

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Veronika Somova**

Autofagie v tukové tkáni  
Autophagy in adipose tissue

Bakalářská práce

Školitelka: doc. RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.

Praha, 2020

## **Poděkování**

Děkuji především své školitelce RNDr. Magdaléně Krulové, Ph.D. za čas, který mi věnovala, trpělivost, vstřícnost a cenné rady. Zároveň chci poděkovat všem z laboratoře za rady a poznámky, své rodině a kamarádům za podporu při psaní práce.

## **Prohlášení**

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

V Praze, 8.6.2020

Podpis:

## Abstrakt

Autofagie je esenciální recyklační mechanismus, představující dráhu vedoucí k utilizaci a reorganizaci intracelulárních komponent (živin, organel, aj). Nedávné studie prováděné na tukové tkáni navíc naznačují, že se autofagie spolupodílí na diferenciaci prekursorů tukových buněk a fenotypových přeměnách tkáně. Cílem této práce je shrnout vlastnosti autofagie v kontextu různých druhů tukové tkáně, a zároveň představit regulaci autofagie jako potenciálně využitelnou v terapiích zaměřených na léčbu obezity. Existují však rizika provázející regulaci autofagie, která budou v této práci rovněž zohledněná.

**Klíčová slova:** autofagie, tuková tkáň, terapie

## Abstract

Autophagy is an essential mechanism of recycling, which represents a path leading to utilization and reorganization of intracellular components (nutrients, organelles, etc). Recent studies on adipose tissue have shown, that autophagy plays crucial role in differentiation of the adipocytes precursors and in phenotypic tissue transformations. The aim of this thesis is to summarize the characteristics of autophagy in terms of various adipose tissues as well as to present the regulation of autophagy as a potentially useful in therapy focused on obesity treatment. However, with the regulation of autophagy, there are risks that will also be considered in the present thesis.

**Keywords:** autophagy, adipose tissue, therapy

# Obsah

## Seznam použitých zkratek

1.	Úvod.....	1
2.	Tuková tkáň.....	2
3.	Autofagie.....	3
3.1	Autofagie v bílé tukové tkáni .....	4
3.1.1	Diabetes mellitus druhého typu a inzulinová rezistence.....	5
3.2	Inhibice autofagie .....	7
4.	Mitofagie .....	9
4.1	Mitofagie v béžové tukové tkáni .....	10
4.1.1	Inhibice mitofagie v béžové tukové tkáni.....	12
4.2	Mitofagie v hnědé tukové tkáni .....	13
5.	Lipofagie .....	13
5.1	Lipofagie v tukové tkáni.....	15
5.1.1	Lipofagie v hnědé tukové tkáni .....	15
5.1.2	Lipofagie v bílé tukové tkáni.....	16
6.	Rizika a ambivalentnost regulace autofagie.....	17
6.1	Ateroskleróza.....	18
6.2	Kachexie .....	19
6.3	Steatóza jater.....	20
7.	Závěr.....	21
8.	Použité zdroje .....	22

## Seznam použitých zkratk

<b>atg</b>	autophagy-related genes, s autofagií asociované geny
<b>ATM</b>	adipose tissue macrophages, makrofágy tukové tkáně
<b>BAT</b>	brown adipose tissue, hnědá tuková tkáň
<b>BEAT</b>	beige adipose tissue, béžová tuková tkáň
<b>C/EBP<math>\beta</math></b>	CCAAT-enhancer-binding protein $\beta$ , CCAAT-zesilovač-vazebný protein $\beta$
<b>gWAT</b>	gonadal white adipose tissue, gonadální bílá tuková tkáň
<b>HFD</b>	high fat diet, strava s vysokým obsahem tuku
<b>LC3A/B</b>	microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3, protein asociovaný s mikrotubuly 1A/1B-lehký řetězec 3
<b>LD</b>	lipid droplets, tukové kapénky
<b>MEFs</b>	mouse embryonic fibroblasts, embryonální fibroblasty myši
<b>mTOR</b>	mammalian target of rapamycin, savčí cíl rapamycinu
<b>PGC-1<math>\alpha</math></b>	PPAR $\gamma$ coactivator 1 $\alpha$ , PPAR $\gamma$ koaktivátor 1 $\alpha$
<b>PINK1</b>	PTEN-induced putative kinase 1, PTEN-indukovaná putativní kináza 1
<b>PLIN1</b>	peripilin 1
<b>PPAR-<math>\gamma</math></b>	peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ , peroxizomální proliferačně-aktivační receptor $\gamma$
<b>sWAT</b>	subcutaneous white adipose tissue, podkožní bílá tuková tkáň
<b>T2D</b>	type 2 diabetes, diabetes druhého typu
<b>UCP1</b>	uncoupling protein 1, odpráhující protein 1
<b>vWAT</b>	visceral white adipose tissue, viscerální bílá tuková tkáň
<b>WAT</b>	white adipose tissue, bílá tuková tkáň
<b><math>\beta</math>3-AR</b>	$\beta$ 3 adrenergic receptor, $\beta$ 3 adrenergní receptor

## 1. Úvod

Autofagie je mechanismus, sloužící k udržování homeostázy buňky. Zajišťuje mimo jiné rozklad nefunkčních proteinů a poškozených organel v lysozomech, ochranu buňky za stresových podmínek (způsobených nedostatkem či přebytkem živin, oxidativním nebo genotoxickým stresem) a je rovněž důležitým imunologickým aparátem. V nedávných výzkumech byla pozorována nová funkce autofagie, a to její účast při diferenciačních procesech v tukové tkáni (Kovsan et al., 2011).

