

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



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

MUDr. Viktória Ďurovcová

2012

## Doktorské studijní programy v biomedicině

*Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky*

Obor:	Fyziologie a patofyziologie člověka
Předseda oborové rady:	prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.
Školicí pracoviště:	III. interní klinika — klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN
Školitel:	prof. MUDr. Michal Kršek, CSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

# Obsah

<b>Abstrakt</b>	<b>2</b>
<b>Abstract</b>	<b>4</b>
<b>1 Úvod</b>	<b>6</b>
<b>2 Hypotézy a cíle práce</b>	<b>8</b>
<b>3 Materiál a metodika</b>	<b>8</b>
<b>4 Výsledky</b>	<b>11</b>
4.1 Antropometrické, biochemické a hormonální parametry . . .	12
4.2 Parametry mitochondriální funkce a exprese genů mito- chondriálních enzymů . . . . .	14
<b>5 Diskuse</b>	<b>15</b>
5.1 Tuková tkáň a její produkty v patogenezi inzulínové re- zistence u pacientů s Cushingovým syndromem, akrome- galíí a prostou obezitou . . . . .	15
5.2 Mitochondriální dysfunkce v patogenezi inzulínové rezistence u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií a pros- tou obezitou . . . . .	18
<b>6 Závěry</b>	<b>20</b>
<b>Seznam použité literatury</b>	<b>22</b>
<b>Seznam publikací</b>	<b>30</b>

# Abstrakt

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

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

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

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

V naší práci jsme prokázali poruchy mitochondriálních funkcí u všech zkoumaných skupin pacientů ve srovnání se zdravými kontrolami. Míra této dysfunkce přibližně odpovídala procentu pacientů s prokázanou poruchou glukózového metabolismu v jednotlivých skupinách. Tyto změny byly nejvýraznější ve skupině pacientů s obezitou, nejmírnější ve skupině subjektů s hyperkortizolizmem. Naše výsledky naznačují, že nadpro-

dukce kortizolu ani růstového hormonu není etiopatogenetickou příčinou nalezených mitochondriálních změn. Mitochondriální dysfunkce u pacientů s hyperkortizolizmem i s nadprodukcí růstového hormonu/IGF-1 je pravděpodobně pouze nepřímým důsledkem dlouhodobých metabolických účinků zvýšených hladin zmíněných hormonů, resp. negativních interakcí růstového hormonu s inzulínovou signální kaskádou.

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

# Abstract

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

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

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

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

We found signs of mitochondrial dysfunction in all studied groups of patients as compared with healthy controls. The extent of this dysfunction corresponded approximately with the percentage of subjects with glucose metabolism disturbances present in particular groups. The changes were mostly expressed in patients with simple obesity, the mildest changes were found in hypercortisolic patients. Our results suggest that

neither the overproduction of cortisol nor growth hormone are the etiopathogenic reasons for detected mitochondrial dysfunction. We assume that the findings of mitochondrial dysfunction in patients with overproduction of cortisol resp. growth hormone/IGF-1 are only indirect consequences of prolonged metabolic effects of pathologically elevated hormone levels resp. negative interactions of growth hormone with insulin signaling pathways.

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

# 1. Úvod

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

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

Distribuce tukové tkáně a její metabolické dopady (včetně inzulínové rezistence), resp. inzulínový metabolismus jako takový, jsou velmi komplexně regulované procesy. Důležitou roli v těchto regulacích hrají jak adipokiny, tak i látky produkované játry, kosterními svaly či dalšími tkáněmi, hormony sympatoadrenálního systému, pohlavní hormony, glukokortikoidy (GK) a růstový hormon (GH) [9, 10, 11].

Příkladem významných regulátorů metabolické homeostázy, které jsou primárně produkovány jinými tkáněmi (játra, pankreas, střeva) a jen v menší míře též tkání tukovou jsou fibroblastový růstový faktor 21 (FGF-21) a 19 (FGF-19) [12, 13, 14, 15, 16]. Na druhou stranu adipocytární mastné kyseliny vázící protein (FABP-4) patří mezi nejzastoupenější proteiny ve zralých adipocytech [17] a jeho produkce je přítomná i v imunokompetentních buňkách tukové tkáně, zejména makrofázích.

V případě hyperkortizolizmu se vztah ke vzniku viscerální obezity a inzulínové rezistence vysvětluje zejména zvýšeným přímým účinkem tkáňových hladin kortizolu [18], a to zejména ve viscerální tukové tkáni. Zvýšené lokální hladiny kortizolu by mohly indukovat snížení inzulínové senzitivity jednak prostřednictvím přímého vlivu na vychytávání glukózy, jednak přes změny v endokrinních funkcích tukové tkáně [19, 20]. Ke zvýšené biologické aktivitě kortizolu dochází v důsledku zvýšené aktivace kortizolu z neaktivního kortizonu [19, 21, 22], prostřednictvím zvýšeného počtu nebo hypersenzitivity glukokortikoidních receptorů [23, 24, 25, 26, 27, 28, 29], či nedostatečných hladin kortizol-vázícího globulinu s excesivním množstvím volného kortizolu v buňkách [19, 30, 31]. V případě nadbytku GH vzniká inzulínová rezistence nezávisle na přítomnosti viscerální obezity, jelikož GH jako lipomobilizační hormon podporuje redukci množství abdominálního tuku [32, 33]. Dochází tu k četným postreceptorovým interakcím mezi GH a inzulínovou signální kaskádou v cílových buňkách s následným zhoršením inzulínové senzitivity [34, 35, 36, 37, 38].



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

Správná funkce mitochondriálního dýchacího řetězce je důležitá nejen z hlediska dostatečné produkce energie, ale i z hlediska tvorby kyslíkových radikálů (ROS - reactive oxygen species). Pokud dojde k nerovnováze mezi jejich tvorbou a odbouráváním v mitochondrii, podílejí se tyto radikály na snížení tvorby ATP, jakožto zdroje energie. To vede k nedostatečné glukózou-stimulované sekreci inzulínu v  $\beta$ -buňkách. ROS dále přispívají k oxidaci fosfolipidů v mitochondriálních membránách, k jejich destabilizaci a ke spuštění apoptosy buňky. Redukce celkového počtu  $\beta$ -buněk pankreatu vede opět k oslabení inzulínové produkce a vývoji DM 2. typu [39]. Je známý i negativní vliv ROS na samotnou inzulínovou signalizační kaskádu [40]. ROS jsou navíc potenciální hrozbou pro poškození mitochondriální DNA, která mimo jiné kóduje některé z proteinů dýchacího řetězce. Nesprávně fungující dýchací řetězec jakožto důsledek mutací mitochondriální DNA může vést k další nadměrné tvorbě ROS a tak k uzavření circulus vitiosus [41, 42].

Důležitou pro prevenci vzniku inzulínové rezistence je rovněž efektivně fungující mitochondriální beta-oxidace VMK v tukové tkáni. Jakmile se totiž toto přirozené skladiště přesytí, mění se jeho funkční vlastnosti. Hypertrofické adipocyty mají výrazně sníženou diferenciací schopnost, převažuje v nich tvorba adipocytárních hormonů vyvolávající inzulínovou rezistenci, dochází ke chronickému zvýšení lipolýzy a vzestupu hladin VMK v krvi [43]. VMK následně invadují a hromadí se kromě jiného v  $\beta$ -buňkách, hepatocytech a myocytech, kde způsobují přetížení mitochondriálního metabolismu s nadměrnou tvorbou ROS. VMK působí negativně na exprese genů zapojených do glukózového a lipidového metabolismu [44], a to i těch mitochondriálních, včetně genů respiračního řetězce. Konečným efektem je pak vznik mitochondriální dysfunkce a pokles mitochondriální biogeneze [45, 46, 47]. Tím se uzavírá další circulus vitiosus, jelikož nedostatečná mitochondriální funkce a biogeneze vede ke snížení beta-oxidace VMK, což aktivuje signální kaskády vedoucí ke snížení glukózového transportu [48]. Negativní efekt VMK na inzulí-

novou senzitivitu tkání je ale dán i přímou interakcí VMK s inzulínovou signalizační kaskádou [49, 50, 51].

## 2. Hypotézy a cíle práce

Cílem první části práce bylo charakterizovat úlohu tukové tkáně a její endokrinní aktivity v patogenezi inzulínové rezistence u pacientů s obezitou, Cushingovým syndromem a akromegalií. Testovali jsme hypotézu, že zatímco u inzulínové rezistence spojené s obezitou je endokrinní dysfunkce tukové tkáně významným etiopatogenetickým faktorem, tato úloha je méně významná u pacientů s hyperkortizolizmem a není přítomna u pacientů s akromegalií.

