP ($r=0.85$, $p=0.02$). Na základě těchto nálezů tedy uzavíráme, že se ANP-dependentní lipolytická dráha podílí na zvýšení lipolýzy v podkožní tukové tkáni a je alespoň částečně zodpovědná za reziduální lipolytickou odpověď na cvičení za podmínek duální adrenergní receptorové blokády.

Významným regulátorem lipolýzy během fyzické zátěže je inzulín, jehož plazmatická koncentrace během zátěže klesá a tím je stimulována lipolýza v podkožní tukové tkáni (79; 84; 141). V předkládané studii byl pokles inzulínu výraznější během E2. K podrobnějšímu posouzení vlivu adrenalinu na non-adrenergní regulaci lipolýzy bude analyzovat lipolytický efekt po sobě následujících cvičení (E1 a E2) za podmínek s konstantní hladinou glukózy a inzulínu, například během euglykemického klempu. Mezi další možné regulační mechanismy, které se mohou podílet na non-adrenergní regulaci lipolýzy patří kortisol, parathyroidní hormon (PTH), interleukin-6 a růstový hormon. Kortisol má permisivní účinek na katecholaminy indukovanou lipolýzu, ale jeho podíl v krátkodobé regulaci není pravděpodobný. PTH in vitro stimuluje mobilizaci lipidů, nicméně k dosažení tohoto efektu bylo zapotřebí vysokých koncentrací PTH, přesahujících výrazně

fyziologické rozmezí. Interleukin-6 rovněž stimuluje lipolýzu v lidské tukové tkáni, nicméně při koncentracích přesahujících koncentrace dosahované během fyzické zátěže. Případná úloha lipolýzu stimulujícího růstového hormonu nemůže být na základě současných experimentů vyloučena, nicméně v naší studii jsme pozorovali pokles koncentrace tohoto hormonu během E2 v porovnání s E1.

Tato studie popisuje úlohu ANP v regulaci lipolýzy v podkožní tukové tkáni během fyzické zátěže. Na základě pozorování popsanych v této studii shrnujeme, že se vedle adrenalinu a inzulínu na regulaci lipolytické odpovědi za fyziologických podmínek podílí i ANP. Podrobnější studie za různých fyziologických a patologických stavů jsou nezbytné k detailnímu posouzení této neočekávané regulace. Studie zahrnující obézní subjekty s jakož i bez manifestní inzulínové rezistence mohou přinést další důležité poznatky.

5. Publikace č. 3: Silově dynamický trénink zlepšuje inzulinovou senzitivitu bez ovlivnění genové exprese a plazmatické koncentrace adipokinů

5.1 Úvod

Pravidelná fyzická aktivita patří mezi efektivní nefarmakologické intervence zlepšující inzulinovou senzitivitu a glukózovou toleranci u zdravých, obézních (74; 78) a inzulinorezistentních jedinců (162), jakož i u pacientů s diabetes mellitus 2. typu (36; 39). Silový trénink byl rovněž asociován se zlepšením inzulinové senzitivity, podobně jako aerobní trénink, pravděpodobně ovšem jinými mechanismy (57; 166).

Obezita je charakterizována pro-zánětlivým stavem, který se podílí na vzniku inzulinové rezistence, diabetes mellitus a aterosklerózy (86; 209). Plazmatické koncentrace řady proteinů produkovaných tukovou tkání (tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), antagonist receptoru pro interleukin-1 (IL-1ra), solubilní TNF- α receptor (sTNF-R) a C-reaktivní protein (CRP)) je zvýšena u obézních subjektů a podílí se na vzniku tohoto pro-zánětlivého stavu (164). Naopak adiponectin a leptin, produkované adipocyty mají inzulinosenzitivizující účinky, zprostředkované aktivací AMP-kinázy (228).

Dosud nebyl v žádné studii zkoumán paralelní vliv silového (silově-dynamického) tréninku na inzulinovou rezistenci a zároveň na plazmatickou koncentraci adipocytokinů a jejich genovou expresi v podkožní tukové tkáni obézních mužů. Cílem této studie bylo definovat, zda tento typ tréninku vede ke zlepšení inzulinové senzitivity a zda indukuje protizánětlivé změny v plazmatické koncentraci a genové expresi adiponectinu, leptinu, IL-1 β , IL-6 a TNF- α .

5.2 Metody

12 obézních mužů (věk: 50.4 \pm 2.3 roky; body mass index: 33.6 \pm 1.2 kg/m²) bylo vyšetřeno před a po 3-měsíčním silově-dynamickém tréninku. Trénink sestával ze 17 různých cviků prováděných se zátěží odpovídající 60-70% individuální maximální svalové síly s 12-15 repeticemi každého cviku. Každý týden obsahoval 3 tréninkové dny, které byly vedeny pod dohledem školeného instruktora. Inzulinové senzitivita byla měřena pomocí euglykemického-hyperinzulinemického klempu. Odběry krve a jehlová biopsie podkožní tukové tkáně byly získány před a po ukončení studie. Plazmatická koncentrace a exprese genů v podkožní tukové tkáni byla stanovena pro adiponectin, leptin, interleukin-1 β , interleukin-6 a TNF- α .

Podrobný popis metod je uveden v Publikaci č. 3.

5.3 Výsledky

Antropometrické a biochemické parametry

Trénink nevedl k signifikantním změnám v tělesné hmotnosti, BMI, obsahu tukové hmoty ani ostatních sledovaných antropometrických parametrech. Rovněž aerobní zdatnost, měřená maximální spotřebou kyslíku (VO_{2max}) zůstala tréninkem neovlivněna. Silově dynamický trénink výrazně zvýšil svalovou sílu při bench-press a leg-press cvičích o 33.4 % a 31.7 %. Inzulínová rezistence se po tréninku výrazně zlepšila, jak dokumentuje zvýšení „glucose disposal rate“ o 31 % ($p=0.03$) a indexu SI_{klempe} o 36 % ($p=0.04$). Výsledky jsou sumarizovány v Tabulce č. 3.1 a 3.2.

Tabulka 3.1 Metabolické a hormonální charakteristiky subjektů před a po 3-měsíčním silově-dynamickém tréninku

	Před tréninkem	Po tréninku	p hodnota před vs po
Glukóza (mmol/l)	7.1 ± 0.9	6.6 ± 0.9	NS
Inzulín (mU/l)	10.9 ± 3.2	4.8 ± 1.4	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	5.2 ± 0.2	5.2 ± 0.3	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	1.1 ± 0.08	1.07 ± 0.07	NS
Triglyceridy (mmol/l)	1.8 ± 0.3	1.8 ± 0.2	NS
HOMA-IR	3.4 ± 0.98	1.42 ± 0.5	0.02
Glucose disposal (mg.min⁻¹.kg⁻¹)	2.9 ± 0.4	3.8 ± 0.4	0.03
SI_{klempe}	2.5 ± 0.5	3.4 ± 0.6	0.04

Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± SEM, NS = nesignifikantní rozdíl

HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance index), vypočteno jako: $HOMA-IR = (glykémie \times inzulínémie) / 22.5$

SI_{klempe} (index inzulínové senzitivity odvozený z parametrů euglykemického hyperinzulinemického klempu) je definován jako $(M/(G \times \Delta I))/18$, kde M představuje rychlost infuze glukózy během rovnovážného stavu během klempu (mg/min); G představuje rovnovážnou koncentraci glukózy během klempu (mmol/l) a ΔI představuje rozdíl mezi klidovou a rovnovážnou koncentrací inzulínu během klempu ($\mu U/ml$).

Plazmatická koncentrace adipokinů a genové exprese v abdominální podkožní tukové tkáni

Silově dynamický trénink nevedl ke změně plazmatických koncentrací ani genové exprese adiponectinu, IL-1 β , IL-6 ani TNF- α v podkožní tukové tkáni. Plazmatické koncentrace leptinu poklesla o 21.1 % ($p=0.02$), tato změna zůstala signifikantní i po adjustaci na BMI. Genová exprese leptinu v podkožní tukové tkáni nebyla tréninkem ovlivněna. Data jsou shrnuta v Tabulce 3.3 Plazmatická koncentrace leptinu byla pozitivně asociována s BMI na začátku studie ($r = 0.683$, $p = 0.04$). Tréninkem-indukovaná změna genové exprese adiponectinu byla negativně asociována se změnou poměru pas/boky ($r = -0.894$, $p < 0.001$). Hladina TNF- α mRNA v podkožní tukové tkáni byla pozitivně asociována s hladinou IL-1 β mRNA před i po ukončení studie ($r = 0.764$, $r = 0.718$, respektive, $p < 0.01$). Tréninkem-indukované změny v hladině TNF- α mRNA byly pozitivně asociovány se změnami hladiny IL-1 β mRNA v podkožní tukové tkáni ($r = 0.855$, $p < 0.01$). Žádné

další korelace mezi hladinami mRNA (genovou expresí) a plazmatickou hladinou sledovaných adipokinů nebo mezi jejich tréninkem-indukovanými změnami nebyly pozorovány.

Tabulka 3.2 Antropometrické a další klinické charakteristiky subjektů před a po 3-měsíčním silově-dynamickém tréninku

	Před tréninkem	Po tréninku	p hodnota před vs po
Tělesná hmotnost (kg)	109.2 ± 3.8	109.5 ± 3.9	NS
BMI (kg/m²)	33.6 ± 1.2	33.7 ± 1.2	NS
Tuková hmoty (%)	31.6 ± 1.5	30.1 ± 1.3	NS
Tuku-prostá hmota (%)	68.5 ± 1.4	69.9 ± 1.3	NS
Obvod pasu (cm)	115.7 ± 2.4	115.7 ± 2.4	NS
Obvod boků (cm)	112.2 ± 2.2	112.4 ± 1.4	NS
Poměr pas/boky	1.03 ± 0.02	1.03 ± 0.01	NS
Systolický krevní tlak (mm Hg)	140.0 ± 3.3	127.7 ± 5.8	0.002
Diastolický krevní tlak (mm Hg)	92.5 ± 2.8	81.3 ± 3.0	0.002
VO₂ max (ml/kg/min)	21.4 ± 0.9	22.9 ± 1.2	NS
Bench press 1-RM (kg)	51.8 ± 2.8	69.1 ± 2.8	0.005
Leg press 1-RM (kg)	174.9 ± 15.6	230.4 ± 19.0	0.005

Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± SEM, NS = nesignifikantní rozdíl

BMI (body mass index), VO₂max (maximální spotřeba kyslíku), Bench press 1-RM (maximální svalová síla při cviku bench-press při jednom opakování, 1 repetition maximum), Leg press 1-RM (maximální svalová síla při cviku leg-press při jednom opakování, 1 repetition maximum)

Tabulka 3.3 Plazmatické koncentrace a genová exprese v podkožní tukové tkáni před a po 3-měsíčním silově-dynamickém tréninku

	Plazmatická koncentrace			Genová exprese (relativní jednotky)		
	Před tréninkem	Po tréninku	p hodnota	Před tréninkem	Po tréninku	p hodnota
Adiponectin (µg/ml)	5.6 ± 1.2	5.05 ± 1.0	NS	7093 ± 735	7224 ± 816	NS
Leptin (ng/ml)	16.6±2.2	13.1 ± 2.0	0.02	25077± 156	25909±3021	NS
IL-1β (pg/ml)	1.6 ± 0.4	1.0 ± 0.2	NS	21.0 ± 6.6	46.5 ± 21.7	NS
IL-6 (pg/ml)	1.4 ± 0.2	1.5 ± 0.2	NS	3.1 ± 0.6	4.7 ± 1.6	NS
TNF-α (pg/ml)	2.0 ± 0.5	2.3 ± 0.7	NS	5.8 ± 0.8	7.9 ± 1.5	NS

Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr \pm SEM, NS = nesignifikantní rozdíl
IL-1 β (interleukin 1-beta), IL-6 (interleukin-6), TNF- α (tumor necrosis factor-alpha)
Hodnoty mRNA vyjádřeny v relativních jednotkách získaných po normalizaci hodnot exprese 18S RNA ($\times 10^7$)

5.4 Diskuze

Tříměsíční silově-dynamický trénink v této studii indukoval změny v inzulínové rezistenci měřené pomocí euglykemického hyperinzulinemického klempu, aniž by došlo k signifikantním změnám v plazmatické koncentraci nebo expresi genů adipokinů s předpokládaným vztahem k rozvoji inzulínové rezistenci. Pozitivní efekt tréninku byl spojen s významným zvýšením svalové síly (bench-press a leg-press). Zlepšení inzulínové senzitivity v naší studii je v souladu s nálezy ostatních autorů (54; 97; 138; 166).