Autofagii v daném kontextu můžeme rozdělit do tří typů: autofagie, mitofagie a lipofagie. Všechny zmíněné procesy hrají důležitou roli při přeměnách způsobených navozenými, nebo přirozenými podmínkami v tukové tkáni. Hlavně při diferenciaci bílé tukové tkáně (white adipose tissue – WAT), hypertrofované u pacientů s obezitou (Kovsan et al., 2011). Dále při proměnách béžové tukové tkáně (beige adipose tissue – BEAT) po odeznění chladových stimulací (Altshuler-Keylin et al., 2016) a chladem navozené lipofagii v hnědé tukové tkáni (brown adipose tissue – BAT) a játrech (Martinez-Lopez et al., 2016). Regulací autofagie bylo docíleno nadějných výsledků obzvláště ve výzkumu metabolických poruch, jako je obezita a s ní spojený diabetes (<https://clinicaltrials.gov/>, online).

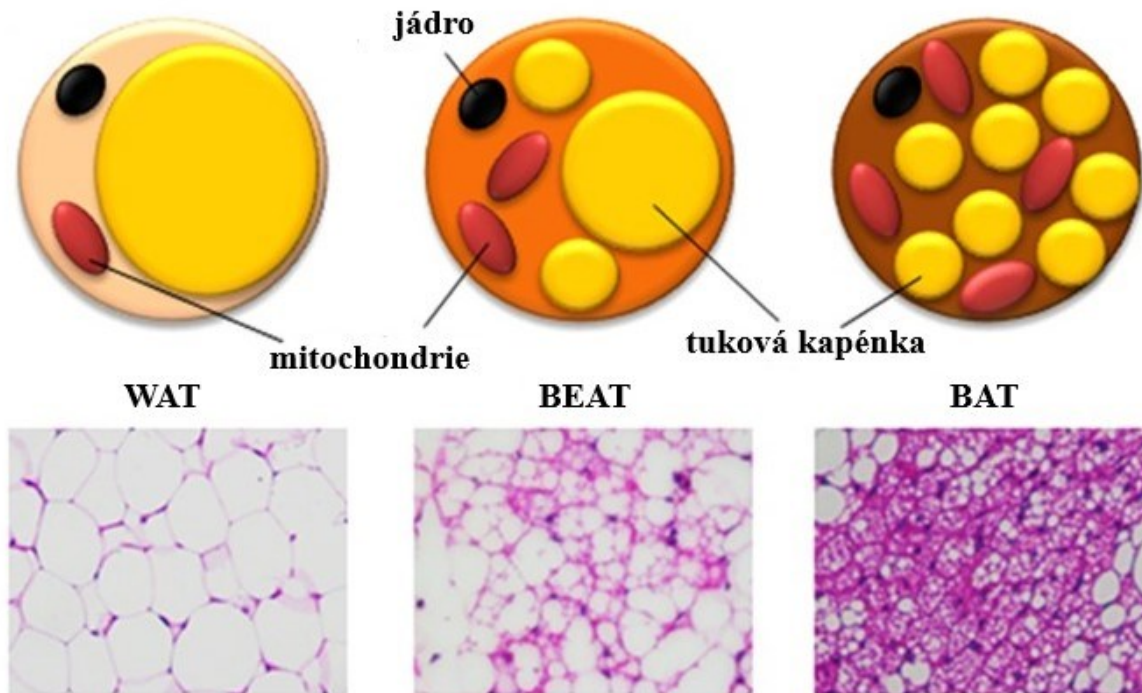
Cílem této práce je shrnout poznatky o všech třech typech autofagie v souvislosti s příslušným druhem tukové tkáně a o možnostech její regulace. Rovněž budou shrnuty nevýhody, potíže a rizika, která s sebou přináší. Novější studie ukazují, že regulace autofagie přizpůsobená metabolickému profilu pacienta může mít v budoucnosti úspěšné terapeutické využití (Ro et al., 2019).

## 2. Tuková tkáň

WAT se v těle vyskytuje na řadě míst. Podkožní sWAT (subcutaneous WAT) je ochranná vrstva proti mechanickému poškození a nebezpečí infekce. Zároveň je to vrstva izolační, sloužící k udržení tělesné teploty. Viscerální vWAT (visceral WAT) obklopuje vnitřní orgány v oblasti pobřišnice a hrudního koše (Kwok et al., 2016). WAT je obecně považována za metabolicky aktivní uložisko lipidů a v neposlední řadě za endokrinní orgán, který se podílí na udržení energetické homeostázy v těle prostřednictvím ukládání a uvolňování lipidů, ale i sekrecí proteinů, např. adipokinů (Friedman, 2009). V moderním výzkumu je WAT věnována pozornost především ve spojení s pandemií obezity jako jednoho z nejzávažnějších problémů doby (<https://www.who.int/>, online). Obezita a s ní spojené choroby jsou charakteristické abnormální akumulací tukové tkáně v těle (Bray et al., 2006).