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

## 3. Materiál a metodika

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

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

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

Pacienti s Cushingovým syndromem (CS) byli charakterizováni klinickým obrazem, setřelou cirkadiánní variabilitou kortizolémie (noční kortizol  $>150$  nmol/l), nepřítomností suprese kortizolémie po 1 mg dexametazonu (kortizol  $>86$  nmol/l) a zvýšeným vylučováním volného močového kortizolu (volný močový kortizol  $>500$  nmol/den). U 15 subjektů byl diagnostikován DM 2. typu, u 2 porušená glukózová tolerance. Z této podskupiny bylo 5 pacientů léčeno perorálními antidiabetiky (PAD), 1 pacient byl léčen kombinací inzulínového analoga a metforminu a 1 pacient inzulínem v monoterapii. U žádného z pacientů zatím nebyly přítomny známky renálních nebo vaskulárních komplikací.

Pacienti s akromegalií (A) byli charakterizováni klinickým obrazem, nepřítomností suprese GH v oGTT (orálním glukózovém tolerančním testu) ( $GH >1$  ng/ml) a elevací koncentrací IGF-1 nad horní hranici normy pro daný věk a pohlaví. U 5 pacientů byl zjištěn DM 2. typu, u 7 porušená glukózová tolerance a u 3 subjektů zvýšená hladina glykémie nalačno. Ve 2 případech již byla zahájena monoterapie metforminem, v 1 případě v kombinaci s inzulínovým analogem a 1 pacient byl léčen kombinací inzulínů. U žádného z pacientů zatím nebyly přítomny známky renálních nebo vaskulárních komplikací.

Pacienti s obezitou (OB) byli charakterizováni BMI nad  $30$  kg/m<sup>2</sup>. U 15 z 33 subjektů byl diagnostikován DM 2. typu, u 9 pacientů porušená glukózová tolerance a u 2 subjektů zvýšená hladina glykémie nalačno. Všichni pacienti s DM a 1 pacient s poruchou glukózové tolerance byli medikamentózně léčeni. U 14 z těchto 16 pacientů byl podáván metformin, v 5 případech v monoterapii, v ostatních případech v kombinaci s dalšími PAD, resp. inzulínem. U jednoho diabetického pacienta byly rozvinuté známky renální insuficience, 2 pacienti měli anamnézu ischemické cévní mozkové příhody.

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

Všichni účastníci studie byli vyšetřeni ráno v bazálnímu stavu, po celonočním lačnění. Všichni byli zváženi a změřeni.

Z antropometrických parametrů jsme vyšetřovali procento celkového tělesného tuku (bioimpedančně), procento abdominálního, neboli trunčálního tuku (denzitometricky použitím DEXA=Dual-Energy X-Ray Ab-

sorptiometry). Klidový výdej energie (resting energy expenditure, REE) a respirační kvocient (respiratory quotient, RQ) byly stanoveny nepřímou kalorimetrií. Výdej energie na základě změřené spotřeby kyslíku a produkce kyslíčnku uhličitého byl spočítán pomocí Weirova vzorce [52].

Tabulka 3.1: Přehled vyšetřovaných mitochondriálních parametrů. (nDNA — nukleární DNA, mtDNA — mitochondriální DNA, CoQ<sub>10</sub> — koenzym Q<sub>10</sub>, ubichinon)

Enzymatický plex	kom-	Zkratka	mRNA exprese	Zkratka	DNA
Pyruvátdehydrogenázový komplex		<i>PDC</i>	Dihydrolipoamid-S-acetyltransferáza	<i>DLAT</i>	nDNA
Citrátsyntáza		<i>CiS</i>	Citrátsyntáza	<i>CiS</i>	nDNA
Komplex I (NADH-CoQ <sub>10</sub> -reduktáza)		<i>NQR</i>	Subkomplex 12 NADH-ubichinon dehydrogenázy 1 $\alpha$ Mitochondriálně kódovaná NADH-dehydrogenáza 5	<i>NDUFA12</i>  <i>MT-ND5</i>	nDNA  mtDNA
Komplex II (sukcinát-CoQ <sub>10</sub> reduktáza)		<i>SQR</i>	Podjednotka A komplexu sukcinátdehydrogenázy	<i>SDHA</i>	nDNA
Komplex I-III (NADH-cytochrom c reduktáza)		<i>NCCR</i>	Cytochrom c-1	<i>CYC1</i>	nDNA
Komplex IV (cytochrom c oxidáza)		<i>COX</i>	Izoforma 1 podjednotky IV cytochrom c oxidázy ATP syntáza	<i>COX4/1</i>  <i>ATP5O</i>	nDNA  mtDNA

Krevní vzorky pro hormonální a biochemická vyšetření byly odebírány ráno mezi sedmou a osmou hodinou po 12 hodinovém lačnění pacientů. Plazma, resp. sérum bylo získáno centrifugací při pokojové teplotě, část byla hned vyhodnocena, část uschována při teplotě  $-80^{\circ}\text{C}$  až do definitivního zpracování. V rámci sekrečních produktů tukové tkáně jsme stanovovali sérové koncentrace FABP-4 a plazmatické koncentrace FGF-21 a FGF-19 (ELISA), sérové hladiny adiponektinu (RIA), leptinu, rezistinu a vysoce senzitivního C-reaktivního proteinu (hsCRP)(ELISA). Z hormonálních parametrů jsme měřili plazmatické hladiny kortizolu (RIA), sérové koncentrace IGF-1 (inzulínu podobný růstový faktor, výkonný hormon GH v tkáních) (IRMA), tyreoidální stimulační hormon (TSH), volný tyroxin (fT4), volný trijodtyronin (fT3) (CLIA). Sérové hladiny biochemických parametrů (glukózy, celkového a HDL cholesterolu, triacylglycerolů (TGL), urey, kreatininu, celkové bílkoviny a albuminu) byly měřeny standardními laboratorními metodami, hodnota LDL choleste-

rolu byla vypočítána (podle Friedewalda:  $LDL = celk.chol. - HDL - TG/2.17 \text{ mmol/l}$ ), koncentrace prealbuminu byla stanovena imunoturbidimetricky. Sérové koncentrace inzulínu byly měřeny komerčními RIA kity, glykovaný hemoglobin byl stanoven chromatograficky (HPLC). U rizikových skupin pacientů z hlediska poruch glukózového metabolismu (obézních, pacientů s hyperkortizolizmem a akromegaliků) byl prováděn oGTT.

Na stanovení aktivity mitochondriálních enzymů a komplexů dýchacího řetězce byly použity trombocyty a lymfocyty periferní krve. Sledovanými parametry byly aktivita komplexu I (NQR, NADH-koenzym Q10 reduktáza), komplexu II (SQR, sukcinát-koenzym Q10 reduktáza), komplexů I–III (NCCR, NADH-cytochrom c reduktáza) a komplexu IV dýchacího řetězce (COX, cytochrom c oxidáza). Dále pak aktivita pyruvátdehydrogenázového komplexu (PDC) a citrátsyntázy (CiS) jako kontrolního enzymu. Stanovení aktivity CiS se v praxi mimo jiné používá na určení kvantity intaktních mitochondrií. Dále jsme hodnotili poměry aktivit jednotlivých enzymů a komplexů k aktivitě CiS, což vyjadřuje absolutní množství daných enzymů/komplexů v mitochondrii. Tímto výpočtem jsme eliminovali efekt změny počtu mitochondrií v buňkách pacientů [53].

Biopsie podkožní tukové tkáně z oblasti břicha byla prováděna v lokální anestezii Mesocainem jehlou Braunule MT 4/G12. V každém vzorku bylo odebráno přibližně 100 mg tkáně a uloženo v 1 ml stabilizačního média RNA lateru a zmrazeno v  $-80^\circ\text{C}$  do doby další analýzy. Z homogenizované tukové tkáně byla izolována celková RNA, která sloužila k přípravě komplementární cDNA (komerčním kitem). Připravená cDNA byla skladována při  $-20^\circ\text{C}$  do doby další analýzy. Kvantifikace genové exprese vybraných mitochondriálních enzymů byla provedena metodou real-time PCR (polymerázová řetězová reakce).

## 4. Výsledky

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

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

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

## 4.1 Antropometrické, biochemické a hormonální parametry

Sedmnáct z dvaceti sedmi pacientů s CS mělo BMI v pásmu obezity a všichni jevíli podle naměřených obvodů pasu známky abdominálního hromadění tuku (>80 cm u žen a >94 cm u mužů). I všichni pacienti ze skupiny OB měli hodnoty obvodu pasu v pásmu abdominální obezity, ale signifikantně vyšší ve srovnání s CS. Mezi dvaceti pacienty s aktivní akromegalií bylo obézních jedenáct subjektů, ale až sedmnáct z nich mělo tendenci k centrálnímu hromadění tuku - opět posuzováno dle obvodu pasu. Systolický i diastolický krevní tlak byl signifikantně vyšší ve skupinách CS, A, OB ve srovnání s kontrolami, diastolický krevní tlak byl významně vyšší i ve srovnání CS vs. OB.