Plazmatické koncentrace i genová exprese adipokinů jsou modifikované při obezitě a inzulínové rezistenci, lze tedy předpokládat, že tréninkem indukované změny v inzulínové senzitivitě mohou být asociovány se změnami v produkci a/nebo plazmatické koncentraci těchto proteinů. Dosud provedené studie se na tuto hypotézu nezaměřili a údaje o vlivu silového tréninku na genovou expresi adipokinů v podkožní tukové tkáni tak nejsou k dispozici. V naší studii jsme neprokázali změnu genové v podkožní tukové tkáni ani změnu plazmatické koncentrace sledovaných adipokinů, s výjimkou plazmatické koncentrace leptinu, která byla po tréninku snížena. Absence změn plazmatické koncentrace sledovaných adipokinů je v souladu s nálezy jiných autorů (41; 170; 175). Navíc je v naší studii tento nálezný dále potvrzen i absencí změn na úrovni exprese genů pro tyto adipokiny v abdominální podkožní tukové tkáni.

V naší studii jsme pozorovali negativní asociaci mezi TNF- α mRNA a inzulínovou senzitivitou na počátku studie. Tento nálezný by podporoval navrženou úlohu TNF- α v patogenezi inzulínové rezistence, nicméně oprávněnost tohoto předpokladu není dosud objasněna. Při použití katetrizační techniky bylo nalezeno, že tukové tkáň lokálně vyprodukovaný TNF- α do systémové cirkulace neuvolňuje (142). TNF- α se tedy pravděpodobně účastní parakrinních a autokrinních regulací na úrovni tukové tkáň, zejména pak na regulaci lipolýzy (142; 184).

Poněkud diskrepantní se může zdát náš nálezný poklesu plazmatické koncentrace leptinu beze změn v genové expresi leptinu v podkožní tukové tkáni, kde je leptin zejména produkován. Identické nálezy byly publikovány jinými autory v průřezové studii (173) i po tréninkovém programu, kde pokles plazmatické koncentrace leptinu byl nezávislý na BMI (196). Podobně i v naší studii byla redukce plazmatického leptinu nezávislá na BMI. Tyto nálezy napovídají, že fyzická aktivita má reguluje plazmatickou hladinu leptinu jiným mechanismem než redukcí tukové hmoty, pravděpodobně na úrovni sekrece nebo degradace leptinu.

Expresí adiponektinu v abdominální podkožní tukové tkáni ani jeho plazmatická koncentrace nebyla dosud v kontextu silově dynamického tréninku zkoumána. Studie popisující efekt aerobního tréninku na plazmatickou koncentraci adiponektinu přinášejí navzájem rozporuplné závěry (34; 96; 111). Plazmatická hladina i expresí adiponektinu v podkožní tukové tkáni je asociována s velikostí tukových zásob (136; 213). Jelikož v naší studii nedošlo ke změnám v antropometrických parametrech, není absence změn v plazmatické koncentraci a genové expresi adiponektinu překvapivá. Na tomto místě je také nutné zmínit studii demonstrující absenci změn v plazmatické koncentraci adiponektinu a expresi v podkožní tukové tkáni po redukci hmotnosti váhovém úbytku indukovaném velmi nízkokalorickou dietou (75). Genová expresí TNF- α byla pozitivně asociována s genovou expresí IL-1 β na začátku i na konci studie, a změny genové expresi těchto cytokinů vyvolané tréninkem spolu rovněž byly v korelačním vztahu. Tyto nálezy naznačují vzájemný regulační vztah mezi těmito dvěma cytokiny.

Tato studie dokládá, že tříměsíční silově-dynamický trénink zlepšuje inzulínovou senzitivitu u obézních mužů středního věku. Potvrzuje tak vhodnost této intervence u obézních subjektů, nicméně nepodporuje hypotézu o centrální úlohu studovaných adipokinů v tréninkem-indukovaných změnách inzulínové senzitivity.

6. Publikace č. 4: Vliv aerobního tréninku na plazmatickou koncentraci a genovou expresi adipokinů u obézních žen

6.1 Úvod

Obezita je asociována a řadou metabolických komplikací a zvýšený rizikem aterosklerózy (108). Při hledání spojujících článků mezi obezitou a rozvojem metabolického syndromu je pozornost věnována pro-zánětlivému stavu organismu, na jehož vzniku se podílí řada látek produkovaných v tukové tkáni, souhrnně nazvaných adipokiny, jejich plazmatické hladiny i exprese genů v podkožní tukové tkáni jsou změněny u obézních a inzulinorezistentních subjektů. (13; 18; 87). Různé adipokiny mají celou řadu účinků, kterými mohou indukovat nebo naopak předcházet vznik metabolických komplikací spojených s obezitou. Adiponectin zvyšuje utilizaci glukózy a mastných kyselin ve svalové buňce a potlačuje jaterní glukoneogenezu (132), pravděpodobně aktivací enzymu AMP-kináza. TNF α (tumor necrosis factor α) se pravděpodobně podílí na lokální (180) indukci inzulinové rezistence v myších experimentech a *in vitro* experimentech (117) interakcí s inzulinovou signalizací a skrze aktivaci lipolýzy a zvýšení hladiny volných mastných kyselin v plazmě (102; 142). Plazmatické koncentrace IL-6 (Interleukin 6) byly asociovány s hladinou glukózy, inzulinu, a parametry inzulinové senzitivity v průřezových studiích (18; 218).

Aerobní trénink je jednou z klíčových intervencí v terapii obezity zlepšující metabolický profil a upravující rizikové faktory aterosklerózy. Jedním z mechanismů, kterým pohybová aktivita může ovlivňovat metabolické pochody v organismu je vliv zprostředkovaný adipokiny. Výsledky řady studií dokládají rozporuplné efekty aerobního tréninku na plazmatické koncentrace adiponectinu (34; 96; 111), TNF α (12; 77; 116) a IL-6 (12; 12; 73; 77).

Cílem této studie bylo sledovat vliv intenzivního aerobního tréninku na plazmatickou koncentraci a genovou expresi vybraných adipokinů v podkožní tukové tkáni obézních žen.

6.2 Metody

25 obézních, fyzicky neaktivních žen (věk 40.4 ± 6.7 let, body mass index 32.18 ± 3.17 kg/m²) podstoupilo 12-ti týdenní aerobní trénink (frekvence: 5 dnů v týdnu, intenzita fyzické zátěže odpovídající 50% individuální maximální spotřeby kyslíku, délka trvání: 60 minut). Dvě tréninkové jednotky byly provozované pod dohledem školeného instruktora, další 3 tréninkové jednotky byly provozované v domácím prostředí na bicyklovém trenažéru. Před započítáním a po ukončení studie byla provedena antropometrická měření, odebrány

vzorky krve pro analýzu a u podskupiny 8 dobrovolnic odebrány bioptické vzorky z abdominální podkožní tukové tkáně pro analýzu genové exprese adipokinů (leptin, adiponectin, IL-6, TNF- α). HOMA index byl vypočten podle následující rovnice: $(\text{Glykémie}_{(\text{mmol/l})} * \text{Inzulinémie}_{(\text{uIU/ml})}) / 22.5$. Revised QUICKI (rQUICKI) index byl vypočten podle následující rovnice: $1 / \log(\text{inzulinémie}_{(\text{uIU/ml})}) + \log(\text{glykémie}_{(\text{mg/dl})}) + \log(\text{NEFA}_{(\text{mmol/l})})$ (163). Podrobný popis metod je uveden v Publikaci č. 4.

6.3 Výsledky

Antropometrické a biochemické parametry

Aerobní trénink zvýšil fyzickou zdatnost měřenou maximální spotřebou kyslíku ($\text{VO}_{2\text{max}}$) o 12.8 % (24.59 vs 27.74 ml/min/kg, $p < 0.05$). Tělesná hmotnost poklesla o 5.9 %, obsah tukové hmoty o 6.52% a obvod pasu o 3.9 % (všechna $p < 0.05$). Aerobní trénink neovlivnil hladinu lačné glykémie, inzulinémie ani hodnotu indexu inzulinové rezistence HOMA (viz Metody). Nicméně parametr inzulinové senzitivity rQUICKI (viz Metody), který zohledňuje i plazmatickou hladinu volných mastných kyselin byl po ukončení studie zvýšen o 11.6% 0.43 ± 0.06 vs 0.48 ± 0.06 , $p < 0.05$). Data jsou shrnuta v Tabulce 4.1.

Plazmatické koncentrace a genová exprese adipokinů

Z vybraných adipokinů byla tréninkem ovlivněna pouze plazmatická hladina leptinu, která poklesla o 25.7 % ($p < 0.001$), nezávisle na poklesu BMI. Pokles TNF- α o 21.3 % byl na hranici statistické signifikance ($p = 0.08$). Změny v plazmatických koncentracích ostatních adipokinů (adiponectin, TNF α a IL-6) nebyly pozorovány. Změny genové exprese leptinu, adiponectinu, TNF α a IL-6 v podkožní tukové tkáni nedosáhly statistické významnosti. Data jsou shrnuta v Tabulce 4.2

Asociace plazmatických hladin adipokinů s metabolickými a biochemickými parametry

Plazmatická koncentrace adiponectinu byla na počátku studie negativně asociována s množstvím tukové hmoty ($r = -0.629$, $p < 0.05$), hladinou volných mastných kyselin ($r = -0.562$, $p < 0.05$) a glycerolu ($r = -0.715$, $p < 0.05$). Tyto asociace nebyly přítomné po ukončení studie. Plazmatická hladina TNF α byla asociována s množstvím tukové hmoty před i po ukončení studie ($r = 0.527$ a $r = 0.438$, $p < 0.05$). Neprokázali jsem signifikantní asociaci mezi plazmatickou hladinou ostatních adipokinů (adiponectin, leptin, IL-6 či TNF?) a žádným z parametrů inzulinové senzitivity či metabolického syndromu (HOMA, rQUICKI, glykémie, inzulinémie, triglyceridy, obvod pasu, HDL cholesterol a krevní tlak).

Tabulka 4.1 Antropometrické a biochemické parametry před a po 12-ti týdenním aerobním tréninku

	Před tréninkem	Po tréninku	p-hodnota
Hmotnost (kg)	88.5 ± 8.2	83.3 ± 7.7	< 0.001
BMI (kg/m²)	32.2 ± 2.2	30.4 ± 2.4	< 0.001
Tuková hmota (%)	38.8 ± 4.2	36.3 ± 4.6	< 0.001
Obvod pasu (cm)	92.9 ± 7.0	89.3 ± 6.4	< 0.05
Obvod boků (cm)	114.5 ± 5.8	111.0 ± 5.9	< 0.001
Poměr pas/boky	0.81 ± 0.04	0.79 ± 0.04	0.09
VO_{2max} (ml/kg/min)	24.6 ± 3.9	27.7 ± 4.8	< 0.05
Glykémie (mmol/l)	5.0 ± 0.5	5.1 ± 0.3	NS
Inzulinémie (mIU/l)	6.0 ± 3.9	5.5 ± 2.1	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	5.14 ± 0.9	5.09 ± 0.9	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	1.4 ± 0.3	1.4 ± 0.4	NS
Triglyceridy (mmol/l)	1.33 ± 0.7	1.30 ± 0.52	NS
NEMK (μmol/l)	670 ± 413	308 ± 128	< 0.05
HOMA index	1.4 ± 0.9	1.2 ± 0.5	NS
rQUICKI index	0.43 ± 0.06	0.48 ± 0.06	< 0.05

Data jsou prezentována jako průměr±SD, NS= nesignifikantní rozdíl, N=25

NEMK (ne-esterifikované mastné kyseliny), HOMA (Homeostasis model assessment index), rQUICKI (revised quantitative insulin sensitivity check index), VO_{2max} (maximální spotřeba kyslíku)

Asociace genové exprese adipokinů s metabolickými a biochemickými parametry

Genové exprese TNFα byla asociována s genovou expresí IL-6 (r=0.821, p=0.023) i s plazmatickou hladinou IL-6 (r=0.811, p=0.027) na počátku studie. Genová exprese adiponectinu byla pozitivně asociována s plazmatickou hladinou adiponectinu (r = 0.811, p <0.05) a negativně asociována s plazmatickou hladinou TNFα (r = -0.9, p <0.05) na konci studie. Plazmatické hladiny IL-6, leptinu a TNFα nebyly asociovány s jejich genovou expresí v podkožní tukové tkáni na začátku ani na konci studie. Nezaznamenali jsme korelaci mezi genovou expresí žádného z adipokinů a antropometrickými parametry (hmotnost, BMI, množství tukové hmoty, obvod pasu) nebo s parametry inzulínové senzitivity.