BAT se vyskytuje převážně u novorozenců savců (včetně člověka), hibernujících živočichů a hlodavců. Je soustředěna do oblasti lopatek, krku a obklopuje většinu důležitých vnitřních orgánů. Je hnědá díky vysokému obsahu mitochondrií, konkrétně kvůli v nich obsaženému cytochromu, a ve srovnání s WAT vyšší vaskularizaci. Hlavní funkcí BAT je přeměna přijímané energie na teplo. To je zajištěno především činností proteinu UCP1 (uncoupling protein 1), který se nachází ve vnitřní mitochondriální membráně. UCP1, aktivovaný mimo jiné chladem, odpojuje protonový gradient, vytvářený elektron transportním řetězcem, což má za následek zvýšenou produkci tepla (Lowell et al., 2000). BAT je esenciální pro klasickou netřesovou, ale také pro aklimační termogenezi. Produkce tepla se spouští vždy, když to vyžadují okolní podmínky. Je to adaptivní mechanismus savců, který evolučně přispěl ke zvýšení pravděpodobnosti přežití mláďat a také ke schopnosti živočichů snášet chladové podmínky (Cannon et al., 2004).

Morfologickým i funkčním mezistupněm mezi WAT a BAT je BEAT (viz. obr. 1). Považuje se za bývalou bílou, která přejala znaky hnědé, včetně většího množství mitochondrií a tukových kapének (velikostně menších, než u WAT), exprese UCP1 a vaskularizace. Tento proces se označuje jako „hnědnutí“ tukové tkáně. Jedná se o adaptivní termogenezi převážně navozenou chladem (Harms et al., 2013).



**Obrázek 1 – Druhy tukové tkáně**

Morfologické rozdíly mezi bílou, běžovou a hnědou tukovou tkání předvedené na kreslených obrázcích a fotografiích vzorků obarvených hematoxylin-eosinem. Zkratky: WAT (white adipose tissue), BEAT (beige adipose tissue), BAT (brown adipose tissue). Převzato a upraveno: (Kwok et al., 2016)

Diferenciaci buněk tukové tkáně, stejně jako fenotypové přeměny jednoho druhu do jiného, provází autofagie.

### 3. Autofagie

Autofagie je známa jako proces, který řídí dráhu vedoucí k degradaci cytoplazmatických proteinů a proteinových agregátů (Kroemer et al., 2010) a je evolučně konzervovaným mechanismem recyklace živin a buněčných organel v útvarech nazývaných lysozomy (Kim et al., 2013). Autofagie je iniciována vznikem dvou-membránových váčků, tzv. autofagozomů, které pohlcují část cytoplazmy. Pohlcený náklad je následně dopraven do lysozomů za účelem jeho následné degradace (Mizushima et al., 2007).

Autofagie se obecně rozděluje do dvou velkých podskupin: mikro- a makroautofagie, která se dále dělí na hromadnou (bulk autophagy) a selektivní. Do selektivní autofagie spadají specifikované druhy autofagie, zaměřené na určitou organelu, či jinou intracelulární komponentu. Do této skupiny patří mimo jiné mitofagie, lipofagie, chlorofagie, ribofagie aj. V této práci se zaměřím především na autofagii obecně, mitofagii, která zajišťuje recyklaci



mitochondrií, a lipofagii, odpovědnou za obrat tukových kapének v buňkách (Galluzzi et al., 2017).

Vliv autofagie na diferenciaci buněk byl studován cíleným umlčením nebo delecí genů regulujících autofagii, obecně známých pod zkratkou *atg* (autophagy-related genes) (Meijer et al., 2007). Byla zjištěná její role v diferenciacích procesech mnoha buněčných typů, včetně buněk kmenových (Hu et al., 2019), ale také u buněčné linie 3T3-L1 (myší fibroblasty, které jsou schopny diferenciaci do tzv. adipose-like tukových buněk), obecně využívané linie pro výzkum tukové tkáně *in vitro* (Novikoff et al., 1980). Novější studie rovněž poukazují na roli autofagie během diferenciaci prekurzorů 3T3-L1, při níž dochází ke zvýšení množství autofagozomů obsahujících mitochondrie (Goldman et al., 2011).

Kromě buněčné linie 3T3-L1 byla popsána role autofagie i v diferenciaci WAT. Podílí se převážně na intracelulárních přestavbách v prekurzorech buněk a inhibicí autofagie došlo k výrazným fenotypovým změnám (Singh et al., 2009a).

### 3.1 Autofagie v bílé tukové tkáni

Vznik WAT a zralých tukových buněk z prekurzorů vyžaduje zásadní přeměnu buněčných struktur a tvorbu struktur nových, odpovídajících unikátní morfologie tkáně. Již zmíněná role autofagie při diferenciaci tukové tkáně byla dokázána po její inhibici v myším modelu, která vedla k celkovému snížení akumulace lipidů ve formě triglyceridů a snížení tělesné hmotnosti ve srovnání s kontrolní skupinou (Singh et al., 2009a). Také studie prováděné na vzorcích vWAT a sWAT obézních subjektů (lidí) ukazují zvýšenou expresi genů autofagie: *atg5* a *LC3A/B* (microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3). Zde bylo ukázáno, že se autofagie podílí na reorganizaci intracelulárních komponent a tvorbě velkých tukových kapének specifických pro WAT (Kovsan et al., 2011). Výše zmíněná inhibice autofagie u myší vedla naopak ke změně fenotypu tukové tkáně, k tzv. „hnědnutí“ (Singh et al., 2009a). BAT se vyznačuje zvýšeným obsahem mitochondrií ve srovnání s WAT. Autofagie, v tomto případě specificky mitofagie, reguluje recyklaci mitochondrií v prekurzorech tukových buněk a vznik velkých tukových kapének. Pokud je tento proces inhibován, nedochází k recyklaci mitochondrií a je upřednostněn vznik hnědého fenotypu (Goldman et al., 2011).