Procento celkového tělesného tuku bylo signifikantně vyšší u CS i OB oproti kontrolám, jakožto i u OB vs. CS. V procentu trunkálního tuku se naproti tomu skupiny CS a OB nelišily, významně vyšší bylo toto procento jen u obou skupin oproti kontrolám. Těmto výsledkům odpovídají i významné rozdíly v procentu aktivní tělesné hmoty a bazálním výdeji energie na kilogram hmotnosti (REE/kg) mezi CS, OB a kontrolami, kde nejmenší hodnoty byly naměřeny u OB, vyšší u CS a nejvyšší u kontrol. V hodnotách respiračního kvocientu se od kontrol (ale i od CS) signifikantně lišili pouze OB s nejnižšími hodnotami odpovídajícími převažujícímu spalování tuků. Rozdíly tohoto parametru ve skupinách OB vs. CS jsou vysvětlitelné významnou převahou procenta celkového tělesného tuku u OB vs. CS. Ani v jednom z výše uvedených parametrů (% celkového a trunkálního tuku, % aktivní tělesné hmoty, REE/kg, respirační kvocient) nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly ve srovnání A a kontrol.

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

Hladiny glykémie nalačno, glykovaného hemoglobinu, inzulínu i HOMA indexu (ukazatel inzulínové rezistence) byly signifikantně vyšší u všech zkoumaných skupin ve srovnání s kontrolami, skupiny CS a OB se v jejich hladinách nelišily. Hladiny hsCRP, jakožto markeru zánětu, který je rovněž dáván do souvislosti s inzulínovou rezistencí, byly dle očekávání signifikantně vyšší u OB ve srovnání s kontrolami i CS, naopak u A byly jeho hladiny překvapivě významně nižší než u kontrol.

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

Hodnoty FGF-21 a FABP-4 byly signifikantně vyšší u CS a OB ve srovnání s kontrolami, bez významného rozdílu mezi CS vs OB pacienty. Rozdíly v hladinách FGF-19 mezi studovanými skupinami pacientů nebyly signifikantní.

Hladiny FGF-21 měly tendenci pozitivně korelovat s parametry jako obvod pasu, procento trunkálního tuku, hladina celkového cholesterolu a TGL, glykémie, glykovaného hemoglobinu, C peptidu a inzulínu, ale bez nálezu korelace s hladinami plazmatického kortizolu u jednotlivých skupin zkoumaných subjektů.

Hladiny FGF-19 korelovaly negativně s hodnotami BMI (Cushingův syndrom), s procentem trunkálního tuku (kontroly) a pozitivně s hodnotami respiračního kvocientu (akromegalie) a HDL cholesterolu (obézní), ale pouze izolovaně u jednotlivých skupin subjektů (uvedeno v závorkách).

Sérové hladiny FABP-4 korelovaly pozitivně s BMI, obvodem pasu, procentem celkového i trunkálního tělesného tuku, s hladinami TGL, LDL cholesterolu (kontroly), glykémie (obézní), či C peptidu (kontroly) a negativně s procentem aktivní tělesné hmoty, bazálním výdejem energie na kilogram hmotnosti, respiračním kvocientem (obézní), hladinami volného tyroxinu (kontroly), hladinami albuminu a HDL cholesterolu (Cushingův syndrom). Sérové hladiny FABP-4 dále pozitivně korelovaly s hladinami bazálního plazmatického kortizolu, ale pouze u pacientů s akromegalií. S hladinami IGF-1 koreloval FABP-4 negativně, ale opět jen izolovaně ve skupině zdravých kontrol. Ve skupině kontrol vykazoval FABP-4 také nejsilnější negativní korelaci s hladinami albuminu a pozitivní korelaci s hladinami celkové bílkoviny.

## 4.2 Parametry mitochondriální funkce a exprese genů mitochondriálních enzymů

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

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

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

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

Pokud se týká vztahů mitochondriálních parametrů k hormonálním hladinám, pozitivní korelace enzymových aktivit, koncentrací i exprese jejich genů jsme prokázali s hladinami volného tyroxinu a IGF-1 a nega-



tivní s hladinami TSH. Korelace s hladinami plazmatického kortizolu byly převážně negativní, našli jsme ale i dvě pozitivní, a to v případě mitochondriálního obsahu komplexu II u pacientů s Cushingovým syndromem a aktivity CiS u pacientů s akromegalií.

## 5. Diskuse

### 5.1 Tuková tkáň a její produkty v patogenezi inzulinové rezistence u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií a prostou obezitou

Tuková tkáň působí jako dynamický nárazník kontrolující hladiny volných mastných kyselin (VMK) v krvi, podobně jako působí játra a kosterní svaly na glykémii. V průběhu lačnění uvolňují adipocyty VMK do oběhu, aby se mohly stát zdrojem energie v aerobním metabolismu tkání, postprandiálně naopak "absorbují" VMK z cirkulace a působí tak protektivně vůči nadměrnému přísunu VMK do buněk [54]. Důležitou je také funkce tukové tkáně jako endokrinního orgánu s produkcí celého spektra látek podílejících se na regulaci energetického metabolismu, zánětlivých reakcí, s pozitivním nebo negativním efektem na aterogenezi a inzulinovou senzitivitu tkání.

Příkladem významných regulátorů metabolické homeostázy, které jsou primárně produkovány jinými tkáněmi (játra, pankreas, střevo) a jen v menší míře též tkání tukovou jsou fibroblastový růstový faktor 21 (FGF-21) a 19 (FGF-19) [12, 13, 14, 15, 16]. Na druhou stranu adipocytární mastné kyseliny vážící protein (FABP-4) patří mezi nejzastoupenější proteiny ve zralých adipocytech [17] a jeho produkce je zastoupená i v imunokompetentních buňkách tukové tkáně, zejména makrofázích.

V naší práci jsme prokázali, že plazmatické hladiny FGF-21 u pacientů s Cushingovým syndromem jsou ve srovnání se zdravými kontrolami významně zvýšené, ale neliší se signifikantně od koncentrací u pacientů s prostou obezitou (kde jsou ale rovněž významně zvýšené oproti kontrolám). Tento nález naznačuje, že elevované hladiny FGF-21 u pacientů s Cushingovým syndromem souvisí spíše s obezitou a metabolickými abnormalitami indukovanými hyperkortizolizmem, než samotným přímým působením hyperkortizolemie na produkci FGF-21. Tato domněnka je pod-

pořena též nálezem pozitivních korelací mezi FGF-21 a parametry jako obvod pasu, procento trunkálního tuku, hladina celkového cholesterolu a TGL, glykémie, glykovaného hemoglobinu, C peptidu a inzulínu, ale bez nálezu korelace s hladinami plazmatického kortizolu u jednotlivých skupin zkoumaných subjektů.

Změny v hladinách FGF-21 u pacientů s Cushingovým syndromem jsou v souladu s předešlými nálezy, že jak obezita, tak přítomnost diabetes mellitus (DM) 2. typu jsou doprovázeny elevovanými koncentracemi FGF-21 [55, 56]. Zvýšené plazmatické koncentrace FGF-21 se dokonce jeví být nezávislým prediktorem rozvoje diabetu u jedinců bez poruchy glukózové homeostázy [57]. Základním parametrem určujícím hladiny FGF-21 se jeví být tělesný obsah tuku [58]. To podporuje i nález snížených hladin FGF-21 u pacientů s mentální anorexií [59, 12].

Podávání FGF-21 u hlodavců i primátů vedlo k významnému zlepšení celé řady metabolických abnormalit, včetně glykémie a inzulínové senzitivity, triacylglycerolémie a hladin HDL cholesterolu [60, 61, 62, 63]. Léčba FGF-21 vedla také ke snížení tělesné hmotnosti u primátů (ale ne u myši) [60, 62]. Zvýšené koncentrace FGF-21 se tedy u obézních pacientů a pacientů s Cushingovým syndromem mohou zdát poněkud paradoxní, jelikož tito pacienti vykazují známky inzulínové rezistence, obezity a dyslipidémie. Předpokládáme, že zvýšené hladiny FGF-21 u těchto pacientů reprezentují kompenzatorní odpověď organismu s cílem zlepšit inzulínovou senzitivitu a další nepříznivé metabolické ukazatele. Objevují se i předpoklady, že se v případě obezity jedná o stav FGF-21 rezistence [63], resp. zvýšenou expresi FGF-21 pod vlivem nadměrné alimentace [64].