Tabulka 4.2 Plazmatické koncentrace adipokinů a změna genové exprese před a po 12-ti týdenním aerobním tréninku

	Plazmatická koncentrace			Genová exprese	
	Před tréninkem	Po tréninku	p-hodnota	Změna genové exprese (%)	p-hodnota
Adiponectin (μg/ml)	10.9 ± 6.1	10.0 ± 4.4	NS	+ 18.9 %	NS
Leptin (ng/ml)	24.3 ± 8.7	18.1 ± 8.3	< 0.001	- 32.1 %	NS
TNFα (pg/ml)	6.1 ± 7.6	4.8 ± 4.5	p=0.08	- 53.6 %	p = 0.091
IL-6 (pg/ml)	3.1 ± 3.7	1.4 ± 1.5	NS	- 3.1 %	NS

Data jsou prezentována jako průměr±SD, NS= nesignifikantní rozdíl, N=25 pro plazmatické koncentrace a N=8 pro genovou expresi.

TNFα (tumor necrosis factor alpha), IL-6 (interleukin 6).

6.4 Diskuze

Tato studie dokumentuje, že aerobní trénink kromě poklesu tělesné hmotnosti, BMI, množství tukové tkáně a obvodu pasu vede také ze zlepšen inzulínové senzitivity měřené indexem rQUICKI, jenž byl prokázán jako citlivý ukazatel inzulínové senzitivity (37; 163). Hladiny glykémie inzulínémie na lačno nebyly tréninkem ovlivněny, nicméně plazmatická hladiny volných mastných kyselin významně poklesla během tréninkového protokolu. Přes zlepšení v inzulínové senzitivitě a poklesu tělesné hmotnosti jsem neprokázali změnu v plazmatických hladinách adiponectinu, IL-6 a TNF α .

Podobné výsledky byly publikovány některými dalšími autory (34; 76; 96), zatímco jiní autoři pozorovali vzestup plazmatického adiponectinu bez (111) nebo s mírnou redukcí tělesné hmotnosti. Tyto diskrepantní výsledky mohou být částečně vysvětlitelné vlivem jiných regulačních faktorů, které jsou indukovány během pohybové aktivity a regulují produkci či sekreci adiponectinu v tukové tkáni. Takovými faktory jsou např. katecholaminy a TNF α , u nichž bylo prokázáno, že snižují expresi adiponectinu (52; 64). V naší studii byla plazmatická hladina noradrenalinu vyšší na konci studie v porovnání se stavem na počátku studie (215.3 ± 112.9 vs 296.6 ± 92.2 pg/ml, $p=0.016$), což naznačuje, že produkce adiponectinu mohla být inhibována vyšší hladinou noradrenalinu.

Na začátku studie byla pozorována významná negativní asociace mezi plazmatickým adiponectinem a plazmatickou hladinou volných mastných kyselin a glycerolu. Identická asociace byla přítomna i mezi změnou v koncentraci volných mastných kyselin a změnou plazmatického adiponectinu vyvolanou tréninkem. Podobné asociace byly již dříve popsány (75) a tak jako v naší studii vymizely po ukončení dietní intervence. Intracelulární signalizační kaskáda adiponectinu je spojena se aktivací AMP-kinázy (228), která inhibuje katecholaminy-stimulovanou lipolýzu v tukové a svalové tkáni (222), čímž by se výše popsaná asociace dala částečně vysvětlit.

Plazmatická hladina ani genová exprese IL-6 v podkožní tukové tkáni nebyly v naší studii ovlivněny tréninkem. V dřívějších studiích bylo pozorováno, že krátkodobá fyzická zátěž zvyšuje jak plazmatickou hladinu IL-6 tak jeho genovou expresi v tukové a svalové tkáni zdravých jedinců (103). Nicméně dlouhodobé efekty aerobního tréninku mohou být opačné, jak lze vidět například na snížení cvičením-indukovaného vzestup plazmatické hladina IL-6 a genové exprese ve svalové tkáni po vytrvalostním aerobním tréninku (66). Podobně i u pacientů se srdečním selháním vedl 12-ti týdenní aerobní trénink k poklesu plazmatických hladin IL-6 (12; 77). Neprokázali jsme rovněž asociaci plazmatické hladiny

IL-6 s antropometrickými parametry ani s parametry inzulínové rezistence, popsané v některých studiích (18; 105; 218).

Genová exprese IL-6 v abdominální podkožní tukové tkáni a plazmatická koncentrace IL-6 byly významně asociovány s genovou expresí TNF α , což ukazuje na možnou úlohu parakrinních regulací na úrovni genové exprese v tukové tkáni. Obdobné asociace byly popsány i v jiných studiích (63; 105), stejně jako asociace mezi plazmatickou hladinou TNF α a genovou expresí adiponectinu v podkožní tukové tkáni (40). TNF α může ovlivňovat transkripci genu pro IL-6 skrze aktivaci NF- κ B (nukleární faktor kappa-B)(217).

Protichůdné údaje poskytuje literatura ohledně efektu aerobního tréninku na plazmatickou hladinu TNF α , popisující redukci (12) i absenci změn (18; 77; 116) během intervence. TNF α je produkován zejména makrofágy usídlenými v tukové tkáni (207) a je považován za důležitý faktor účastnící se spíše na parakrinní regulaci metabolismu tukové tkáně bez výraznějšího přestupu do celkové cirkulace (133).

Závěrem shrnujeme, že modifikace antropometrických parametrů (obvod pasu, body mass index, množství tukové hmoty) a markeru inzulínové senzitivity měřené indexem revised QUICKI vyvolané aerobním tréninkem nejsou asociovány s významnou změnou genové exprese adiponectinu, leptinu, TNF α a IL-6 v abdominální podkožní tukové tkáni. Plazmatické koncentrace byly ovlivněny pouze u leptinu, která po tréninku poklesl. Odpověď jednotlivých adipokinů na aerobní trénink může být ovlivněna vzájemnými interakce mezi adipokiny, zejména pak mezi TNF α , IL-6 a adiponectinem.

7. Publikace č. 5: Vliv nízkokalorické diety na celkovou plazmatickou koncentraci a zastoupení polymerních izoform adiponectinu

7.1 Úvod

Při hledání substancí, které na molekulární úrovni zprostředkovávají vazbu mezi obezitou a vznikem metabolických komplikací byla rozpoznána netradiční funkce tukové tkáně: produkce řady proteinů hormonální povahy s vazbou k regulaci celotělové inzulínové senzitivity, souhrnně nazvaných adipokiny (20; 179). Adiponectin je jedním z těchto adipokinů. Je tvořen zralými adipocyty (187) ve významném množství, tvoří cca 0.01% všech plazmatických bílkovin (13). Plazmatické hladiny adiponectinu jsou sniženy u pacientů s diabetes mellitus 2. typu (92), inzulino-rezistentních a obézních dobrovolníků (8) a u pacientů se srdečně-cévními onemocněními (92). Adiponectin svým účinkem indukuje inzulín-senzitizující účinky a působí proti rozvoji aterosklerózy (151). Adiponectin cirkuluje v lidské plazmě v podobě několika polymerních izoform tvořených třemi (LMW, low molecular weight), šesti (MMW, medium molecular weight) nebo více (HMW, high molecular weight) základními jednotkami. Někteří autoři ovšem za použití odlišných analytických metod rozlišují pouze dvě izoformy, HMW a LMW (10; 27; 109; 123; 159; 176).

Buněčné membránové receptory pro adiponectin (AdipoR1, AdipoR2) byly identifikovány mimo jiné i na svalových, jaterních a tukových buňkách (70; 227). Adiponectin stimuluje fosforylaci a tím i aktivaci enzymu AMP-kinázy (AMPK) v hepatocytech a myocytech (myší model) (228). Tímto mechanismem dochází ke zvýšení utilizace glukózy a mastných kyselin ve svalové buňce (223; 228) a k potlačení jaterní glukoneogenezi (132). Aktivace různých buněčných signálních drah se zdá být specifická pro různé polymerní izoformy adiponectinu v různých orgánech (211; 220). V předchozích studiích byla plazmatické koncentrace HMW pozitivně asociována s parametry inzulínové senzitivity (120; 136; 156; 214) a plazmatickou hladinou HDL cholesterolu, zatímco asociace s BMI a množstvím tukové tkáně měla negativní charakter (122).

Redukce hmotnosti pomocí kalorické restrikce (nízkokalorické diety) je důležitým prvkem v léčbě obézních pacientů (38; 55; 106). Dosud publikované studie prokazují zvýšenou kvantitu HMW a MMW forem po dietní intervenci (28), zatímco ve jiné studii nebyly pozorovány žádné změny v distribuci polymerních izoform adiponectinu po dietě. Tyto rozporné výsledky mohou být částečně způsobeny malým množstvím subjektů

zařazených do studií a zahrnutím mužů i žen do analýz. Byly totiž popsány výrazné rozdíly v celkové plazmatické koncentraci i kvantitě jednotlivých polymerních izoform adiponektinu mezi muži i ženami (92).

Cílem této studie bylo definovat vliv 12-týdenní nízkokalorické diety na plazmatickou distribuci a kvantitu polymerních izoform adiponektinu u obézních premenopauzálních žen.

7.2 Metody

20 žen s nadváhou nebo obezitou (věk 39.4 ± 9.5 let, body mass index 32.2 ± 6.4 kg/m²) se účastnilo 12-ti týdenní nízkokalorické dietní intervence. Dieta byla předepsána tak, aby poskytovala o 600kcal/den méně než byla individuálně vypočtená denní kalorická potřeba.

Tato denní kalorická potřeba byla vypočtena ze změřené hodnoty klidového metabolismu násobené koeficientem 1.3, zohledňující denní fyzickou aktivitu. Cílová kompozice makronutrientů v dietě byla stanovena tak, aby 25-30% energetických potřeb bylo hrazeno z tuků, 55-60% ze sacharidů a 10-15% z bílkovin. Antropometrická měření a krevní vzorky byly odebrány před a po ukončení intervence k následnému stanovení kvantity polymerních izoform pomocí metody Western blot a chemoluminescenční detekce. HOMA index byl vypočten podle následující rovnice: $(\text{Glykémie}_{(\text{mmol/l})} * \text{Inzulinémie}_{(\text{uIU/ml})}) / 22.5$.

Podrobný popis metod je uveden v Publikaci č. 5.

7.3 Výsledky

Antropometrické a biochemické parametry

Antropometrické a biochemické charakteristiky účastníků před a po dietní intervenci jsou shrnuty v Tabulce 5.1. Dietní intervence indukovala pokles tělesné hmotnosti, body mass indexu, obvodu pasu a množství tukové tkáně o 7.4%, 7.3%, 7.9% a 11.8% (všechna $p < 0.05$). Plazmatická koncentrace inzulinu a index HOMA byly po ukončení intervence sníženy o 19.3% a 21.9% ($p < 0.05$), odrážející zlepšení v inzulinové senzitivitě. Hladina plazmatické glukózy nebyla dietou ovlivněna.

Celková hladina a zastoupení polymerních izoform plazmatického adiponektinu

Celková hladina plazmatického adiponektinu (měřeno metodou ELISA) byla po ukončení dietní intervence o 36% vyšší v porovnání se stavem před začátkem studie, nicméně tento rozdíl byl na hranici statistické významnosti ($p = 0.08$). Nízkokalorická dieta vedla ke zvýšení kvantity HMW, MMW a LMW v plazmě o 5.5%, 18.1% a 8.5% ($p < 0.05$).

Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 5.2.