Ačkoli rozumíme molekulární podstatě průběhu autofagie v tukové tkáni, faktory regulující genovou expresi příslušných genů nejsou zatím dostatečně známy. Jedna ze studií popisuje vliv transkripčního faktoru C/EBP $\beta$  (CCAAT-enhancer-binding protein  $\beta$ ). Je to

faktor, který iniciuje diferenciaci prekursorů tukových buněk, a to aktivací exprese PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) a C/EBP $\alpha$ , dvou klíčových faktorů tohoto procesu (Tang et al., 1999). C/EBP $\beta$  rovněž iniciuje expresi genu *atg4b*, cysteinové proteázy, která štěpí prekursor LC3 (souhrnné shrnutí drah viz. obr. 7). Vliv C/EBP $\beta$  se potvrdil redukcí genové exprese pomocí příslušné siRNA, což vedlo k inhibici autofagie a poruše diferenciaci tukové tkáně (Guo et al., 2013). Vliv autofagie na diferenciaci byl dále sledován u myši se zablokovaným genem *Prnp* (prion protein). V tomto modelu nebyl exprimován inhibitor autofagie protein PrP < C > (cellular prion protein). Podle očekávání došlo u takto modifikovaných myši k významnému zvýšení exprese markeru autofagie LC3, a zároveň faktorů PPAR- $\gamma$  a C/EBP- $\alpha$ , a tudíž ke zvýšené tvorbě tukové tkáně. Rovněž docházelo ke hromadění lipidů a nárůstu velikosti tukových buněk, spíše, než ke zvětšování jejich počtů. Dané výsledky naznačují, že prionový protein je jedním z hlavních negativních regulátorů diferenciaci tukové tkáně, jelikož dochází jeho působením k expresi PrP < C >. Tento protein reguluje autofagii nejen její přímou inhibicí, ale zjevně potlačuje i expresi C/EBP $\beta$ , faktoru, který řídí expresi PPAR- $\gamma$  a C/EBP- $\alpha$ , ale také expresi genu autofagie *atg4b*. Z výše popsaných důsledků zablokování genu *Prnp* vyplývá zjevný vliv autofagie na diferenciací procesy v tukové tkáni (Jeong et al., 2019).

Časový interval, ve kterém se geny *atg* nejvíce podílí na průběhu diferenciaci, byl zkoumán systematickou analýzou jejich genové exprese. V proliferační fázi (den 0) byla exprese *atg* linií 3T3-L1 buněk nejnižší a nejvyšší hladiny dosáhla v diferenciací fázi (den 6 po nasazení) (Ahmed et al., 2018).

Zkoumání přesného načasování a molekulárního mechanismu autofagie v tukové tkáni je důležité hlavně z důvodu potenciálního terapeutického využití v léčbě obezity a s ní spojených poruch, mezi které patří metabolický syndrom a inzulinová rezistence.

### 3.1.1 Diabetes mellitus druhého typu a inzulinová rezistence

Diabetes druhého typu (type 2 diabetes, T2D) je chronická metabolická porucha. Vzniká interakcí genetických, environmentálních a behaviorálních rizikových faktorů (Chen et al., 2012). Lidé s T2D se potýkají s mnoha dlouho- i krátkodobými zdravotními komplikacemi, mezi které patří obezita. Je to nemoc charakteristická inzulinovou rezistencí a hyperglykemií, při níž dochází ke zvýšenému transportu glukózy do jater, svalů a tukové tkáně (Fujioka et al., 2007).

Inzulín je aktivátorem dráhy mTOR (mammalian target of rapamycin) a fyziologickým inhibítozem autofágie (souhrnné shrnutí drah viz. obr. 7). U pacientů s T2D byl sledován nárůst autofágie, způsobený pravděpodobně inzulínovou rezistencí, a s tím spojenou destrukcí mitochondrií a nahromadění cytoplazmatických tukových kapének (Öst et al., 2010). Autofágie v sWAT obézních subjektů koreluje se zvýšenou produkcí markeru autofágie LC3, inzulínovou rezistencí a se systémovými zánětlivými reakcemi v tukové tkáni. Také potlačuje produkci prozánětlivých cytokinů IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , a IL-18, a inhibice autofágie vedla k očekávanému nekontrolovanému nárůstu exprese a sekrece těchto cytokinů (Jansen et al., 2012). Obezitu běžně provází produkce prozánětlivých cytokinů makrofágy ve vWAT a také nedostatek proteinu PLIN1 (perilipin 1), odpovědného za skladování lipidů a lipolýzu. Ukázalo se, že zvýšená produkce prozánětlivých cytokinů aktivuje autofagii, což má za následek ubikvitinaci a degradaci PLIN1. Toto zjištění naznačuje, že autofágie hraje důležitou roli v prozánětlivé mobilizaci lipidů, řízené cytokiny za stavu obezity (Ju et al., 2019). Rovněž z výše popsaného vyplývá, že autofágie aktivovaná prozánětlivými cytokiny zpětně potlačuje její tvorbu.