Plazmatické hladiny FGF-21 u pacientů s akromegalií a zdravých kontrol se významně nelišily. Tyto dvě skupiny subjektů se signifikantně nelišily ani v hodnotách procenta trunkálního tuku či v bazálním výdeji energie na kilogram hmotnosti (se kterým FGF-21 rovněž významně koreloval, a to negativně). Prokázali jsme statisticky významnou negativní korelaci mezi koncentracemi FGF-21 a IGF-1, ale pouze u pacientů s Cushingovým syndromem, nikoliv u akromegaliků či dalších zkoumaných skupin subjektů. Předpokládáme, že daný nález lze vysvětlit potencovaným inhibičním účinkem růstového hormonu na lipoproteinovou lipázu v terénu zvýšených hladin kortizolu. Zmíněná lipáza je odpovědná za uvolňování volných mastných kyselin z chylomikrů a VLDL částic. Volné mastné kyseliny jsou jedním z faktorů potencujících sekreci FGF-21 [65, 33, 66].

Na rozdíl od změn v koncentracích FGF-21 jsme neprokázali žádné signifikantní změny v plazmatických hladinách FGF-19 při srovnání pa-

cientů s Cushingovým syndromem, obezitou a zdravých kontrol, ani při srovnání akromegaliků a zdravých subjektů.

Experimentální studie s transgenními myši s nadměrnou expresí FGF-19 prokázaly řadu metabolických změn, včetně urychleného metabolismu, zvýšeného příjmu potravy, poklesu procenta tělesného tuku, poklesu hladin sérových lipidů a zvýšené inzulínové senzitivity [67, 68, 69]. Naše výsledky naznačují, že cirkulující hladiny FGF-19 nejsou zásadně ovlivněny stavem výživy, přítomností inzulínové rezistence/diabetu, chronickým hyperkortizolizmem ani nadměrnou produkcí růstového hormonu/IGF-1. Rovněž Dostálová et al. 2008 prokázali, že ani těžká malnutrice u pacientek s mentální anorexií nemá vliv na cirkulující hladiny FGF-19 [59]. Jsme si ale vědomi, že naše závěry jsou založeny na jednorázovém změření plazmatické hladiny FGF-19 po celonočním lačnění a nemuseli jsme zachytit potenciální dynamické změny v sekreci FGF-19 nebo lokální tkáňové změny jeho koncentrace v místě produkce v závislosti na nutričních změnách.

Sérové hladiny FABP-4 u námi studovaných subjektů vykazují obdobný trend, jako plazmatické hladiny FGF-21. Jejich koncentrace jsou u pacientů s Cushingovým syndromem ve srovnání se zdravými kontrolami významně zvýšené, ale neliší se signifikantně od koncentrací u pacientů s prostou obezitou (kde jsou ale rovněž významně zvýšené oproti kontrolám). Obdobná byla také tendence hladin FABP-4 pozitivně korelovat s negativními metabolickými parametry a naopak. Zajímavý je nález negativní korelace koncentrací FABP-4 s bazálním výdejem energie na kilogram hmotnosti, respiračním kvocientem (obězní) a hladinami volného tyroxinu (kontroly), který naznačuje možnou účast FABP-4 v regulaci energetické homeostázy.

Nenalezli jsme žádné signifikantní rozdíly v sérových hladinách FABP-4 mezi akromegaliky a zdravými kontrolami. Sérové hladiny FABP-4 pozitivně korelovaly s hladinami bazálního plazmatického kortizolu, ale pouze u pacientů s akromegalií. Předpokládáme, že tato asociace souvisí s negativním vlivem GH na  $11\beta$ -hydroxysteroiddehydrogenázu-1, která mění inaktivní kortizon na aktivní kortizol, mezi jiným i v tukové tkáni. FABP-4 dále negativně koreloval s hladinami IGF-1, ale opět jen izolovaně ve skupině zdravých kontrol. Ve skupině kontrol vykazoval FABP-4 také nejsilnější negativní korelaci s hladinami albuminu a pozitivní korelaci s hladinami celkové bílkoviny. To otevírá otázku možné účasti FABP-4 nejenom v lipidovém metabolismu a glukózové homeostáze, ale i v metabolismu proteinovém.

Změny v sérových hladinách FABP-4 u pacientů s Cushingovým syndromem i prostou obezitou jsou v souladu s předešlými nálezy, že jak

obezita tak přítomnost DM 2. typu jsou doprovázeny elevovanými koncentracemi FABP-4 [70, 71, 72, 10, 73]. FABP-4 se účastní spolu s PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ) biologických procesů ovlivňujících inzulínovou senzitivitu a tělesné složení [74], významně koreluje s hladinami zánětlivých markerů asociovaných s obezitou [73], je zahrnut do lipidového metabolismu [75, 76], aterogenezy [77, 78, 79], i do rozvoje nealkoholové steatohepatitidy u pacientů s DM 2. typu [80]. FABP-4 patří mezi faktory v nejužším vztahu k BMI, kompenzaci diabetu a inzulínové senzitivě, a to z celého spektra hormonů produkovaných tukovou tkání, včetně těch nejméně prostudovaných, jakými jsou adiponektin, rezistin či leptin [81, 82, 83, 73].

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

V souvislosti s inzulínovou rezistencí jsou rozhodující efektivně probíhající mitochondriální oxidační procesy. Jednak beta-oxidace VMK se zamezením nadměrné ektopické akumulace TGL zejména v jaterní, svalové a pankreatické tkáni [8], jednak respirační řetězec, který je důležitý z hlediska dostatečné tvorby energie pro uvolňování inzulínu z  $\beta$ -buněk pankreatu [8], ale také pro zamezení nadměrné tvorby reaktivních kyslíkových radikálů (ROS). Nadměrná kumulace VMK i ROS v mitochondrii, resp. obecně v buňkách tkání inzulín produkujících, či inzulín senzitivních, způsobuje mitochondriální dysfunkci, narušení inzulínové signální kaskády, negativně interaguje s genovou expresí enzymů lipidového i glukózového metabolismu a mitochondriálních oxidačních procesů, a ohrožuje přímo existenci buněk a funkčnost celých orgánů [49, 50, 51, 44, 45, 46, 47, 39, 40, 41, 42].

V naší práci jsme prokázali přítomnost mitochondriálních změn u všech studovaných skupin pacientů ve srovnání s kontrolami, tj. u pacientů s Cushingovým syndromem, akromegalií, ale nejvýrazněji se projevíly u pacientů s prostou obezitou. Míra snížení exprese genů pro mitochondriální enzymy u jednotlivých vyšetřovaných skupin pacientů odpovídá přibližně procentu výskytu poruchy glukózového metabolismu u těchto pacientů - tj. největší procento u obézních a nejmenší u hyperkortizolemických pacientů. Tyto výsledky jsou v souladu s dřívejšími nálezy, že u jedinců s DM 2. typu dochází k celkovému snížení oxidativní kapacity

mitochondrií [41]. Mitochondrie s defektem v respiračním řetězci následně není schopná zvýšit aktivitu hexokináz (enzymů zpracovávajících vstupující glukózu) nad bazální úroveň [8, 84].

Potvrdili jsme úzký vztah mitochondriálních funkcí k metabolickému profilu pacientů. Aktivity a koncentrace mitochondriálních enzymů a exprese jejich genů měly obecně tendenci negativně korelovat s negativními antropometrickým i biochemickými parametry (ve vztahu k lipidovému i glukózovému metabolismu), jakožto i s hladinami leptinu, či rezistinu. Pozitivní byly naopak korelace s procentem aktivní tělesné hmoty, hladinami adiponektinu či HDL cholesterolu. Negativní korelace mitochondriálních parametrů s hladinami FGF-21 je v souladu s nálezem Sumalainena et al., že zvýšené sérové koncentrace FGF-21 korelují s defekty v respiračním řetězci mitochondrií, zejména v kosterních svalech. FGF-21 dokonce považuje za potenciální biomarker pro detekci mitochondriální dysfunkce u lidí [85].