Tabulka 5.1 Antropometrické a biochemické charakteristiky před a po 12-ti týdenní nízkokalorické dietě

	Před dietou	Po dietě	p-hodnota
Tělesná hmotnost (kg)	89.8±16.4	83.1±15.6	< 0.001
Body mass index (kg/m²)	32.2±6.4	29.8±6.2	< 0.001
Tuková hmota (kg)	37.8±11.4	33.3±11.7	< 0.001
Obvod pasu (cm)	96.4±13.3	88.8±12.0	< 0.001
Obvod boků (cm)	118.6±11.8	112.7±12.0	< 0.001
Poměr pas/boky	0.81±0.07	0.79±1.0	0.004
Glykémie (mmol/l)	5.1±0.4	5.0±0.4	0.120
Inzulinémie (mIU/l)	8.2±3.2	6.6±2.9	0.014
Celkový cholesterol (mmol/l)	5.8±1.0	5.3±0.8	0.003
HDL cholesterol (mmol/l)	1.7±0.3	1.5±0.2	< 0.001
LDL cholesterol (mmol/l)	3.8±0.8	3.6±0.6	0.062
Triglyceridy (mmol/l)	1.3±0.4	1.0±0.3	0.002
HOMA index	1.9±0.8	1.5±0.7	0.013

Data jsou prezentována jako průměr ±SD, N = 20, p-hodnoty: porovnání před versus po dietní intervenci HOMA (Homeostasis Model Assessment Index), HDL cholesterol (high density cholesterol), LDL (low density cholesterol)

Asociace plazmatické hladiny polymerních izoform adiponectinu s antropometrickými a biochemickými parametry

Mezi analyzovanými polymerními izoformami byla HMW negativně asociována s glykemií nalačno ($r = -0.564$, $p = 0.010$) a MMW pozitivně asociována s hladinou HDL-cholesterolu ($r = 0.527$, $p = 0.021$) a negativně s glykemií nalačno ($r = -0.447$, $p = 0.055$). Na konci studie byla hladina HMW negativně asociována s poměrem pas/boky ($r = -0.491$, $p = 0.028$). Dietou-indukované změny ve kvantitě HMW byly negativně asociované se změnami v množství tukové tkáně ($r = -0.474$, $p = 0.035$). Žádné další korelace mezi polymerními izoformami adiponectinu a biochemickými či antropometrickými parametry (lipidový profil, body mass index, obvod pasu, množství tukové hmoty, tělesná hmotnost) nedosáhly statistické signifikance. Neprokázali jsme rovněž asociaci mezi indexem HOMA a plazmatickou koncentrací žádné z polymerních izoform adiponectinu.

Tabulka 5.2 Plazmatické hladiny celkového adiponectinu a jednotlivých polymerních izoform před a po 12-ti týdenní nízkokalorické dietě

	Před dietou	Po dietě	p-hodnota
Celkový adiponectin (µg/ml)	3.2±1.7	4.4±3.9	0.080
HMW (QL)	84.9±37.1	89.6±37.9	0.008
MMW (QL)	133.9±57.3	145.1±55.2	0.045
LMW (QL)	356.2±138.6	420.8±145.2	0.003
HMW/total poměr	0.14±0.04	0.13±0.04	0.009
HMW/LMW poměr	0.55±0.25	0.52±0.25	0.026
HMW/MMW poměr	0.65±0.25	0.63±0.24	0.461

Data jsou prezentována jako průměr ±SD, N = 20, p-hodnoty: porovnání před versus po dietní intervenci QL (quantity of light-jednotky normalizovány na QL hodnotu MMW formy rekombinantního adiponectinu)

7.4 Diskuze

V této studii bylo poprvé demonstrováno, že redukce tělesné hmotnosti indukovaná nízkokalorickou dietou je provázena zvýšením kvantity všech polymerních izoform adiponectinu (HMW, LMW, MMW). Kvantitativně největších změny byly pozorovány u LMW, která se během studie zvýšila o 18.1 %, následovaná MMW a HMW formou s zvýšením o 8.5 % a 5.5 %. (všechna $p < 0.05$). Inzulínová senzitivita měřena pomocí indexu HOMA byla dietní intervencí zlepšena, podobně jako parametry lipidového spektra a antropometrické parametry.

Podle našich vědomostí byly do dnešního dne publikovány tři práce zabývající se efektem redukce hmotnosti na distribuci plazmatických izoform adiponectinu, dokumentující jak absenci (5), tak zvýšení HMW a MMW formy po intervenci (30; 107). Významnou předností naší studie je homogenita a počet účastníků studie, který výrazně převyšuje počty subjektů v ostatních studiích (92; 220; 226). Vzestup kvantity HMW a MMW izoformy po redukcii hmotnosti je v souladu se závěry ostatních studií (9; 107). Nicméně v naší studii jsme poprvé pozorovali, že rovněž LMW je indukována po dietní intervenci. LMW izoforma byla dokonce forma s největší kvantitativní změnou. Přesná biologická úloha a funkce LMW mezi ostatními polymerními izoformami nebyla dosud definována a tudíž interpretace zvýšení LMW po dietní intervenci zůstává diskutabilní. Stupeň obezity a dosažená redukce hmotnosti v naší studii je porovnatelná s výsledky udávanými ve studii Abbasiho et al. (body mass index $32.7 \pm 1.7 \text{ kg/m}^2$, průměrná redukce hmotnosti = 7.4 kg) a Bobberta et al. (body mass index $35.1 \pm 1.2 \text{ kg/m}^2$, průměrná redukce hmotnosti = 6.2 kg).

HMW izoforma je některými autory považována za fyziologicky nejvíce účinnou izoformu, která může být zodpovědná za prospěšné inzulin-senzitizující a protiaterosklerotické účinky (107; 158). Bylo rovněž dokumentováno, že poměr HMW/celkový adiponectin a HMW/LMW jsou vhodnými indikátory změn inzulinové senzitivity indukované podáním thiazolidindionů (157). Asociace HMW izoformy s hladinou glukózy nalačno pozorovaná v naší studii potvrzuje hypotézu o dominantní úloze HMW v regulaci metabolismu glukózy za bazálních rovnovážných podmínek. HMW izoforma byla po dietní intervenci zvýšena o 5.5%, nicméně asociace s hladinou glukózy nalačno nebyla po ukončení intervence zřejmá. Toto mírné zvýšení HMW izoformy má pravděpodobně pouze omezený klinický význam a na změnách v glukózovém metabolismu indukovaných poklesem tělesné hmotnosti je pravděpodobně podílejí další regulační mechanismy, např.: změny v dalších plazmatických cytokinech (interleukin-6, tumor necrosis factor, leptin) (18; 182) nebo redukce obsahu lipidových inkluzí v samotném adipocyty (125). Navíc kalorická restrikce

může vést ke zlepšení glukózového metabolismu nezávisle na poklesu tělesné hmotnosti (224).

Plazmatická hladina MMW izoformy byla asociována a hladinou HDL cholesterolu v naší studii. Dosud publikované práce popisují asociaci mezi HMW izoformou a HDL cholesterolem (26; 121), pravděpodobně přímým účinkem na metabolismus hepatocytů (25). Na tomto místě je ovšem potřeba zdůraznit, že obě izoformy (HMW i MMW) stimulují jaterní AMP-kinázu *in vitro* (220) a mohou tak indukovat podobné změny v jaterní tkáni.

V naší studii jsme neprokázali asociaci indexu HOMA (parametr inzulinové rezistence) a plazmatické hladiny žádné z polymerních izoform adiponektinu ani s celkovou plazmatickou koncentrací adiponektinu na začátku ani po ukončení studie. Podobně jako Bobbert et al. (24) docházíme k závěru, že těsná korelace mezi plazmatickou hladinou HMW izoformy a inzulinovou senzitivitou se zdá být specifická pro změny inzulinové rezistence indukované podáním thiazolidindionů a hraje pouze omezenou roli v regulaci inzulinové rezistence indukované nízkokalorickou dietou. Tato hypotéza je dále podpořena recentní studií prokazující selektivní zvýšení produkce HMW izoformy *in vitro* po podání thiazolidindionů (33).

Studie zabývající se vývojem celkové plazmatické hladiny adiponektinu po redukcii hmotnosti poskytují nejednotná data. Některé práce demonstrují žádnou změnu celkového plazmatického adiponektinu po mírné redukcii hmotnosti (4; 11; 29), zatímco jiné popisují zvýšení celkové hladiny adiponektinu po výrazné redukcii hmotnosti dosažené bariatrickými zákroky (110; 193; 231) či intenzivní úpravou životosprávy (127).

Závěrem tedy lze shrnout, že dietou-indukovaná redukce tělesné hmotnosti indukuje zvýšení plazmatické hladiny HMW, MMW i LMW izoformy adiponektinu. Neprokázali jsme však přímou souvislost mezi změnami v kvantitně polymerních izoform adiponektinu a parametry inzulinové senzitivity. Podrobnější studie osvětlující fyziologickou úlohu jednotlivých polymerních izoform v regulaci inzulinové rezistence jsou nezbytné.

8. Závěr

Cílem této disertační práce je přispět k pochopení mechanismů a regulačních pochodů, kterými je zprostředkována vazba mezi nadměrnou akumulací tukové tkáně v organismu a následným rozvojem metabolických komplikací, zejména inzulinové rezistence. Celkem je do této práce zahrnuto pět *in vivo* studií zabývajících se základními metabolickými charakteristikami tukové tkáně, tj. regulací mobilizace lipidových zásob (lipolýza) a produkcí látek hormonální povahy se vztahem k inzulinové senzitivitě (adipokinů).

Ve studii zaměřené na regulaci lipolýzy zprostředkovanou nově identifikovanou ANP (atrial natriuretic peptide)-dependentní lipolytickou dráhou (publikace č.2) jsme prokázali, že i při kompletní blokádě adrenergických receptorů dochází během fyzické zátěže ke vzestupu lipolýzy. Část lipolytické odpovědi na fyzickou zátěž je tedy nezávislá na katecholaminech. Navíc tato non-adrenergní lipolytická odpověď dobře koreluje s extracelulární hladinou cGMP (cyklický guanosin monofosfát), který zprostředkovává nitrobuněčnou signalizaci po aktivaci membránového ANP receptoru. Dále jsme dokumentovali, že při opakované fyzické zátěži je lipolytická odpověď na druhou zátěž větší než při zátěži předcházející. K definitivnímu potvrzení úlohy ANP v regulaci lipolýzy za fyziologických podmínek bude nezbytné provést experiment tak, aby obě periody fyzické zátěže probíhaly za podmínek identické glykémie a inzulinémie, tedy za pomoci hyperinzulinemického euglykemického klempu. Tímto postupem lze definitivně vyloučit případný podíl změn v plazmatických koncentracích inzulínu a glukózy, které mohou výsledky studie ovlivnit.

Ve studiích označených v této práci pořadovými čísly 1. a 3. jsem se zabývali efektem silově-dynamického tréninku na parametry celotělové inzulinové senzitivity a změny indukované v metabolismu tukové tkáně, zejména s ohledem na regulaci lipolýzy a produkci adipokinů. Prokázali jsme, že tento typ tréninku vede ke zlepšení parametrů inzulinové senzitivity a k poklesu krevního tlaku, aniž by došlo k významnějšímu poklesu tělesné hmotnosti nebo k redukci množství tukové tkáně. Primární ovlivnění metabolických pochodů svalové tkáně, které se odrazilo ve zvýšení svalové síly, pravděpodobně vede k pozorovaným příznivým metabolickým účinkům silově-dynamického tréninku. Tento typ tréninku je tedy vhodnou pohybovou aktivitou k ovlivnění metabolických poruch asociovaných s obezitou. Ze sledovaných adipokinů došlo po tréninku ke změně pouze v plazmatické hladině leptinu. Mechanismus poklesu leptinu po fyzickém tréninku není dosud plně objasněn, nicméně je nezávislý na změnách složení těla a je pravděpodobně přímo spojen s fyzickou zátěží (196). Zlepšení inzulinové senzitivity po silově-dynamickém tréninku bylo spojeno i s úpravou

regulace lipolýzy na lokální úrovni v tukové tkáni. Pokles bazální lipolýzy, jakož i zvýšená odpověď ke stimulaci mobilizace lipidů po podání katecholaminů jsou odrazem obnovené citlivosti tukové tkáně k účinku inzulínu a ukazují na obnovení metabolické flexibility, která je u obézních a inzulino-rezistentních subjektů přítomna. Funkční rovnováha mezi aktivací antilipolytický působícího α_2 -adrenergního receptoru a lipolýzu stimulujícího β -adrenergního receptoru byla obnovena po tréninkovém programu. Tyto nálezy poukazují na komplexní reciproční regulaci metabolických pochodů mezi svalovou a tukovou tkání, přičemž molekulární mechanismy těchto pravděpodobně humorálních regulací nejsou dosud objasněny, nabízí se ovšem vliv adipokinů produkovaných v tukové tkáni a recipročně interleukinu-6, který je produkován svalovými buňkami v klidu a zejména během kontrakce a následně uvolňován do cirkulace a k transportován k cílovým tkáním (164). Vedle těchto mechanismů vede kontrakce *per se* ke změnám ve svalovém metabolismu a zlepšení celotělové inzulínové senzitivity.