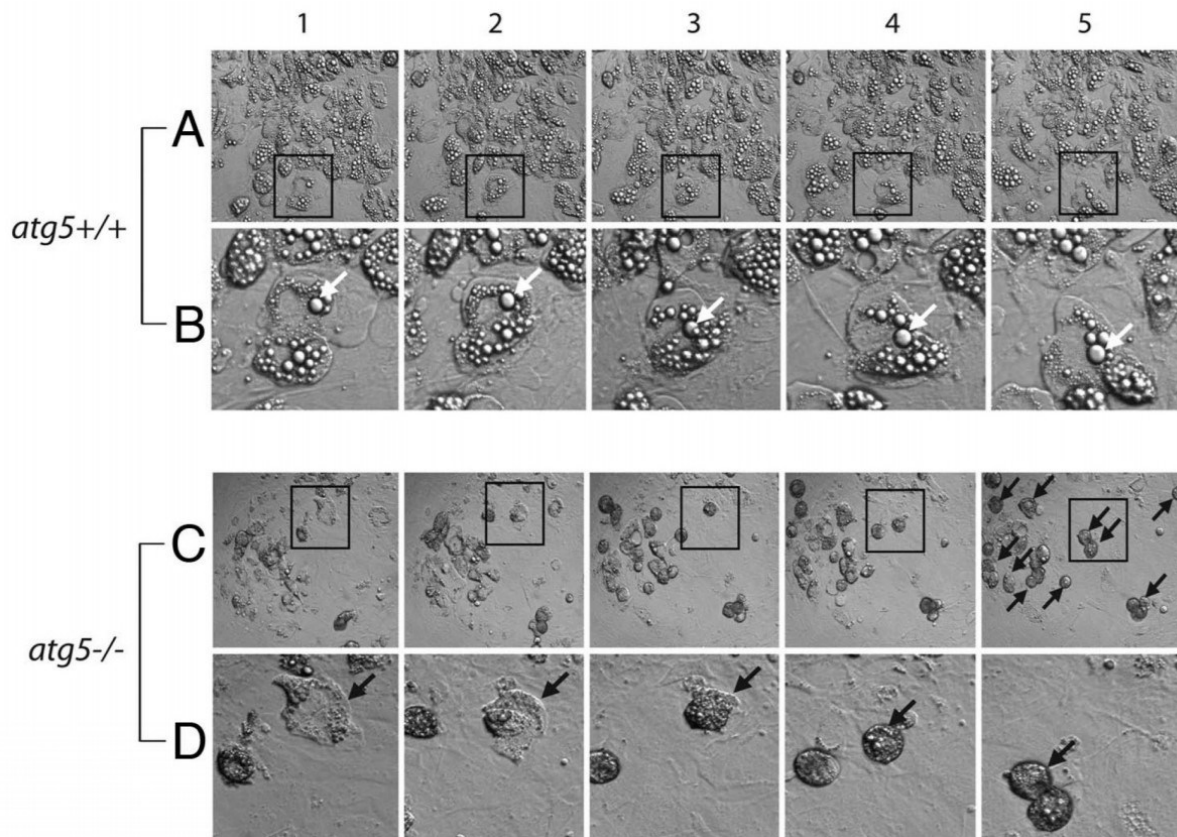
Ve vWAT se zvýšená exprese genů autofágie vyskytla ještě před tím, než se rozvinula inzulínová rezistence. Spolupůsobení těchto dvou jevů může znamenat, že inzulínová rezistence a zvýšená exprese genů autofágie korelují, ale vyvíjí se a působí nezávisle na sobě a ještě předtím, než se projeví T2D (Kovsan et al., 2011).

V savčích buňkách je iniciace autofágie závislá mimo jiné na komplexu proteinů sestávajícího z ULK1 (Unc-51 like autophagy activating kinase 1; atg1 homolog), atg13 a FIP2000. Tento komplex je aktivován supresí dráhy mTOR v důsledku inzulínové rezistence, nebo příslušnými inhibitory (Mokas et al., 2009). Nárůst autofágie byl zkoumán i v případech, které se ukázaly jako nezávislé na dráze mTOR, konkrétně v MEFs (mouse embryonic fibroblasts) kultivovaných s kyselinou palmitovou. Tyto buňky vykazovaly zvýšenou expresi faktoru LC3 ve srovnání s kontrolní skupinou. Ve výsledku se tak autofágie ukazuje i jako mechanismus obrany proti lipotoxicitě vyvolané kyselinou palmitovou, ale pouze v netukových buňkách s omezeným množstvím tukových kapének (Tan et al., 2012).

Jelikož nárůst autofágie obecně provází stav obezity a do jisté míry i koreluje s T2D, její regulace a omezení se stály středem zájmu ve výzkumech zaměřených na terapii výše zmíněných chorob.

## 3.2 Inhibice autofagie

Inhibice autofagie se jeví jako potenciálně účinný způsob prevence a léčby obezity a přitahuje čím dál více pozorností. Ve většině případů je zacílena na geny autofagie, v prvních publikacích se využíval myší model s deletovaným genem *atg5*, nebo *atg7*. Baerga et al. (2009) sledovali diferenciaci *atg5*<sup>-/-</sup> MEFs na tukové buňky (viz. obr. 2).