Zajímavé jsou i vztahy mitochondriálních parametrů k hormonálním hladinám. Pozitivní korelace enzymových aktivit, koncentrací i expresí jejich genů jsme prokázali s hladinami volného tyroxinu a IGF-1 a negativní s hladinami TSH. To pravděpodobně souvisí s obecnými stimulačními účinky hormonů štítné žlázy na metabolismus organismu, jakožto i s účinky růstového hormonu (kterého výkonným hormonem v tkáních je právě IGF-1) na prevenci akumulace tuku a stimulaci lipidové mobilizace. Korelace s hladinami plazmatického kortizolu byly převážně negativní, našli jsme ale i dvě pozitivní (a to v případě mitochondriálního obsahu komplexu II u pacientů s Cushingovým syndromem a aktivity CiS, tj. množství mitochondrií u pacientů s akromegalií). Negativní korelace mitochondriálních parametrů s kortizolémii jsou opět vysvětlitelné nepříznivým vlivem nadměrných hladin glukokortikoidů v rámci regulací metabolismu lipidů a glukózy.

Další zajímavou kapitolou je negativní korelace mitochondriálních parametrů k hladinám vysoce senzitivního CRP, jakožto ukazatele zánětlivého stavu v organismu, jakým prostředím obezity a inzulínové rezistence je [86]. Tento nález souvisí opět s problematikou škodlivosti přebytku VMK v organismu a přetížení mitochondriálního metabolismu. VMK jsou schopné přímé aktivace zánětlivých signalizačních kaskád prostřednictvím receptorů TLR (Toll-like receptors). Tyto signalizační dráhy jsou centrálními koordinátory zánětlivých odpovědí a procesů a indikují tvorbu zánětlivých mediátorů podporujících vznik inzulínové rezistence [87, 88]. Dále byl prokázán stimulační efekt VMK na tvorbu TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  a IL-6 v leukocytech [89, 90, 91], jakožto i přímý vliv těchto cytokinů na snížení mitochondriálních funkcí v exponovaných buňkách [92, 93].

Důležitý je také nález pozitivní korelace zkoumaných mitochondriální parametrů s procentem aktivní tělesné hmoty v organizmu. Kosterní sval má vedle významného postavení jako místa inzulínem stimulované postprandiální utilizace glukózy i majoritní podíl na vychytávání VMK z oběhu, jelikož jejich beta-oxidace je jeho základním zdrojem energie v podmínkách lačnění.

Zdravý kosterní sval je schopen přepínat svůj metabolismus mezi dvěma základními procesy. V průběhu lačnění probíhá predominantně lipidová oxidace doprovázená vysokým vychytáváním VMK z oběhu, postprandiálně dochází ke zvýšenému vychytávání glukózy, k její oxidaci a ukládání pod vlivem inzulínové stimulace se současnou supresí lipidové oxidace. Inzulínová rezistence ve svalu znamená nejen omezenou inzulínovou stimulaci glukózového metabolismu, ale také neschopnost inzulínu regulovat lipidový metabolismus a celkově ztrátu schopnosti přepínat adekvátně mezi metabolismem těchto živin. Tento jev se nazývá též metabolická inflexibilita [94, 95]. Právě snížená beta-oxidace VMK v mitochondriích během lačnění spolu s nadměrnou nabídkou VMK je významným mechanismem vedoucím k akumulaci VMK ve svalových buňkách. Redukce hmotnosti o 5-10% za pomoci redukční diety, ale zejména pravidelného aerobního tréninku, se považuje za základní režimové opatření v léčbě a prevenci DM 2. typu. Při pohybu totiž dochází ke zvýšení enzymové oxidační kapacity a tak k potenciaci beta-oxidace VMK z intracelulárních zásob s následným zlepšením inzulínové senzitivity kosterních svalů [96].

## 6. Závěry

Naše práce prokázala, že jak prostá obezita, tak obezita doprovázející hyperkortizolizmus je spojená s významně zvýšenými cirkulujícími hladinami FGF-21 a FABP-4 oproti zdravým kontrolám. Koncentrace obou látek byly srovnatelné mezi pacienty s Cushingovým syndromem a prostou obezitou. Tento fakt spolu s chybějící korelací mezi hladinami FGF-21, resp. FABP-4 a hladinami plazmatického kortizolu naznačují, že se jedná nejspíš o vliv obezity a její metabolických důsledků, nežli o samotné přímé působení hyperkortizolémie na produkci FGF-21 a FABP-4. U plazmatických hladin FGF-19 jsme nenašli žádné signifikantní rozdíly mezi zkoumanými skupinami pacientů.

Absence signifikantních rozdílů cirkulujících hladin FGF-21, FGF-19 a FABP-4 mezi akromegaliky a zdravými kontrolami je v souladu s naší

vstupní hypotézou, že v případě akromegalie není endokrinní dysfunkce tukové tkáně zásadní pro rozvoj inzulinové rezistence. V případě nadbytku růstového hormonu vzniká inzulinová rezistence zejména na základě četných postreceptorových interakcí mezi růstovým hormonem a inzulinovou signální kaskádou.

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

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

# Seznam použité literatury

- [1] Isomaa, B., Almgren, P., Tuomi, T., Forsén, B., Lahti, K., Nissén, M., Taskinen, M.R., Groop, L. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24: 683–689.
- [2] Montague, C.T., O’Rahilly, S. The perils and portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes* 2000; 49: 883–888.
- [3] Shimomura, I., Funahashi, T., Takahashi, M., Maeda, K., Kotani, K., Nakamura, T., Yamashita, S., Miura, M., Fukuda, Y., Takemura, K., Tokunaga, K., Matsuzawa, Y. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med* 1996; 414: 799–806.
- [4] Hotamisligil, G.S., Shargill, N.S., Spiegelman, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259: 87–91.
- [5] Sartipy, P., Loskutoff, D.J. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003; 100: 7265–7270.
- [6] Friedman, J.M., Halaas, J.L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 1998; 395: 763–770.
- [7] Matsuzawa, Y., Funahashi, T., Kihara, S., Shimomura, I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004; 24: 29–33.
- [8] Wiederkehr, A., Wollheim, CB. Minireview: Implication of mitochondria in insulin secretion and action. *Endocrinology* 2006; 147(6): 2643–2649.
- [9] Anderlova, K., Dolezalova, R., Housova, J., Bosanska, L., Haluzikova, D., Kremen, J., Skrha, J., Haluzik, M. Influence of PPAR-alpha agonist fenofibrate on insulin sensitivity and selected adipose tissue-derived hormones in obese women with type 2 diabetes. *Physiol Res* 2007; 56(5): 579–86.
- [10] Haluzik, M.M., Anderlova, K., Dolezalova, R., Adamikova, A., Haluzikova, D., Housova, J., Svacina, S., Haluzik, M. Serum adipocyte fatty acid binding protein levels in patients with type 2 diabetes mellitus and obesity: the influence of fenofibrate treatment. *Physiol Res* 2009; 58(1): 93–99.
- [11] Havel, P.J. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13(1): 51–59.
- [12] Dostalova, I., Haluzikova, D., Haluzik, M. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator with potential therapeutic properties in obesity/type 2 diabetes mellitus. *Physiol Res* 2009; 58(1): 1–7.
- [13] Kharitonov, A., Shanafelt, A.B. Fibroblast growth factor-21 as a therapeutic agent for metabolic diseases. *BioDrugs* 2008; 22(1): 37–44.



- [14] Jones, S. Mini-review: endocrine actions of fibroblast growth factor 19. *Mol Pharm* 2008; 5: 42–48.
- [15] Lundasen, T., Galman, C., Angelin, B., Rudling, M. Circulating intestinal fibroblast growth factor 19 has a pronounced diurnal variation and modulates hepatic bile acid synthesis in man. *J Intern Med* 2006; 260: 530–536.
- [16] Kharitononkov, A., Larsen, P. FGF21 reloaded: challenges of a rapidly growing field. *Trends Endocrinol Metab* 2011; 22(3): 81–86.
- [17] Makowski, L., Hotamisligil, G.S. Fatty acid binding proteins—the evolutionary crossroads of inflammatory and metabolic responses. *J Nutr* 2004; 134: 2464S–2468S.
- [18] Purnell, J.Q., Kahn, S.E., Samuels, M.H., Brandon, D., Loriaux, D.L., Brunzell, J.D. Enhanced cortisol production rates, free cortisol, and 11beta-HSD-1 expression correlate with visceral fat and insulin resistance in men: effect of weight loss. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: E351–357.
- [19] Wang, M. The role of glucocorticoid action in the pathophysiology of the metabolic syndrome. *Nutr Metab* 2005; 2: 3–17.
- [20] Andrews, R.C., Walker, B.R. Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. *Clin Sci (Lond)* 1999; 96: 513–23.
- [21] Masuzaki, H., Flier, J.S. Tissue-specific glucocorticoid reactivating enzyme, 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 beta-HSD1) - a promising drug target for the treatment of metabolic syndrome. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2003; 3(4): 255–262.
- [22] Wake, D.J., Walker, B.R. Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in obesity. *Endocrine* 2006; 29(1): 101–108.
- [23] Van Rossum, E.F.C., Lamberts, S.W.J. Polymorphisms in the Glucocorticoid Receptor Gene and Their Associations with Metabolic Parameters and Body Composition. *Recent Prog Horm Res* 2004; 59: 333–357.
- [24] Lin, R.C.I., Wang, X.L., Morris, B.J. Association of Coronary Artery Disease With Glucocorticoid Receptor N363S Variant. *Hypertension* 2003; 41: 404–407.
- [25] Rosmond, R. The Glucocorticoid Receptor Gene and Its Association to Metabolic Syndrome. *Obesity Research* 2002; 10: 1078–1086.
- [26] Van Rossum, E.F., Koper, J.W., Huizenga, N.A. et al. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene, which decreases sensitivity to glucocorticoids in vivo, is associated with low insulin and cholesterol levels. *Diabetes* 2002; 51: 3128–3134.
- [27] Van Rossum, E.F.C., Feelders, R.A., Van den Beld, A.W. et al. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with better survival and low C-reactive protein levels in elderly men. *Am J Med* 2004; 117(3): 158–162.