Podobnou otázku jako ve studii č. 3 jsme si položili i ve studii č.4, zabývající se vlivem aerobního tréninku na inzulínovou senzitivitu, plazmatickou koncentraci adipokinů (adiponectin, leptin, interleukin-6 a tumor necrosis factor- α) a lokálními účinky tohoto tréninku na tukovou tkáň v podobě změn exprese genů pro výše uvedené adipokiny v podkožní tukové tkáni. Podobně jako u silově-dynamického typu tréninku jsme i v této studii prokázali příznivý efekt aerobního tréninku na parametry inzulínové senzitivity doprovázené mírnou redukcí množství tukové tkáně a tělesné hmotnosti. Z plazmatických adipokinů došlo k poklesu pouze v koncentraci leptinu, a to nezávisle na BMI, podobně jako u silově-dynamického tréninku. Přestože řada studií prokazuje souvislost řady adipokinů s rozvojem inzulínové rezistence a následných metabolických komplikací, na základně našich studií neprokazujeme, že by adiponectin, interleukin-6 či tumor necrosis factor- α byly faktory, které zprostředkovávají příznivý vliv silového i aerobního tréninku. Tato hypotéza je dále podpořena výsledky analýzy genové exprese ve studii č.3 i 4., kde jsme neprokázali změnu v transkripci těchto genů po silově dynamickém ani aerobním tréninku. Naše nálezy nevylučují, že se adipokiny podílejí na vzniku a udržování inzulínové rezistence za klidových podmínek, nicméně výše uvedené adipokiny pravděpodobně nejsou hlavními regulátory změn inzulínové rezistence indukované pohybovou aktivitou.

Ke dosažení výsledků studie označené číslem 5 v této disertační práci, jsme nejprve optimalizovali analytickou metodu nativní elektroforézy a následného western-blottingu a chemoluminescenční detekce polymerních izoform adiponectinu, jelikož komerčně dostupné analytické kity nebyly dostupné. Cílem v této studii bylo popsat biologickou úlohu a význam

jednotlivých polymerních izoform jednoho z adipokinů, adiponectinu. Prokázali jsme, že plazmatické koncentrace všech polymerních izoform adiponectinu (vysokomolekulární forma, hexamer i trimer) jsou indukovatelné nízkokalorickou dietou a paralelním úbytkem tukové hmoty. Přestože s parametry hladinou glukózy byla asociována pouze vysokomolekulární a hexamerní izoforma (HMW a MMW), kvantitativně největší nárůst jsme pozorovali u nízkomolekulární formy, která je také dominantní izoformou v lidské plazmě (1; 23). Mechanismus, jakým je produkce jednotlivých izoform v tukové tkáni regulována není dosud ani rámcově objasněn. Bylo prokázáno, že po stimulaci thiazolidindiony dochází k preferenční stimulaci produkce vysokomolekulární formy. Zdá se tedy, že jednotlivé izoformy jsou regulovány nezávisle, případně i jinými hormonálními či chemickými mechanismy. Rovněž v naší studii jsme prokázali, že dietou-indukované změny v koncentraci vysokomolekulární izoformy adiponectinu jsou úzce spjaty se změnou množství tukové tkáně, zatímco u ostatních izoform jsem tuto závislost neprokázali. Jakými mechanismy je regulována produkce ostatních polymerních izoform adiponectinu zůstává námětem pro další studie.

Studium mechanismů zprostředkujících patologickou akumulaci tukové tkáně a následný rozvoj metabolických komplikací včetně diabetes mellitus 2. typu je nezbytné k pochopení patogeneze těchto onemocnění a představuje základnu pro vývoj účinných farmakologických i nefarmakologických opatření k jejich úspěšné léčbě. Aktuálnost této výzvy dokumentují exponenciálně rostoucí počty obézních pacientů a dosud velmi svízelná léčba tohoto onemocnění. Domnívám se, že předložená práce přispívá několika střípky do komplikované a měnící se mozaiky etiopatogeneze inzulínové rezistence.

Reference List

1. **Abbasi F, Chang SA, Chu JW, Ciaraldi TP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM and Reaven PD.** Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes
1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R139-R144, 2006.
2. **Abbasi F, Chang SA, Chu JW, Ciaraldi TP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM and Reaven PD.** Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes
1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R139-R144, 2006.
3. **Abbasi F, Chang SA, Chu JW, Ciaraldi TP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM and Reaven PD.** Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes
1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R139-R144, 2006.
4. **Abbasi F, Chang SA, Chu JW, Ciaraldi TP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM and Reaven PD.** Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes
1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R139-R144, 2006.
5. **Abbasi F, Chang SA, Chu JW, Ciaraldi TP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM and Reaven PD.** Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes
1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R139-R144, 2006.
6. **Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin T, Hayden J, Reaven GM and Reaven PD.** Discrimination between obesity and insulin resistance in the relationship with adiponectin
1. *Diabetes* 53: 585-590, 2004.
7. **Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin T, Hayden J, Reaven GM and Reaven PD.** Discrimination between obesity and insulin resistance in the relationship with adiponectin
1. *Diabetes* 53: 585-590, 2004.
8. **Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin T, Hayden J, Reaven GM and Reaven PD.** Discrimination between obesity and insulin resistance in the relationship with adiponectin
2. *Diabetes* 53: 585-590, 2004.

9. **Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin T, Hayden J, Reaven GM and Reaven PD.** Discrimination between obesity and insulin resistance in the relationship with adiponectin
2. *Diabetes* 53: 585-590, 2004.
10. **Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin T, Hayden J, Reaven GM and Reaven PD.** Discrimination between obesity and insulin resistance in the relationship with adiponectin
2. *Diabetes* 53: 585-590, 2004.
11. **Abbasi F, Lamendola C, McLaughlin T, Hayden J, Reaven GM and Reaven PD.** Plasma adiponectin concentrations do not increase in association with moderate weight loss in insulin-resistant, obese women
1. *Metabolism* 53: 280-283, 2004.
12. **Adamopoulos S, Parissis J, Karatzas D, Kroupis C, Georgiadis M, Karavolias G, Paraskevaidis J, Koniavitou K, Coats AJ and Kremastinos DT.** Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 39: 653-663, 2002.
13. **Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T and Matsuzawa Y.** Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 257: 79-83, 1999.
14. **Arner P.** Adrenergic receptor function in fat cells
2. *Am J Clin Nutr* 55: 228S-236S, 1992.
15. **Arner P, Kriegholm E, Engfeldt P and Bolinder J.** Adrenergic regulation of lipolysis in situ at rest and during exercise
1. *J Clin Invest* 85: 893-898, 1990.
16. **Baldeweg SE, Golay A, Natali A, Balkau B, Del Prato S and Coppack SW.** Insulin resistance, lipid and fatty acid concentrations in 867 healthy Europeans. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)
1. *Eur J Clin Invest* 30: 45-52, 2000.
17. **Baratta M.** Leptin--from a signal of adiposity to a hormonal mediator in peripheral tissues
1. *Med Sci Monit* 8: RA282-RA292, 2002.
18. **Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, Vidal H and Hainque B.** Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 3338-3342, 2000.
19. **Bastard JP, Maachi M, Van Nhieu JT, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A, Robert JJ, Capeau J and Hainque B.** Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro
1. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2084-2089, 2002.

20. **Berg AH and Scherer PE.** Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 96: 939-949, 2005.
21. **Bergman RN and Ader M.** Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus
1. *Trends Endocrinol Metab* 11: 351-356, 2000.
22. **Bjorntorp P.** Metabolic implications of body fat distribution
1. *Diabetes Care* 14: 1132-1143, 1991.
23. **Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF and Spranger J.** Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction
1. *Diabetes* 54: 2712-2719, 2005.
24. **Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF and Spranger J.** Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction
4. *Diabetes* 54: 2712-2719, 2005.
25. **Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF and Spranger J.** Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction
4. *Diabetes* 54: 2712-2719, 2005.
26. **Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF and Spranger J.** Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction
4. *Diabetes* 54: 2712-2719, 2005.
27. **Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF and Spranger J.** Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction
4. *Diabetes* 54: 2712-2719, 2005.
28. **Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF and Spranger J.** Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction
4. *Diabetes* 54: 2712-2719, 2005.
29. **Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF and Spranger J.** Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction
4. *Diabetes* 54: 2712-2719, 2005.
30. **Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Mohlig M, Pfeiffer AF and Spranger J.** Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction
4. *Diabetes* 54: 2712-2719, 2005.
31. **Boden G.** Free fatty acids-the link between obesity and insulin resistance
1. *Endocr Pract* 7: 44-51, 2001.

32. **Boden G, Chen X, Capulong E and Mozzoli M.** Effects of free fatty acids on gluconeogenesis and autoregulation of glucose production in type 2 diabetes
1. *Diabetes* 50: 810-816, 2001.
33. **Bodles A, Banga A, Rasouli N, Ono F, Kern PA and Owens RJ.** Pioglitazone increases secretion of high molecular weight adiponectin from adipocytes
1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006.
34. **Boudou P, Sobngwi E, Mauvais-Jarvis F, Vexiau P and Gautier JF.** Absence of exercise-induced variations in adiponectin levels despite decreased abdominal adiposity and improved insulin sensitivity in type 2 diabetic men. *Eur J Endocrinol* 149: 421-424, 2003.
35. **Bougoulia M, Triantos A and Koliakos G.** Effect of weight loss with or without orlistat treatment on adipocytokines, inflammation, and oxidative markers in obese women
1. *Hormones (Athens)* 5: 259-269, 2006.
36. **Boule NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA and Sigal RJ.** Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials
5. *JAMA* 286: 1218-1227, 2001.
37. **Brady LM, Gower BA, Lovegrove SS, Williams CM and Lovegrove JA.** Revised QUICKI provides a strong surrogate estimate of insulin sensitivity when compared with the minimal model. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28: 222-227, 2004.
38. **Brook RD.** Obesity, weight loss, and vascular function
1. *Endocrine* 29: 21-25, 2006.
39. **Bruce CR, Kriketos AD, Cooney GJ and Hawley JA.** Disassociation of muscle triglyceride content and insulin sensitivity after exercise training in patients with Type 2 diabetes
1. *Diabetologia* 47: 23-30, 2004.
40. **Bruun JM, Verdich C, Toubro S, Astrup A and Richelsen B.** Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. Effect of weight loss in obese men. *Eur J Endocrinol* 148: 535-542, 2003.
41. **Bruunsgaard H, Bjerregaard E, Schroll M and Pedersen BK.** Muscle strength after resistance training is inversely correlated with baseline levels of soluble tumor necrosis factor receptors in the oldest old
2. *J Am Geriatr Soc* 52: 237-241, 2004.
42. **Buchanan TA, Metzger BE, Freinkel N and Bergman RN.** Insulin sensitivity and B-cell responsiveness to glucose during late pregnancy in lean and moderately obese women with normal glucose tolerance or mild gestational diabetes
1. *Am J Obstet Gynecol* 162: 1008-1014, 1990.