**Obrázek 2 – Mikroskopická analýza tukové tkáně v *atg5*<sup>+/+</sup> a *atg5*<sup>-/-</sup> MEFs**

U primárních MEFs byla indukována diferenciaci. Tři dny po indukci byla provedena mikroskopická analýza – sledován byl průběh diferenciaci v závislosti na expresi genu *atg5*. (1–5) jsou fotografie pořízené z dvoudenního záznamu, ukazují kontinuální morfologické přeměny, ke kterým dochází během diferenciaci. Čtvercové plochy na obrázcích (A a C) jsou pod příslušným originálem předvedené v detailu (B a D). Bílé šipky v (B) ukazují na rostoucí tukovou kapénku; černé šipky v (C) a (D) směřují k buňkám, u kterých byla diferenciaci neúspěšná. Zkratky: MEFs (mouse embryonic fibroblasts), *atg* (autophagy-related genes). Převzato a upraveno: (Baerga et al., 2009)

Ačkoli na začátku proces probíhal normálně, pozdější morfologické proměny selhaly a u většiny buněk došlo k buněčné smrti. Po aplikaci inhibitoru autofagie chlorochinu na kontrolní wild-type MEFs rovněž došlo k potlačení diferenciaci na tukové buňky (Baerga et al., 2009).

V myším modelu delece genů autofagie *in vivo* vedla k redukci velikosti a/nebo počtu tukových buněk a velikosti tukových kapének ve WAT. Zároveň u myší s deletovaným

genem *atg7* došlo k nárůstu počtu mitochondrií a mitochondriálních enzymů, výraznější  $\beta$ -oxidaci a zvýšení počtu molekulárních markerů BAT, jako jsou UCP-1 a PGC-1 $\alpha$  (PPAR $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$ ) (Singh et al., 2009a). Takto modifikované myši byly výrazně štíhlejší a pohyblivější. Celkový podíl cholesterolu a zároveň leptinu a triglyceridů v plazmě modifikovaných myši byl nižší. Myši se zablokovaným genem *atg7* se jeví rezistentní k obezitě způsobené HFD (high fat diet) (Zhang et al., 2009). Podobných výsledků dosáhli ve své studii Ghosh et al. (2018). Sledovali změny v gWAT (gonadal WAT) u myši s mutací v genu pro Pik3c3 (Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type 3) (souhrnné shrnutí drah viz. obr. 7), kinázy, která reguluje autofagii. Vyšší tolerance glukózy a redukovaná tvorba tukové tkáně byla značná u myši středního věku a přetrvala i u starších zvířat. Rovněž došlo ke zvýšení exprese markerů UCP1 a PGC-1 $\alpha$ , což svědčilo o přednostním vzniku BAT (Ghosh et al., 2018).

Inhibice genů kontrolujících autofagii je možné docílit i jinak, než delecí genů *atg*, a to třeba farmakologicky, např. aplikací TDG (thiodigalactoside). Aplikace této látky měla za následek cílenou inhibici *GALI* (galectin-1) (souhrnné shrnutí drah viz. obr. 7) a redukcii tvorby tukové tkáně (Mukherjee et al., 2015). Pozdější studie ukázala vliv inhibice *GALI* a *atg5* na metabolismus lipidů ve WAT myši krmených HFD spolu s TDG. Došlo ke snížení exprese proteinu LC3 a nárůstu exprese p62, který je faktorem potlačujícím autofagii. Kombinovaná inhibice *GALI* a *atg5*, navozená podáním TDG, zredukovala tvorbu tukové tkáně stimulovanou HFD, a zároveň tvorbu lipidů. Jako důkaz autoři uvádí souběžné umlčení genů pro expresi PPAR- $\gamma$ , C/EBP- $\alpha$  a syntázy mastných kyselin (FAS), rovněž způsobené TDG (Parray et al., 2017).

Autofagie se ukázala jako dobře regulovatelný proces, který se z velké míry podílí na diferenciaci buněk tukové tkáně. Ačkoli faktory exprese příslušných genů dosud nejsou úplně známy, předpokládá se vliv transkripčního faktoru C/EBP $\beta$ . Zajímavým zjištěním byla rovněž zvýšená exprese markerů hnědnutí a přednostní vznik BAT, stimulovaný delecí genů *atg*. Je zřejmé, že zde hraje roli především reorganizace organel, v daném případě mitochondrií, v prekurzorech buněk. Buňka může pomocí autofagie specificky eliminovat a snižovat množství mitochondrií. Tento děj se nazývá „mitofagie“ a je významným procesem při přeměnách tukové tkáně. Její působení ovlivnilo fenotypové změny mimo jiné v důsledku chladových stimulací a, jak už se zmiňovalo, přednostní vznik BAT v tom případě, kdy byla mitofagie inhibována. Na druhou stranu přímo v BAT se mitofagie ukázala jako výhodná a

její inhibice by mohla negativně ovlivnit správné fungování buněk z hlediska kvality mitochondrií.