- [28] Van Rossum, E.F.C., De Jong, F.J., Den Heijer, T. et al. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene protects against white matter lesions and dementia, 82. In: Program & Abstracts of the 85th Annual Meeting of The Endocrine Society, Philadelphia 2003.
- [29] Van Rossum, E.F.C., Voorhoeve, P.G., Te Velde, S.J. et al. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with a beneficial body composition and muscle strength in young adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89 (8): 4004–4009.
- [30] Fernandez-Real, J.M., Puget, M., Grasa, M. et al. Serum Corticosteroid-Binding Globulin Concentration and Insulin Resistance Syndrome: A Population Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 (10): 4686–4690.
- [31] 104. Fernandez-Real, J.M., Pugeat, M., López-Bermejo, A. et al. Corticosteroid-binding globulin affects the relationship between circulating adiponectin and cortisol in men and women. *Metabolism* 2005; 54(5): 584–589.
- [32] Marek, J., Hána, V., Kršek, M. How corticoids, growth hormone and oestrogens influence lipids and atherosclerosis. *Vnitř Lék* 2007; 53(4): 386–390.
- [33] Franco, C., Brandberg, J., Lönn, L. et al. Growth Hormone Treatment Reduces Abdominal Visceral Fat in Postmenopausal Women with Abdominal Obesity: A 12-Month Placebo-Controlled Trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 90(3): 1466–1474.
- [34] Dominici, F.P., Turyn, D. Growth Hormone-Induced Alterations in the Insulin-Signaling System. *Exp Biol Med* 2002; 227: 149–157.
- [35] Del Rincon, J.P., Iida, K., Gaylinn, B.D. et al. Growth Hormone Regulation of p85 alpha Expression and Phosphoinositide 3-Kinase Activity in Adipose Tissue. Mechanism for Growth Hormone-Mediated Insulin Resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1638–1646.
- [36] Barbour, L.A., Rahman, S.M., Gurevich, I. et al. Increased P85-alpha Is a Potent Negative Regulator of Skeletal Muscle Insulin Signaling and Induces in Vivo Insulin Resistance Associated with Growth Hormone Excess. *J Biol Chem* 2005; 280 (45): 37489–37494.
- [37] Ueki, K., Kondo, T., Kahn, C.R. Suppressor of cytokine signaling R1 (SOCS-1) and SOCS-3 cause insulin resistance through inhibition of tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins by discrete mechanisms. *Mol Cell Biol* 2004; 24(12): 5434–5446.
- [38] Fasshauer, M., Kralisch, S., Klier, M., Lossner, U., Bluher, M., Klein, J., Paschke, R. Insulin resistance-inducing cytokines differentially regulate SOCS mRNA expression via growth factor- and Jak/Stat-signaling pathways in 3T3-L1 adipocytes. *J Endocrinol* 2004; 181(1): 129–138.
- [39] Ma, Z.A. The role of peroxidation of mitochondrial membrane phospholipids in pancreatic  $\beta$ -cell failure. *Curr Diabetes Rev.* 2012; 8(1): 69–75.

- [40] Bloch-Damti, A., Bashan, N. Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 1553–1567.
- [41] Schrauwen, P., Hesselink, M.K.C. Oxidative Capacity, Lipotoxicity, and Mitochondrial Damage in Type 2 Diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 1412–1417.
- [42] Rains, J.L., Jain, S.K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 567–575.
- [43] 118. Anderlová, K., Haluzík, M. Tuková tkáň a inzulinová rezistence. *DMEV* 2005; 8(2): 87–96.
- [44] Schmid, G.M., Converset, V., Walter, N., Sennitt, M.V., Leung, K.Y., Byers, H., Ward, M., Hochstrasser, D.F., Cawthorne, M.A., Sanchez, J.C. Effect of high-fat diet on the expression of proteins in muscle, adipose tissues, and liver of C57BL/6 mice. *Proteomics* 2004; 4: 2270–2282.
- [45] Sparks, L.M., Xie, H., Koza, R.A., Mynatt, R., Hulver, M.W., Bray, G.A., Smith, S.R. A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. *Diabetes* 2005; 54: 1926–1933.
- [46] Petersen, K.F., Dufour, S., Befroy, D., Garcia, R., Shulman, G.I. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2004; 350: 664–671.
- [47] Heilbronn, L.K., Gan, S.K., Turner, N., Campbell, L.V., Chisholm, D.J. Markers of mitochondrial biogenesis and metabolism are lower in overweight and obese insulin-resistant subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1467–1473.
- [48] Lowell, B.B., Shulman, G.I. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 2005; 307: 384–387.
- [49] Hirabara, S.M., Curi, R., Maechler, P. Saturated fatty acid-induced insulin resistance is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells. *J Cell Physiol* 2010; 222: 187–194.
- [50] Consitt, L.A., Bell, J.A., Houmard, J.A. Intramuscular lipid metabolism, insulin action, and obesity. *IUBMB Life* 2009; 61: 47–55.
- [51] Samuel, V.T. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2011; 22: 60–65.
- [52] Weir, J.B. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol* 1949; 109: 1–9.
- [53] Gellerich, F.N., Deschauer, M., Chen, Y., Muller, T., Neudecker, S., Zierz, S. Mitochondrial respiratory rates and activities of respiratory chain complexes correlate linearly with heteroplasmy of deleted mtDNA without threshold and independently of deletion size. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1556: 41–52.

- [54] Sharma, A.M., Staels, B. Review: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and adipose tissue-understanding obesity-related changes in regulation of lipid and glucose metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(2): 386–95.
- [55] Zhang, X., Yeung, D.C., Karpisek, M., Stejskal, D., Zhou, Z., Liu, F., Wong, R.L.C., Chow, W.S., Tso, A.W.K., Lam, K.S.L., Xu, A. Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes* 2008; 57(5): 1246–1253.
- [56] Mraz, M., Bartlova, M., Lacinova, Z., Michalsky, D., Kasalicky, M., Haluzikova, D., Matoulek, M., Dostalova, I., Humenanska, V., Haluzik, M. Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity; *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 71(3): 369–375.
- [57] Chen, C., Cheung, B.M., Tso, A.W., Wang, Y., Law, L.S., Ong, K.L., Wat, N.M., Xu, A., Lam, K.S. High plasma level of fibroblast growth factor 21 is an Independent predictor of type 2 diabetes: a 5.4-year population-based prospective study in Chinese subjects. *Diabetes Care* 2011; 34(9): 2113–2115.
- [58] Tan, B.K., Hallschmid, M., Adya, R., Kern, W., Lehnert, H., Randevo, H.S. Fibroblast growth factor 21 (FGF21) in human cerebrospinal fluid: relationship with plasma FGF21 and body adiposity. *Diabetes* 2011; 60(11): 2758–2762.
- [59] Dostalova, I., Kavalkova, P., Haluzikova, D., Lacinova, Z., Mraz, M., Papezova, H., Haluzik, M. Plasma concentrations of fibroblast growth factor 19 and 21 in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(9): 3627–2632.
- [60] Kharitonov, A., Shiyanova, T.L., Koester, A., Ford, A.M., Micanovic, R., Galbreath, E.J., Sandusky, G.E., Hammond, L.J., Moyers, J.S., Owens, R.A., Gromada, J., Brozinick, J.T., Hawkins, E.D., Wroblewski, V.J., Li, D.S., Mehrbod, F., Jaskunas, S.R., Shanafelt, A.B. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 2005; 115: 1627–1635.
- [61] Wente, W., Efanov, A.M., Brenner, M., Kharitonov, A., Koester, A., Sandusky, G.E., Sewing, S., Treinies, I., Zitzer, H., Gromada, J. Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. *Diabetes* 2006; 55: 2470–2478.
- [62] Kharitonov, A., Wroblewski, V.J., Koester, A., Chen, Y.F., Clutinger, C.K., Tigno, X.T., Hansen, B.C., Shanafeld, A.B., Etgen, G.J. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology* 2007; 148: 774–781.
- [63] Kralisch, S., Fasshauer, M. Fibroblast growth factor 21: effects on carbohydrate and lipid metabolism in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2011; 14(4): 354–359.