43. **Carpentier A, Mittelman SD, Lamarche B, Bergman RN, Giacca A and Lewis GF.** Acute enhancement of insulin secretion by FFA in humans is lost with prolonged FFA elevation
1. *Am J Physiol* 276: E1055-E1066, 1999.
44. **Charles MA, Eschwege E, Thibault N, Claude JR, Warnet JM, Rosselin GE, Girard J and Balkau B.** The role of non-esterified fatty acids in the deterioration of glucose tolerance in Caucasian subjects: results of the Paris Prospective Study
1. *Diabetologia* 40: 1101-1106, 1997.
45. **Chehab FF, Qiu J, Mounzih K, Ewart-Toland A and Ogus S.** Leptin and reproduction
1. *Nutr Rev* 60: S39-S46, 2002.
46. **Chen X, Iqbal N and Boden G.** The effects of free fatty acids on gluconeogenesis and glycogenolysis in normal subjects
1. *J Clin Invest* 103: 365-372, 1999.
47. **Cimmino M, Agosto A, Minaire Y and Geloan A.** In situ regulation of lipolysis by insulin and norepinephrine: a microdialysis study during euglycemic-hyperinsulinemic clamp
1. *Metabolism* 44: 1513-1518, 1995.
48. **Clore JN, Glickman PS, Nestler JE and Blackard WG.** In vivo evidence for hepatic autoregulation during FFA-stimulated gluconeogenesis in normal humans
2. *Am J Physiol* 261: E425-E429, 1991.
49. **Cohen P and Friedman JM.** Leptin and the control of metabolism: role for stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1)
1. *J Nutr* 134: 2455S-2463S, 2004.
50. **Coppack SW, Evans RD, Fisher RM, Frayn KN, Gibbons GF, Humphreys SM, Kirk ML, Potts JL and Hockaday TD.** Adipose tissue metabolism in obesity: lipase action in vivo before and after a mixed meal
1. *Metabolism* 41: 264-272, 1992.
51. **Danielsen AG, Liu F, Hosomi Y, Shii K and Roth RA.** Activation of protein kinase C alpha inhibits signaling by members of the insulin receptor family
1. *J Biol Chem* 270: 21600-21605, 1995.
52. **Delporte ML, Funahashi T, Takahashi M, Matsuzawa Y and Brichard SM.** Pre- and post-translational negative effect of beta-adrenoceptor agonists on adiponectin secretion: in vitro and in vivo studies. *Biochem J* 367: 677-685, 2002.
53. **Diaz-Guerra MJ, Junco M and Bosca L.** Oleic acid promotes changes in the subcellular distribution of protein kinase C in isolated hepatocytes
1. *J Biol Chem* 266: 23568-23576, 1991.
54. **Dionne IJ, Melancon MO, Brochu M, Ades PA and Poelhman ET.** Age-related differences in metabolic adaptations following resistance training in women
1. *Exp Gerontol* 39: 133-138, 2004.

55. **Eddy DM, Schlessinger L and Kahn R.** Clinical outcomes and cost-effectiveness of strategies for managing people at high risk for diabetes
2. *Ann Intern Med* 143: 251-264, 2005.
56. **Engfeldt P, Hellmer J, Wahrenberg H and Arner P.** Effects of insulin on adrenoceptor binding and the rate of catecholamine-induced lipolysis in isolated human fat cells
1. *J Biol Chem* 263: 15553-15560, 1988.
57. **Eriksson J, Tuominen J, Valle T, Sundberg S, Sovijarvi A, Lindholm H, Tuomilehto J and Koivisto V.** Aerobic endurance exercise or circuit-type resistance training for individuals with impaired glucose tolerance?
1. *Horm Metab Res* 30: 37-41, 1998.
58. **Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R and Giugliano D.** Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA* 289: 1799-1804, 2003.
59. **Esposito K, Pontillo A, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Nicoletti G and Giugliano D.** Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women
1. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 1055-1058, 2003.
60. **Farese RV, Jr., Yost TJ and Eckel RH.** Tissue-specific regulation of lipoprotein lipase activity by insulin/glucose in normal-weight humans
1. *Metabolism* 40: 214-216, 1991.
61. **Farese RV, Jr., Yost TJ and Eckel RH.** Tissue-specific regulation of lipoprotein lipase activity by insulin/glucose in normal-weight humans
1. *Metabolism* 40: 214-216, 1991.
62. **Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA, McCamish MA and O'Rahilly S.** Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency
1. *N Engl J Med* 341: 879-884, 1999.
63. **Fasshauer M, Klein J, Lossner U and Paschke R.** Interleukin (IL)-6 mRNA expression is stimulated by insulin, isoproterenol, tumour necrosis factor alpha, growth hormone, and IL-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Horm Metab Res* 35: 147-152, 2003.
64. **Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M and Paschke R.** Adiponectin gene expression is inhibited by beta-adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 507: 142-146, 2001.
65. **Feingold KR, Doerrler W, Dinarello CA, Fiers W and Grunfeld C.** Stimulation of lipolysis in cultured fat cells by tumor necrosis factor, interleukin-1, and the interferons is blocked by inhibition of prostaglandin synthesis. *Endocrinology* 130: 10-16, 1992.
66. **Fischer CP, Plomgaard P, Hansen AK, Pilegaard H, Saltin B and Pedersen BK.** Endurance training reduces the contraction-induced interleukin-6 mRNA

expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287: E1189-E1194, 2004.

67. **Fried SK, Bunkin DA and Greenberg AS.** Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid
1. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 847-850, 1998.
68. **Friedman JM and Halaas JL.** Leptin and the regulation of body weight in mammals
1. *Nature* 395: 763-770, 1998.
69. **Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE and Lodish HF.** Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice.
Proc Natl Acad Sci U S A 98: 2005-2010, 2001.
70. **Fu Y, Luo N, Klein RL and Garvey WT.** Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation
1. *J Lipid Res* 46: 1369-1379, 2005.
71. **Furukawa H, Carroll RJ, Swift HH and Steiner DF.** Long-term elevation of free fatty acids leads to delayed processing of proinsulin and prohormone convertases 2 and 3 in the pancreatic beta-cell line MIN6
2. *Diabetes* 48: 1395-1401, 1999.
72. **Galitzky J, Sengenès C, Thalamas C, Marques MA, Senard JM, Lafontan M and Berlan M.** The lipid-mobilizing effect of atrial natriuretic peptide is unrelated to sympathetic nervous system activation or obesity in young men
11. *J Lipid Res* 42: 536-544, 2001.
73. **Gallistl S, Sudi KM, Aigner R and Borkenstein M.** Changes in serum interleukin-6 concentrations in obese children and adolescents during a weight reduction program.
Int J Obes Relat Metab Disord 25: 1640-1643, 2001.
74. **Gan SK, Kriketos AD, Ellis BA, Thompson CH, Kraegen EW and Chisholm DJ.** Changes in aerobic capacity and visceral fat but not myocyte lipid levels predict increased insulin action after exercise in overweight and obese men
3. *Diabetes Care* 26: 1706-1713, 2003.
75. **Garault M, Viguerie N, Porubsky S, Klimcakova E, Clement K, Langin D and Stich V.** Adiponectin gene expression and plasma values in obese women during very-low-calorie diet. Relationship with cardiovascular risk factors and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 756-760, 2004.
76. **Giannopoulou I, Fernhall B, Carhart R, Weinstock RS, Baynard T, Figueroa A and Kanaley JA.** Effects of diet and/or exercise on the adipocytokine and inflammatory cytokine levels of postmenopausal women with type 2 diabetes
1. *Metabolism* 54: 866-875, 2005.
77. **Gielen S, Adams V, Mobius-Winkler S, Linke A, Erbs S, Yu J, Kempf W, Schubert A, Schuler G and Hambrecht R.** Anti-inflammatory effects of exercise

- training in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 42: 861-868, 2003.
78. **Goodpaster BH, Katsiaras A and Kelley DE.** Enhanced fat oxidation through physical activity is associated with improvements in insulin sensitivity in obesity
2. *Diabetes* 52: 2191-2197, 2003.
79. **Hagstrom-Toft E, Arner P, Johansson U, Eriksson LS, Ungerstedt U and Bolinder J.** Effect of insulin on human adipose tissue metabolism in situ. Interactions with beta-adrenoceptors
1. *Diabetologia* 35: 664-670, 1992.
80. **Haque WA, Shimomura I, Matsuzawa Y and Garg A.** Serum adiponectin and leptin levels in patients with lipodystrophies
1. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2395, 2002.
81. **He J, Usui I, Ishizuka K, Kanatani Y, Hiratani K, Iwata M, Bukhari A, Haruta T, Sasaoka T and Kobayashi M.** Interleukin-1alpha inhibits insulin signaling with phosphorylating insulin receptor substrate-1 on serine residues in 3T3-L1 adipocytes
1. *Mol Endocrinol* 20: 114-124, 2006.
82. **Hejnova J, Majercik M, Polak J, Richterova B, Crampes F, deGlisezinski I and Stich V.** [Effect of dynamic strength training on insulin sensitivity in men with insulin resistance]
1. *Cas Lek Cesk* 143: 762-765, 2004.
83. **Hems DA and Whitton PD.** Control of hepatic glycogenolysis
1. *Physiol Rev* 60: 1-50, 1980.
84. **Horowitz JF.** Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise
1. *Trends Endocrinol Metab* 14: 386-392, 2003.
85. **Hotamisligil GS.** Inflammation and metabolic disorders
1. *Nature* 444: 860-867, 2006.
86. **Hotamisligil GS.** Inflammation and metabolic disorders
1. *Nature* 444: 860-867, 2006.
87. **Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL and Spiegelman BM.** Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 95: 2409-2415, 1995.
88. **Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN and Spiegelman BM.** Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 4854-4858, 1994.
89. **Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF and Spiegelman BM.** IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science* 271: 665-668, 1996.
90. **Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T,**

- Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T and Matsuzawa Y.** Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 1595-1599, 2000.
91. **Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T and Matsuzawa Y.** Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 1595-1599, 2000.
92. **Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T and Matsuzawa Y.** Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 1595-1599, 2000.
93. **Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T and Matsuzawa Y.** Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 1595-1599, 2000.
94. **Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T and Matsuzawa Y.** Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 1595-1599, 2000.
95. **Hube F, Lietz U, Igel M, Jensen PB, Tornqvist H, Joost HG and Hauner H.** Difference in leptin mRNA levels between omental and subcutaneous abdominal adipose tissue from obese humans
1. *Horm Metab Res* 28: 690-693, 1996.
96. **Hulver MW, Zheng D, Tanner CJ, Houmard JA, Kraus WE, Slentz CA, Sinha MK, Pories WJ, MacDonald KG and Dohm GL.** Adiponectin is not altered with exercise training despite enhanced insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: E861-E865, 2002.
97. **Ishii T, Yamakita T, Sato T, Tanaka S and Fujii S.** Resistance training improves insulin sensitivity in NIDDM subjects without altering maximal oxygen uptake
2. *Diabetes Care* 21: 1353-1355, 1998.
98. **Jacqueminet S, Briaud I, Rouault C, Reach G and Poitout V.** Inhibition of insulin gene expression by long-term exposure of pancreatic beta cells to palmitate is dependent on the presence of a stimulatory glucose concentration
1. *Metabolism* 49: 532-536, 2000.

99. **Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW, Neifing JL, Ward WK, Beard JC, Palmer JP and .** Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function
1. *Diabetes* 42: 1663-1672, 1993.
100. **Karnehed N, Rasmussen F, Hemmingsson T and Tynelius P.** Obesity and attained education: cohort study of more than 700,000 Swedish men
1. *Obesity (Silver Spring)* 14: 1421-1428, 2006.
101. **Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G and Quon MJ.** Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans
2. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 2402-2410, 2000.
102. **Kawakami M, Murase T, Ogawa H, Ishibashi S, Mori N, Takaku F and Shibata S.** Human recombinant TNF suppresses lipoprotein lipase activity and stimulates lipolysis in 3T3-L1 cells. *J Biochem (Tokyo)* 101: 331-338, 1987.
103. **Keller C, Keller P, Marshal S and Pedersen BK.** IL-6 gene expression in human adipose tissue in response to exercise--effect of carbohydrate ingestion
3. *J Physiol* 550: 927-931, 2003.
104. **Kelley DE, Goodpaster B, Wing RR and Simoneau JA.** Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss
1. *Am J Physiol* 277: E1130-E1141, 1999.
105. **Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L and Ranganathan G.** Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280: E745-E751, 2001.
106. **Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA and Nathan DM.** Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin
3. *N Engl J Med* 346: 393-403, 2002.
107. **Kobayashi H, Ouchi N, Kihara S, Walsh K, Kumada M, Abe Y, Funahashi T and Matsuzawa Y.** Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. *Circ Res* 94: e27-e31, 2004.
108. **Kopelman PG.** Obesity as a medical problem
2. *Nature* 404: 635-643, 2000.
109. **Korner A, Wabitsch M, Seidel B, Fischer-Posovszky P, Berthold A, Stumvoll M, Bluher M, Kratzsch J and Kiess W.** Adiponectin expression in humans is dependent on differentiation of adipocytes and down-regulated by humoral serum components of high molecular weight
3. *Biochem Biophys Res Commun* 337: 540-550, 2005.
110. **Kotidis EV, Koliakos G, Papavramidis TS and Papavramidis ST.** The effect of biliopancreatic diversion with pylorus-preserving sleeve gastrectomy and duodenal

switch on fasting serum ghrelin, leptin and adiponectin levels: is there a hormonal contribution to the weight-reducing effect of this procedure?