## 4. Mitofagie

Množství mitochondrií v buňce je udržováno rovnováhou mezi recyklací a dělením. Hlavními transkripčními faktory, důležitými při zvyšování množství mitochondrií v buňce, jsou Pgc1a (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1a), Nrf1/2 (nuclear respiratory factors 1 and 2) a Tfam (mitochondrial transcription factor A) (Altshuler-Keylin et al., 2016). PINK-Parkin je klíčová signální dráha regulující degradaci mitochondrií. Po tom, co dojde k depolarizaci, neboli ztrátě membránového potenciálu, se kináza PINK1 (PTEN-induced putative kinase 1) akumuluje ve vnější mitochondriální membráně. Po dimerizaci a autofosforylaci rekrutuje a aktivuje Parkin, E3 ubikvitin ligázu, která ubikvitinuje proteiny ve vnější mitochondriální membráně a tím spouští degradaci nefunkčních mitochondrií (Vincow et al., 2013). Daný proces je zajišťován mitofagií (Klionsky et al., 2016), což bylo potvrzeno mimo jiné analýzou BEAT elektronovou mikroskopií. Na snímcích Altshuler-Keylin et al. (2016) identifikovali autofagické vakuoly obsahující zbytky mitochondriálních struktur – krist. Toto zjištění naznačuje, že se mitofagie s největší pravděpodobností účastní diferenciaci a fenotypových přeměn tukové tkáně (Altshuler-Keylin et al., 2016), což bude podrobněji popsáno v následující kapitole.

p62 byl dříve popsán jako represor autofagie a jeho souhra s mitofagií během diferenciaci byla zkoumána na buňkách hADSC (human adipose-derived stromal cells), v kterých byla indukována diferenciaci tukových buněk pomocí kyseliny olejové. Takto připravené buňky měly napodobovat prostředí nejvíce odpovídající lidské fyziologii. Po inhibici p62 došlo ke zvýšení exprese specifického markeru mitofagie mito-LC3II/I a hyperaktivaci raného stadia diferenciaci, což může znamenat, že inhibice p62 v hADSC indukovaných kyselinou olejovou ovlivňuje tvorbu tukových buněk regulací mitofagie (Zeng et al., 2018).

Rovněž je prokázán vliv mitofagie na diferenciaci prekurzorů tukových buněk 3T3-L1 prostřednictvím proteinu FAM134B (Family with Sequence Similarity 134, Member B), jehož funkcí je mimo jiné přestavba membrán endoplazmatického retikula, zprostředkovaná autofagií, a homeostáza lipidů. Zvýšený výskyt autofagie v buňkách a redukováné množství mitochondrií potvrdilo roli FAM134B u myši s hyperaktivovanou expresí daného proteinu,

byly rovněž obézní a měly mnohem víc bílé tukové tkáně, než myši z kontrolní skupiny (Cai et al., 2019).

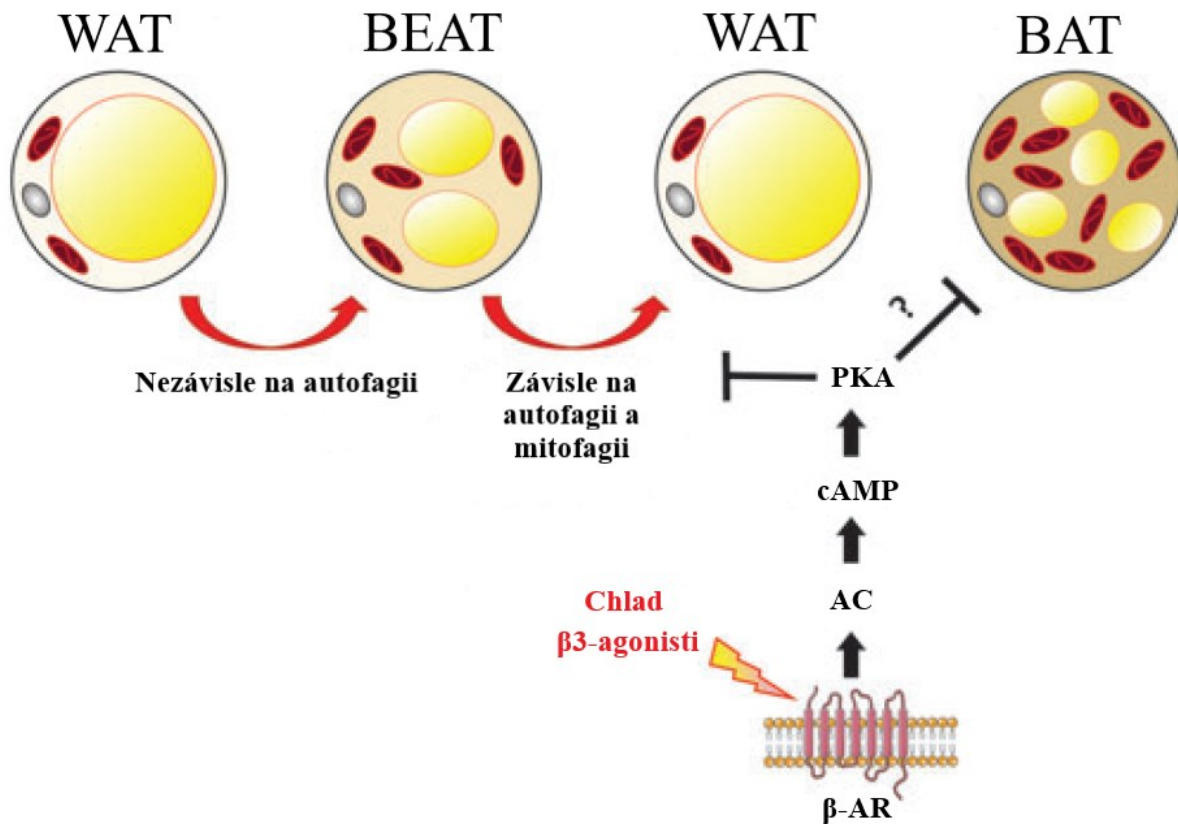
Největší pozornost ale nadále přitahuje, kromě autofagie v diferenciacích procesech WAT, i téma mitofagie v BEAT. Způsoby navození a udržení daného, zjevně výhodného, fenotypu, jsou středem zájmu moderního výzkumu obezity.