- [64] Uebanso, T., Taketani, Y., Yamamoto, H., Amo, K., Ominami, H., Arai, H., Takei, Y., Masuda, M., Tanimura, A., Harada, N., Yamanaka-Okumura, H., Takeda, E. Paradoxical regulation of human FGF21 by both fasting and feeding signals: is FGF21 a nutritional adaptation factor? *PLoS One* 2011; 6(8): e22976.
- [65] Wajchenberg, B.L. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. *Endocr Rev* 2000; 21(6): 697–738.
- [66] Mead, J.R., Irvine, S.A., Ramji, D.P. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J. Mol. Med.* 2003; 80 (12): 753–769.
- [67] Tomlinson, E., Fu, L., John, L., Hultgren, B., Huang, X., Renz, M., Stephan, J.P., Tsai, S.P., Powell-Braxton, L., French, D., Stewart, T.A. Transgenic mice expressing human fibroblast growth factor-19 display increased metabolic rate and decreased adiposity. *Endocrinology* 2002; 143: 1741–1747.
- [68] Fu, L., John, L.M., Adams, S.H., Yu, X.X., Tomlinson, E., Renz, M., Williams, P.M., Soriano, R., Corpuz, R., Moffat, B., Vandlen, R., Simmons, L., Foster, J., Stephan, J.P., Tsai, S.P., Stewart, T.A. Fibroblast growth factor 19 increases metabolic rate and reverses dietary and leptin-deficient diabetes. *Endocrinology* 2004; 145: 2594–2603.
- [69] Wu, A.L., Coulter, S., Liddle, C., Wong, A., Eastham-Anderson, J., French, D.M., Peterson, A.S., Sonoda, J. FGF19 regulates cell proliferation, glucose and bile acid metabolism via FGFR4-dependent and independent pathways. *PLoS One* 2011; 6(3): e17868.
- [70] Karpisek, M., Stejskal, D., Kotolova, H., Kollar, P., Janoutova, G., Ochmanova, R., Cizek, L., Horakova, D., Yahia, R.B., Lichnovska, R., Janout, V. Treatment with atorvastatin reduces serum adipocyte-fatty acid binding protein value in patients with hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest* 2007; 37: 637–642.
- [71] Stejskal, D., Karpisek, M. Adipocyte fatty acid binding protein in a Caucasian population: a new marker of metabolic syndrome? *Eur J Clin Invest* 2006; 36: 621–625.
- [72] Xu, A., Wang, Y., Xu, J.Y., Stejskal, D., Tam, S., Zhang, J., Wat, N.M., Wong, W.K., Lam, K.S. Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Chem* 2006; 52: 405–413.
- [73] Terra, X., Quintero, Y., Auguet, T., Porrás, J.A., Hernández, M., Sabench, F., Aguilar, C., Luna, A.M., Del Castillo, D., Richart, C. FABP 4 is associated with inflammatory markers and metabolic syndrome in morbidly obese women. *Eur J Endocrinol* 2011; 164(4): 539–547.
- [74] Damcott, C.M., Moffett, S.P., Feingold, E., Barmada, M.M., Marshall, J.A., Hamman, R.F., Ferrell, R.E. Genetic variation in fatty acid-binding

- protein-4 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma interactively influence insulin sensitivity and body composition in males. *Metabolism* 2004; 53(3): 303–309.
- [75] Binas, B., Danneberg, H., McWhir, J., Mullins, L., Clark, A.J. Requirement for the heart-type fatty acid binding protein in cardiac fatty acid utilization. *Faseb J* 1999; 13: 805–812.
- [76] Levy, E., Menard, D., Delvin, E., Stan, S., Mitchell, G., Lambert, M., Ziv, E., Feoli-Fonseca, J.C., Seidman, E. The polymorphism at codon 54 of the FABP2 gene increases fat absorption in human intestinal explants. *J Biol Chem* 2001; 276: 39679–39684.
- [77] Fu, Y., Luo, L., Luo, N., Garvey, W.T. Lipid metabolism mediated by adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene expression in human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis* 2006; 188(1): 102–111.
- [78] Fu, Y., Luo, N., Lopes-Virella, M.F., Garvey, W.T. The adipocyte lipid binding protein (ALBP/aP2) gene facilitates foam cell formation in human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis* 2002; 165(2): 259–269.
- [79] Kalay, N., Yarlioglu, M., Ardic, I., Kaya, M.G., Vardar, A., Inanc, T., Dogan, A., Ikizceli, I., Koç, F., Oguzhan, A., Ergin, A. The role of heart-type fatty acid-binding protein in predicting properties of coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndrome. *Coron Artery Dis* 2010; 21(7): 435–440.
- [80] Koh, J.H., Shin, Y.G., Nam, S.M., Lee, M.Y., Chung, C.H., Shin, J.Y. Serum adipocyte fatty acid-binding protein levels are associated with non-alcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2009; 32: 147–152.
- [81] Anderlova, K., Kremen, J., Dolezalova, R., Housova, J., Haluzikova, D., Kunesova, M., Haluzik, M. The influence of very-low-calorie-diet on serum leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in obese women. *Physiol Res* 2006; 55: 277–283.
- [82] McTernan, C.L., McTernan, P.G., Harte, A.L., Levick, P.L., Barnett, A.H., Kumar, S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet* 2002; 359: 46–47.
- [83] Weyer, C., Funahashi, T., Tanaka, S., Hotta, K., Matsuzawa, Y., Pratley, R.E., Tataranni, P.A. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1930–1935.
- [84] Gerbitz, K.D., Gempel, K., Brdiczka, D. Mitochondria and diabetes. Genetic, biochemical, and clinical implications of the cellular energy circuit. *Diabetes* 1996; 45(2): 113–26.
- [85] Suomalainen, A., Elo, J.M., Pietiläinen, K.H., Hakonen, A.H., Sevastianova, K., Korpela, M., Isohanni, P., Marjavaara, S.K., Tyni, T., Kiuru-Enari, S., Pihko, H., Darin, N., Öunap, K., Kluijtmans, L.A., Paetau, A.,

- Buzkova, J., Bindoff, L.A., Annunen-Rasila, J., Uusimaa, J., Rissanen, A., Yki-Järvinen, H., Hirano, M., Tulinius, M., Smeitink, J., Tynni, H., FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study. *Lancet Neurol* 2011; 10(9): 806–818.
- [86] Fain, J.N. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam Horm.* 2006; 74: 443–77.
- [87] Arkan, M.C., Hevener, A.L., Greten, F.R., Maeda, S., Li, Z.W., Long, J.M., Wynshaw-Boris, A., Poli, G., Olefsky, J., Karin, M. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med* 2005; 11(2): 191–198.
- [88] Hotamisligil, G.S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444: 860–867.
- [89] Håversen, L., Danielsson, K.N., Fogelstrand, L., Wiklund, O. Induction of proinflammatory cytokines by long-chain saturated fatty acids in human macrophages. *Atherosclerosis* 2009; 202: 382–393.
- [90] Wen, H., Gris, D., Lei, Y., Jha, S., Zhang, L., Huang, M.T., Brickey, W.J., Ting, J.P. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nat Immunol* 2011; 12: 408–415.
- [91] Bunn, R.C., Cockrell, G.E., Ou, Y., Thraill, K.M., Lumpkin, C.K. Jr, Fowlkes, J.L. Palmitate and insulin synergistically induce IL-6 expression in human monocytes. *Cardiovasc Diabetol* 2010; 9: 73.
- [92] Ji, C., Chen, X., Gao, C., Jiao, L., Wang, J., Xu, G., Fu, H., Guo, X., Zhao, Y. IL-6 induces lipolysis and mitochondrial dysfunction, but does not affect insulin-mediated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *J Bioenerg Biomembr* 2011; 43: 367–375.
- [93] Yasuhara, R., Miyamoto, Y., Akaike, T., Akuta, T., Nakamura, M., Takami, M., Morimura, N., Yasu, K., Kamijo, R. Interleukin-1beta induces death in chondrocyte-like ATDC5 cells through mitochondrial dysfunction and energy depletion in a reactive nitrogen and oxygen species-dependent manner. *Biochem J* 2005; 389: 315–323.
- [94] Kelley, D.E., Mandarino, L.J. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. *Diabetes* 2000; 49(5): 677–683.
- [95] Wohl, P., Krušinová, E., Kratochvílová, S., Klementová, M., Wohl, P., Pelikánová, T. Inzulinová rezistence u diabetiků - metabolická inflexibilita. *DMEV* 2005; 8(4): 174–178.
- [96] Hoeks, J., Schrauwen, P. Muscle mitochondria and insulin resistance: a human perspective. *Trends Endocrinol Metab* 2012 Jun 20. [Epub ahead of print].