1. *Obes Surg* 16: 554-559, 2006.

111. **Kriketos AD, Gan SK, Poynten AM, Furler SM, Chisholm DJ and Campbell LV.** Exercise increases adiponectin levels and insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care* 27: 629-630, 2004.

112. **Kunisaki M, Bursell SE, Umeda F, Nawata H and King GL.** Normalization of diacylglycerol-protein kinase C activation by vitamin E in aorta of diabetic rats and cultured rat smooth muscle cells exposed to elevated glucose levels
1. *Diabetes* 43: 1372-1377, 1994.

113. **Lafontan M and Berlan M.** Inhibitory alpha-2 adrenoceptors in human adipose tissue
2. *Int J Obes* 5: 651-657, 1981.

114. **Lafontan M and Berlan M.** Fat cell adrenergic receptors and the control of white and brown fat cell function
1
41. *J Lipid Res* 34: 1057-1091, 1993.

115. **Lafontan M and Berlan M.** Fat cell alpha 2-adrenoceptors: the regulation of fat cell function and lipolysis
1. *Endocr Rev* 16: 716-738, 1995.

116. **Laimer M, Ebenbichler CF, Kaser S, Sandhofer A, Weiss H, Nehoda H, Aigner F and Patsch JR.** Markers of chronic inflammation and obesity: a prospective study on the reversibility of this association in middle-aged women undergoing weight loss by surgical intervention. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26: 659-662, 2002.

117. **Lang CH, Dobrescu C and Bagby GJ.** Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output.
Endocrinology 130: 43-52, 1992.

118. **Lang CH, Dobrescu C and Bagby GJ.** Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output
1. *Endocrinology* 130: 43-52, 1992.

119. **Langin D, Dicker A, Tavernier G, Hoffstedt J, Mairal A, Ryden M, Arner E, Sicard A, Jenkins CM, Viguerie N, van H, V, Gross RW, Holm C and Arner P.** Adipocyte lipases and defect of lipolysis in human obesity
1. *Diabetes* 54: 3190-3197, 2005.

120. **Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, Klein RL and Garvey WT.** Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster
2. *Diabetes* 55: 249-259, 2006.

121. **Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, Klein RL and Garvey WT.** Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster
2. *Diabetes* 55: 249-259, 2006.

122. **Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, Klein RL and Garvey WT.** Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster
2. *Diabetes* 55: 249-259, 2006.
123. **Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, Klein RL and Garvey WT.** Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster
2. *Diabetes* 55: 249-259, 2006.
124. **Large V, Peroni O, Letexier D, Ray H and Beylot M.** Metabolism of lipids in human white adipocyte. *Diabetes Metab* 30: 294-309, 2004.
125. **Larson-Meyer DE, Heilbronn LK, Redman LM, Newcomer BR, Frisard MI, Anton S, Smith SR, Alfonso A and Ravussin E.** Effect of calorie restriction with or without exercise on insulin sensitivity, beta-cell function, fat cell size, and ectopic lipid in overweight subjects
1. *Diabetes Care* 29: 1337-1344, 2006.
126. **Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmítko PE and Verma S.** Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis
1. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: H2031-H2041, 2005.
127. **Lazzer S, Vermorel M, Montaurier C, Meyer M and Boirie Y.** Changes in adipocyte hormones and lipid oxidation associated with weight loss and regain in severely obese adolescents
1. *Int J Obes (Lond)* 29: 1184-1191, 2005.
128. **Leshan RL, Bjornholm M, Munzberg H and Myers MG, Jr.** Leptin receptor signaling and action in the central nervous system
1. *Obesity (Silver Spring)* 14 Suppl 5: 208S-212S, 2006.
129. **Lewis GF, Carpentier A, Adeli K and Giacca A.** Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes
1. *Endocr Rev* 23: 201-229, 2002.
130. **Liu YM, Lacorte JM, Viguerie N, Poitou C, Pelloux V, Guy-Grand B, Coussieu C, Langin D, Basdevant A and Clement K.** Adiponectin gene expression in subcutaneous adipose tissue of obese women in response to short-term very low calorie diet and refeeding. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 5881-5886, 2003.
131. **Lobstein T and Frelut ML.** Prevalence of overweight among children in Europe
1. *Obes Rev* 4: 195-200, 2003.
132. **Lochhead PA, Salt IP, Walker KS, Hardie DG and Sutherland C.** 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside mimics the effects of insulin on the expression of the 2 key gluconeogenic genes PEPCK and glucose-6-phosphatase. *Diabetes* 49: 896-903, 2000.
133. **Lofgren P, van H, V, Reynisdottir S, Naslund E, Ryden M, Rossner S and Arner P.** Secretion of tumor necrosis factor-alpha shows a strong relationship to insulin-stimulated glucose transport in human adipose tissue
1. *Diabetes* 49: 688-692, 2000.

134. **Lonnroth P and Smith U.** The antilipolytic effect of insulin in human adipocytes requires activation of the phosphodiesterase
1. *Biochem Biophys Res Commun* 141: 1157-1161, 1986.
135. **Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y and Matsubara K.** cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 221: 286-289, 1996.
136. **Matsubara M, Katayose S and Maruoka S.** Decreased plasma adiponectin concentrations in nondiabetic women with elevated homeostasis model assessment ratios. *Eur J Endocrinol* 148: 343-350, 2003.
137. **Mauriege P, Despres JP, Marcotte M, Ferland M, Tremblay A, Nadeau A, Moorjani S, Lupien PJ, Theriault G and Bouchard C.** Abdominal fat cell lipolysis, body fat distribution, and metabolic variables in premenopausal women
3. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 1028-1035, 1990.
138. **Miller JP, Pratley RE, Goldberg AP, Gordon P, Rubin M, Treuth MS, Ryan AS and Hurley BF.** Strength training increases insulin action in healthy 50- to 65-yr-old men
3. *J Appl Physiol* 77: 1122-1127, 1994.
139. **Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Muller C, Carling D and Kahn BB.** Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase
1. *Nature* 415: 339-343, 2002.
140. **Miyazaki Y, Mahankali A, Wajcberg E, Bajaj M, Mandarino LJ and DeFronzo RA.** Effect of pioglitazone on circulating adipocytokine levels and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients
1. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 4312-4319, 2004.
141. **Moberg E, Enoksson S and Hagstrom-Toft E.** Importance of phosphodiesterase 3 for the lipolytic response in adipose tissue during insulin-induced hypoglycemia in normal man
1. *Horm Metab Res* 30: 684-688, 1998.
142. **Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S and Coppack SW.** Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 4196-4200, 1997.
143. **Mohamed-Ali V, Pinkney JH and Coppack SW.** Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ
1. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22: 1145-1158, 1998.
144. **Moller DE.** Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes
1. *Trends Endocrinol Metab* 11: 212-217, 2000.
145. **Moro C, Crampes F, Sengenès C, De G, I, Galitzky J, Thalamas C, Lafontan M and Berlan M.** Atrial natriuretic peptide contributes to physiological control of lipid mobilization in humans

1. *FASEB J* 18: 908-910, 2004.
146. **Moro C, Pillard F, De G, I, Harant I, Riviere D, Stich V, Lafontan M, Crampes F and Berlan M.** Training enhances ANP lipid-mobilizing action in adipose tissue of overweight men
10. *Med Sci Sports Exerc* 37: 1126-1132, 2005.
147. **Muller G, Ertl J, Gerl M and Preibisch G.** Leptin impairs metabolic actions of insulin in isolated rat adipocytes
2. *J Biol Chem* 272: 10585-10593, 1997.
148. **Muoio DM, Dohm GL, Fiedorek FT, Jr., Tapscott EB, Coleman RA and Dohn GL.** Leptin directly alters lipid partitioning in skeletal muscle. *Diabetes* 46: 1360-1363, 1997.
149. **Musher-Eizenman DR, Holub SC, Miller AB, Goldstein SE and Edwards-Leeper L.** Body size stigmatization in preschool children: the role of control attributions
1. *J Pediatr Psychol* 29: 613-620, 2004.
150. **Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, Igura T, Inui Y, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Miyagawa J, Funahashi T and Matsuzawa Y.** An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res* 32: 47-50, 2000.
151. **Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T and Matsuzawa Y.** Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 103: 1057-1063, 2001.
152. **Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T and Matsuzawa Y.** Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 102: 1296-1301, 2000.
153. **Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, Engel J, Brownlee M and Scherer PE.** Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem* 278: 9073-9085, 2003.
154. **Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA and Scherer PE.** Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 279: 12152-12162, 2004.
155. **Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA and Scherer PE.** Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 279: 12152-12162, 2004.

156. **Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA and Scherer PE.** Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 279: 12152-12162, 2004.
157. **Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA and Scherer PE.** Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 279: 12152-12162, 2004.
158. **Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA and Scherer PE.** Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 279: 12152-12162, 2004.
159. **Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA and Scherer PE.** Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 279: 12152-12162, 2004.
160. **Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C, Jenkins AB and Storlien LH.** Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action
1. *Diabetes* 46: 983-988, 1997.
161. **Paolisso G, Gambardella A, Amato L, Tortoriello R, D'Amore A, Varricchio M and D'Onofrio F.** Opposite effects of short- and long-term fatty acid infusion on insulin secretion in healthy subjects
2. *Diabetologia* 38: 1295-1299, 1995.
162. **Perez-Martin A, Raynaud E and Mercier J.** Insulin resistance and associated metabolic abnormalities in muscle: effects of exercise
4. *Obes Rev* 2: 47-59, 2001.
163. **Perseghin G, Caumo A, Caloni M, Testolin G and Luzi L.** Incorporation of the fasting plasma FFA concentration into QUICKI improves its association with insulin sensitivity in nonobese individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 4776-4781, 2001.
164. **Petersen AM and Pedersen BK.** The anti-inflammatory effect of exercise
1. *J Appl Physiol* 98: 1154-1162, 2005.
165. **Pickup JC, Chusney GD, Thomas SM and Burt D.** Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sci* 67: 291-300, 2000.
166. **Poehlman ET, Dvorak RV, DeNino WF, Brochu M and Ades PA.** Effects of resistance training and endurance training on insulin sensitivity in nonobese, young women: a controlled randomized trial

1. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 2463-2468, 2000.
167. **Polak J, Moro C, Klimcakova E, Hejnova J, Majercik M, Viguerie N, Langin D, Lafontan M, Stich V and Berlan M.** Dynamic strength training improves insulin sensitivity and functional balance between adrenergic alpha 2A and beta pathways in subcutaneous adipose tissue of obese subjects
1. *Diabetologia* 48: 2631-2640, 2005.
168. **Poulsen P, Kyvik KO, Vaag A and Beck-Nielsen H.** Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance--a population-based twin study
1. *Diabetologia* 42: 139-145, 1999.
169. **Puhl R and Brownell KD.** Bias, discrimination, and obesity
1. *Obes Res* 9: 788-805, 2001.
170. **Rall LC, Roubenoff R, Cannon JG, Abad LW, Dinarello CA and Meydani SN.** Effects of progressive resistance training on immune response in aging and chronic inflammation. *Med Sci Sports Exerc* 28: 1356-1365, 1996.
171. **RANDLE PJ.** Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years
1. *Diabetes Metab Rev* 14: 263-283, 1998.
172. **RANDLE PJ, GARLAND PB, HALES CN and NEWSHOLME EA.** The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus
1. *Lancet* 1: 785-789, 1963.
173. **Ranganathan S, Maffei M and Kern PA.** Adipose tissue ob mRNA expression in humans: discordance with plasma leptin and relationship with adipose TNFalpha expression
1. *J Lipid Res* 39: 724-730, 1998.
174. **Reaven GM, Hollenbeck C, Jeng CY, Wu MS and Chen YD.** Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate, and insulin for 24 h in patients with NIDDM
1. *Diabetes* 37: 1020-1024, 1988.
175. **Reynolds TH, Supiano MA and Dengel DR.** Resistance training enhances insulin-mediated glucose disposal with minimal effect on the tumor necrosis factor-alpha system in older hypertensives
1. *Metabolism* 53: 397-402, 2004.
176. **Richards AA, Hickman IJ, Wang AY, Jones AL, Newell F, Mowry BJ, Whitehead JP, Prins JB and Macdonald GA.** Olanzapine treatment is associated with reduced high molecular weight adiponectin in serum: a potential mechanism for olanzapine-induced insulin resistance in patients with schizophrenia
1. *J Clin Psychopharmacol* 26: 232-237, 2006.
177. **Richterova B, Stich V, Moro C, Polak J, Klimcakova E, Majercik M, Harant I, Viguerie N, Crampes F, Langin D, Lafontan M and Berlan M.** Effect of endurance training on adrenergic control of lipolysis in adipose tissue of obese women

2. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 1325-1331, 2004.
178. **Robertson RP, Harmon J, Tran PO and Poitout V.** Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes
2. *Diabetes* 53 Suppl 1: S119-S124, 2004.
179. **Rondinone CM.** Adipocyte-derived hormones, cytokines, and mediators. *Endocrine* 29: 81-90, 2006.
180. **Ruan H and Lodish HF.** Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor-alpha. *Cytokine Growth Factor Rev* 14: 447-455, 2003.
181. **Ruan H and Lodish HF.** Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor-alpha. *Cytokine Growth Factor Rev* 14: 447-455, 2003.
182. **Ryan AS and Nicklas BJ.** Reductions in plasma cytokine levels with weight loss improve insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women
2. *Diabetes Care* 27: 1699-1705, 2004.
183. **Ryan AS, Nicklas BJ, Berman DM and Elahi D.** Adiponectin levels do not change with moderate dietary induced weight loss and exercise in obese postmenopausal women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27: 1066-1071, 2003.
184. **Ryden M, Arvidsson E, Blomqvist L, Perbeck L, Dicker A and Arner P.** Targets for TNF-alpha-induced lipolysis in human adipocytes
1. *Biochem Biophys Res Commun* 318: 168-175, 2004.
185. **Sahu A.** Minireview: A hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin
1. *Endocrinology* 145: 2613-2620, 2004.
186. **Samad F, Yamamoto K and Loskutoff DJ.** Distribution and regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in murine adipose tissue in vivo. Induction by tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide
1. *J Clin Invest* 97: 37-46, 1996.
187. **Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G and Lodish HF.** A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 270: 26746-26749, 1995.
188. **Schrauwen P and Hesselink MK.** Oxidative capacity, lipotoxicity, and mitochondrial damage in type 2 diabetes
1. *Diabetes* 53: 1412-1417, 2004.
189. **Sengenès C, Berlan M, De G, I, Lafontan M and Galitzky J.** Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes
12. *FASEB J* 14: 1345-1351, 2000.

190. **Sengenès C, Bouloumie A, Hauner H, Berlan M, Busse R, Lafontan M and Galitzky J.** Involvement of a cGMP-dependent pathway in the natriuretic peptide-mediated hormone-sensitive lipase phosphorylation in human adipocytes
2. *J Biol Chem* 278: 48617-48626, 2003.
191. **Sengenès C, Zakaroff-Girard A, Moulin A, Berlan M, Bouloumie A, Lafontan M and Galitzky J.** Natriuretic peptide-dependent lipolysis in fat cells is a primate specificity
1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283: R257-R265, 2002.
192. **Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA and Mooney RA.** Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes
1. *Diabetes* 51: 3391-3399, 2002.
193. **Serra A, Granada ML, Romero R, Bayes B, Canton A, Bonet J, Rull M, Alastrue A and Formiguera X.** The effect of bariatric surgery on adipocytokines, renal parameters and other cardiovascular risk factors in severe and very severe obesity: 1-year follow-up
1. *Clin Nutr* 25: 400-408, 2006.
194. **Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA, Holz GG, Moritz W, Ricordi C and Habener JF.** Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus
1. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 670-676, 1999.
195. **Shishehbor MH and Bhatt DL.** Inflammation and atherosclerosis
1. *Curr Atheroscler Rep* 6: 131-139, 2004.
196. **Simsch C, Lormes W, Petersen KG, Baur S, Liu Y, Hackney AC, Lehmann M and Steinacker JM.** Training intensity influences leptin and thyroid hormones in highly trained rowers
1. *Int J Sports Med* 23: 422-427, 2002.
197. **Skrha J, Haas T, Sindelka G, Prazny M, Widimsky J, Cibula D and Svacina S.** Comparison of the insulin action parameters from hyperinsulinemic clamps with homeostasis model assessment and QUICKI indexes in subjects with different endocrine disorders
1. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 135-141, 2004.
198. **Sleeman MW, Donegan NP, Heller-Harrison R, Lane WS and Czech MP.** Association of acyl-CoA synthetase-1 with GLUT4-containing vesicles
1. *J Biol Chem* 273: 3132-3135, 1998.
199. **Staels B and Fruchart JC.** Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists
1. *Diabetes* 54: 2460-2470, 2005.
200. **Stich V, De G, I, Berlan M, Bulow J, Galitzky J, Harant I, Suljkovicova H, Lafontan M, Riviere D and Crampes F.** Adipose tissue lipolysis is increased during a repeated bout of aerobic exercise
1. *J Appl Physiol* 88: 1277-1283, 2000.

201. **Stich V, De G, I, Crampes F, Hejnova J, Cottet-Emard JM, Galitzky J, Lafontan M, Riviere D and Berlan M.** Activation of alpha(2)-adrenergic receptors impairs exercise-induced lipolysis in SCAT of obese subjects
20. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279: R499-R504, 2000.
202. **Stich V, De G, I, Crampes F, Suljkovicova H, Galitzky J, Riviere D, Hejnova J, Lafontan M and Berlan M.** Activation of antilipolytic alpha(2)-adrenergic receptors by epinephrine during exercise in human adipose tissue
1. *Am J Physiol* 277: R1076-R1083, 1999.
203. **Stich V, Marion-Latard F, Hejnova J, Viguerie N, Lefort C, Suljkovicova H, Langin D, Lafontan M and Berlan M.** Hypocaloric diet reduces exercise-induced alpha 2-adrenergic antilipolytic effect and alpha 2-adrenergic receptor mRNA levels in adipose tissue of obese women
2. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 1274-1281, 2002.
204. **Stich V, Pelikanova T, Wohl P, Sengenés C, Zakaroff-Girard A, Lafontan M and Berlan M.** Activation of alpha2-adrenergic receptors blunts epinephrine-induced lipolysis in subcutaneous adipose tissue during a hyperinsulinemic euglycemic clamp in men
1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E599-E607, 2003.
205. **Stingl H, Krssak M, Krebs M, Bischof MG, Nowotny P, Furnsinn C, Shulman GI, Waldhausl W and Roden M.** Lipid-dependent control of hepatic glycogen stores in healthy humans
1. *Diabetologia* 44: 48-54, 2001.
206. **Stouthard JM, Romijn JA, Van der PT, Endert E, Klein S, Bakker PJ, Veenhof CH and Sauerwein HP.** Endocrinologic and metabolic effects of interleukin-6 in humans
1. *Am J Physiol* 268: E813-E819, 1995.
207. **Suganami T, Nishida J and Ogawa Y.** A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: role of free fatty acids and tumor necrosis factor alpha
1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25: 2062-2068, 2005.
208. **Tomita T, Yamasaki Y, Kubota M, Tohdo R, Katsura M, Ikeda M, Nakahara I, Shiba Y, Matsuhisa M and Hori M.** High plasma free fatty acids decrease splanchnic glucose uptake in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus
1. *Endocr J* 45: 165-173, 1998.
209. **Trayhurn P and Wood IS.** Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue
1. *Br J Nutr* 92: 347-355, 2004.
210. **Trujillo ME and Scherer PE.** Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease
1. *Endocr Rev* 27: 762-778, 2006.
211. **Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Ruderman NB, Heuser JE and Lodish HF.** Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling

- specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J Biol Chem* 278: 50810-50817, 2003.
212. **Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, Haap M, Shirkavand F, Rahe S, Staiger H, Maerker E, Haring H and Stumvoll M.** Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. *Diabetes* 52: 239-243, 2003.
213. **Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, Haap M, Shirkavand F, Rahe S, Staiger H, Maerker E, Haring H and Stumvoll M.** Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. *Diabetes* 52: 239-243, 2003.
214. **Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, Haap M, Shirkavand F, Rahe S, Staiger H, Maerker E, Haring H and Stumvoll M.** Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism
1. *Diabetes* 52: 239-243, 2003.
215. **Unger RH and Orci L.** Diseases of liporegulation: new perspective on obesity and related disorders
1. *FASEB J* 15: 312-321, 2001.
216. **van Hall G, Steensberg A, Sacchetti M, Fischer C, Keller C, Schjerling P, Hiscock N, Moller K, Saltin B, Febbraio MA and Pedersen BK.** Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 3005-3010, 2003.
217. **Vanden Berghe W, Vermeulen L, De Wilde G, De Bosscher K, Boone E and Haegeman G.** Signal transduction by tumor necrosis factor and gene regulation of the inflammatory cytokine interleukin-6. *Biochem Pharmacol* 60: 1185-1195, 2000.
218. **Vozarova B, Weyer C, Hanson K, Tataranni PA, Bogardus C and Pratley RE.** Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes Res* 9: 414-417, 2001.
219. **Wajchenberg BL, Giannella-Neto D, da Silva ME and Santos RF.** Depot-specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome
1. *Horm Metab Res* 34: 616-621, 2002.
220. **Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, Hara K, Hada Y, Vasseur F, Froguel P, Kimura S, Nagai R and Kadowaki T.** Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem* 278: 40352-40363, 2003.
221. **Wallenius V, Wallenius K, Ahren B, Rudling M, Carlsten H, Dickson SL, Ohlsson C and Jansson JO.** Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med* 8: 75-79, 2002.
222. **Watt MJ, Steinberg GR, Chan S, Garnham A, Kemp BE and Febbraio MA.** Beta-adrenergic stimulation of skeletal muscle HSL can be overridden by AMPK signaling. *FASEB J* 18: 1445-1446, 2004.

223. **Winder WW and Hardie DG.** AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol* 277: E1-10, 1999.
224. **Wing RR, Blair EH, Bononi P, Marcus MD, Watanabe R and Bergman RN.** Caloric restriction per se is a significant factor in improvements in glycemic control and insulin sensitivity during weight loss in obese NIDDM patients
1. *Diabetes Care* 17: 30-36, 1994.
225. **Wititsuwannakul D and Kim KH.** Mechanism of palmityl coenzyme A inhibition of liver glycogen synthase
1. *J Biol Chem* 252: 7812-7817, 1977.
226. **Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M, Taniyama M, Matsubara K, Okazaki Y, Ishii T, Nishikai K and Saruta T.** Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond)* 103: 137-142, 2002.
227. **Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R and Kadowaki T.** Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 423: 762-769, 2003.
228. **Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB and Kadowaki T.** Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 8: 1288-1295, 2002.
229. **Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P and Kadowaki T.** The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 7: 941-946, 2001.
230. **Yaney GC, Korchak HM and Corkey BE.** Long-chain acyl CoA regulation of protein kinase C and fatty acid potentiation of glucose-stimulated insulin secretion in clonal beta-cells
1. *Endocrinology* 141: 1989-1998, 2000.
231. **Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY and Chuang LM.** Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3815-3819, 2001.
232. **Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY and Chuang LM.** Weight reduction increases plasma levels of an adipose-

derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3815-3819, 2001.

233. **Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L and Friedman JM.**
Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue
1. *Nature* 372: 425-432, 1994.

234. **Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, Lass A, Neuberger G, Eisenhaber F, Hermetter A and Zechner R.**
Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase
1. *Science* 306: 1383-1386, 2004.