# Seznam publikací

## Publikace, které jsou podkladem disertace

Řurovcová, V., Marek, J., Hána, V., Matoulek, M., Zikán, V., Haluzíková, D., Kaválková, P., Lacinová, Z., Kršek, M., Haluzík, M. Plasma concentrations of fibroblast growth factors 21 and 19 in patients with Cushing's syndrome. *Physiol Res* 2010; 59(3): 415–22. IF1,653

Řurovcová, V., Marek, J., Hána, V., Matoulek, M., Zikán, V., Haluzíková, D., Kaválková, P., Lacinová, Z., Kršek, M., Haluzík, M. Plasma concentrations of adipocyte fatty acid binding protein in patients with Cushing's syndrome. *Physiol Res* 2010; 59(6): 963–712. IF 1,653

## Další publikace v impaktovaných časopisech

Prázný, M., Jeřková, J., Horová, E., Lazárová, V., Hána, V., Kvasnička, J., Pecen, L., Marek, J., Skrha, J., Kršek, M. Impaired microvascular reactivity and endothelial function in patients with Cushing's syndrome: influence of arterial hypertension. *Physiol Res* 2008; 57(1): 13–22. IF 1,806.

## Publikace v časopisech bez impakt faktoru se vztahem k tématu disertace

Řurovcová, V., Haluzík, M., Wenchich, L., Kršek, M. Mitochondrie a inzulínová rezistence. *DMEV* 2008; 11 (2): 74–78.

Řurovcová, V., Kršek, M., Haluzík, M. Patogeneze inzulínové rezistence u vybraných endokrinopatií. *Vnitř Lék* 2008; 54(4): 368–376.

Řurovcová, V., Haluzík, M., Wenchich, L., Kršek, M. Mitochondrie a patogeneze diabetes mellitus 2. typu na úrovni pankreatu a jednotlivých inzulín-senzitivních tkání. *DMEV* 2009; 12 (2): 65–70.

## Další publikace

Řurovcová, V., Kršek, M. Cushingův syndrom - charakteristika, diagnostika a léčba. *Medicina pro praxi* 2009; 6 (6): 295-299.



## Abstrakta se vztahem k tématu disertace

Ďurovcová, V., Wenchich, L., Hána, V., Marek, J., Haluzík, M., Kršek, M. Změny mitochondriálních funkcí ve vztahu k hyperkortizolizmu a inzulinové rezistenci. In: Zborník abstraktov: 87. XXXI. Endokrinologické dni s medzinárodnou účasťou, Štrbské Pleso, SR, 2.–4.10.2008.

Durovcova, V., Wenchich, L., Hana, V., Marek, J., Haluzik, M., Krsek, M. Mitochondrial dysfunction in association with insulin resistance in Cushing's syndrome. In: *Endocrinologia & Metabologia, Brazilian Archives of Endocrinology and Metabolism* 52, suppl. 6, part II: S931. 13th International Congress of Endocrinology, Rio de Janeiro, Brazil, November 8–12, 2008.

Durovcova, V., Krsek, M., Hana, V., Marek, J., Bartlova, M., Kavalkova, P., Haluzik, M. Regulation of novel metabolic regulator fibroblast growth factor 21 by body adiposity and hypercortisolemia: studies in patients with obesity and Cushing's syndrome. In: *Endocrine abstracts, Volume 20: P 491*. 11th European Congress of Endocrinology, Istanbul, Turkey, April 25–29, 2009.

Ďurovcová, V., Kršek, M., Marek, J., Hána, V., Matoulek, M., Zikán, V., Haluzíková, D., Kaválková, P., Lacinová, Z., Haluzík, M. Vztah hladin AFABP (adipocyte fatty acid binding protein) a kortizolu u pacientů s Cushingovým syndromem. In: *Sborník abstrakt: 96. XXXII. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Český Krumlov, ČR, 24.–26. 9. 2009*.

Krsek, M., Durovcova, V., Marek, J., Hana, V., Matoulek, M., Zikan, V., Haluzikova, D., Lacinova, Z., Kavalkova, P., Haluzik, M. Adipocyte fatty acid binding protein serum levels in patients with Cushing's syndrome. In: *Abstracts: 23-34. ENEA workshop: Novel insights in the management of Cushing's Syndrome, Naples, Italy, December 4–6, 2009*.

Mráz, M., Drápalová, J., Lacinová, Z., Kaválková, P., Ďurovcová, V., Haluzíková, D., Urbanová, M., Pavlovičová, R., Čechová, M., Wenchich, L., Matoulek, M., Svačina, Š., Kršek, M., Haluzík, M. Mitochondriální dysfunkce v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech pacientů s diabetes mellitus 2. typu a obezitou: efekt nízkokalorické diety. In: *DMEV 2011, 14 (suppl. 1): 24. 47*. Diabetologické dny, Luhačovice, ČR, 14.–16.4.2011.

## Další abstrakta

Marek, J., Kršek, M., Ježková, J., Lazárová, V. Cushingův syndrom: jak léčit, když selže nebo není možná operační léčba? In: *DMEV 2006; 9(3): 135. 29*. Endokrinologické dny, Ružomberok, SR, 21.–23.9.2006.

Ďurovcová, V., Prázný, M., Horová, E., Ježková, J., Marek, J., Škrha, J., Hána, V., Kvasnička, J., Pecen, L., Kršek, M. Porucha funkce mikrocirkulace u pacientů s Cushingovým syndromem. In: Sborník abstrakt: 146. XXX. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Špindlerův Mlýn, ČR, 4.–6.10.2007.

Ďurovcová, V., Prázný, M., Ježková, J., Horová, E., Hána, V., Kvasnička, J., Pecen, L., Marek, J., Škrha, J., Kršek, M. Impaired microvascular reactivity and endothelial function in patients with Cushing's syndrome. In: Endocrine abstracts, Bristol, 2008, Vol. 16: P400. 10th European Congress of Endocrinology, Berlin, Germany, May 3–7, 2008.

Ďurovcová, V., Pazdrová, G., Kršek, M. Neurotoxicita mitotanu jako dominantní nežádoucí účinek při léčbě karcinomu kůry nadledviny, význam monitorovacího systému hladin mitotanu v krvi (kazuistika). In: Sborník abstract: 89. IV. Hradecký postgraduální kurz v endokrinologii, Hradec Králové, ČR, 15.–17.5.2008.

Ďurovcová, V., Marek, J., Hána, V., Kršek, M. Experiences with diagnosis and treatment of Cushing's syndrome. In: Streszczenia: 24. IV Kurs kształcenia ustawicznego z endokrynologii i chorób metabolicznych. Kazimierz Dolny, Polsko, 21.–23.05.2009. Vyzvaná přednáška.

Hána, V., Bandúrová, L., Brabec, P., Čáp, J., Ďurovcová, V., Hána, V. jr., Jarkovská, Z., Kentoš, P., Klimasová, K., Klimeš, D., Kršek, M., Lazúrová, I., Olšovská, V., Podoba, J., Pura, M., Šiprová, H., Šteňo, J., Štícha, M., Trejbalová, L., Vaňuga, P., Wagnerová, H., Weiss, V., Zeman, D., Dušek, L., Marek, J. Diagnostika a léčba pacientů s akromegalií v České a Slovenské republice — první analýza dat v registru RESET. In: Sborník abstrakt. XXXII. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Český Krumlov, ČR, 24.–26.9.2009.

Jarkovská, Z., Marek, J., Hána, V., Bandurová, L., Ďurovcová, V., Hána, V. jr., Kršek, M., Weiss, V., Jarkovský, J., Čáp, J., Klimasová, K., Strenková, J., Lazúrová, I., Olšovská, V., Podoba, J., Pura, M., Šiprová, H., Šteňo, J., Štícha, M., Trejbalová, L., Vaňuga, P., Kentoš, P., Wagnerová, H., Zeman, D., Krčma, M., Dvořáková, E. Prolaktinomy a jejich léčba ve studii RESET. In: DMEV 2011, 14 (suppl. 2): 19. XXXIV. Endokrinologické dny, Brno, ČR, 20.–22. 10. 2011.