#### 4.1 Mitofagie v béžové tukové tkáni

Běžová tuková tkáň má podobně jako hnědá termogenetickou funkci, zajištěnou polypeptidem UCP1. BEAT podle jedné ze studií vzniká postnatálně z progenitorových populací buněk WAT, specificky exprimujících Ebf2 (Early B Cell Factor-2) (Wang et al., 2014), a rovněž z již existujících zralých buněk WAT, a to fenotypovou přeměnou vyvolanou vnějšími stimuly, především chladem, nebo podáním agonistů  $\beta$ 3-AR (beta-3 adrenergic receptor), které stimulují signální dráhu aktivující termogenezi v BAT a zvyšují expresi UCP1 (Barbatelli et al., 2010). BEAT za běžných okolností (bez stimulace) exprimuje mnohem méně UCP1, než hnědá tuková tkáň, ačkoli zvýšená produkce cAMP zvedla expresi UCP1 na úroveň srovnatelnou s BAT. To znamená, že BEAT je schopna fenotypové přeměny z energetického uložště do producenta tepla a obráceně v závislosti na podmínkách. Tuto schopnost jiné druhy tukové tkáně postrádají (Wu et al., 2012).

Jelikož je BEAT ovlivnitelná vnějšími faktory, stala se novým středem zájmu, jako potenciální terapeutický cíl pro léčbu obezity. Hlavním limitem je autofagie, jejíž úroveň je v BEAT nízká až do chvíle, kdy dojde k odeznění stimulů chladových, či podáním agonistů  $\beta$ 3-AR. Pravděpodobně je to způsobeno tím, že aktivace dráhy PKA (protein kinase A, mimo jiné negativní regulátor autofagie) navozená stimulací  $\beta$ 3-AR inhibuje autofagii (souhrnné shrnutí drah viz. obr. 7). Po ukončení této stimulace dochází k reaktivaci autofagie a následnému bělení BEAT. Již zmíněné zvýšení produkce cAMP mělo za následek sníženou expresi Mítf, transkripčního faktoru odpovědného za biogenezi autofagozomů a lysozomů, a LC3. Podáním inhibitorů PKA došlo ke zmírnění těchto represí, čímž se potvrdila role této dráhy v regulaci autofagie (Altshuler-Keylin et al., 2016). V pozdější studii se ukázala role mitochondriálního membránového regulátoru apoptózy Bcl2l13 (Bcl-2-like protein 13), při hnědnutí v důsledku chladové stimulace nebo aktivace příslušných receptorů (Ju et al., 2018). Na myším modelu se ukázalo, že receptor Bcl2l13 reguloval mitofagii a apoptózu v mitochondriích během diferenciací tukových buněk. Ačkoli přesný mechanismus jeho vlivu zatím není dostatečně známý, byl potvrzen represivní účinek Bcl2l13 na mitochondriální

autofagii (Fujiwara et al., 2019) za současného nárůstu oxidativní fosforylace, která běžně provází proces diferenciaci tukových buněk (Zhang et al., 2013).



**Obrázek 3 – Represe autofagie/mitofagie je nezbytná k udržení béžového fenotypu tukové tkáně**

Při stimulacích  $\beta$ -AR se WAT přeměňuje na BEAT nezávisle na autofagii. Po odeznění stimulací dochází za spolupůsobení autofagie/mitofagie k degradaci mitochondrií a zpětné přeměně BEAT na WAT. AC/cAMP/PKA inhibuje autofagii k udržení béžového fenotypu. Některé studie předpokládají, že v BAT dráha cAMP/PKA rovněž inhibuje autofagii při stimulacích  $\beta$ -AR. ? reprezentuje inhibici, která dosud nebyla potvrzená. Zkratky:  $\beta$ -AR (beta adrenergic receptor), WAT (white adipose tissue), BEAT (beige adipose tissue), AC (adenylyl cyclase), cAMP (cyclic adenosine monophosphate), PKA (protein kinase A). Převzato a upraveno: (Ferhat et al., 2019)

Paradoxem BEAT je schopnost udržení funkčnosti mitochondrií i přes snížení membránového potenciálu, což za běžných okolností vede k jejich degradaci. Mitofagie zprostředkovaná cytoplazmatickým proteinem Parkin je nejlépe popsána dráha eliminace nefunkčních mitochondrií ubiquitinací proteinů v jejich vnější membráně. Pokusy provedené na myších s deletovaným genem pro Parkin ukázaly, že snížení aktivity jím způsobené mitofagie může být jedním ze základních mechanismů fenotypové přeměny WAT do BEAT, ale pouze v případě gWAT. V sWAT nebyly zaznamenány žádné rozdíly ve stupni hnědnutí ve srovnání s kontrolní wild-type skupinou (Taylor et al., 2017). Delece genu pro Parkin v sWAT, na rozdíl od gWAT, se ukázala spíše, než stimulant hnědnutí, jako podpora již



získaného fenotypu. Po 15 dnech od odeznění stimulů navozujících hnědnutí tkáně, béžové tukové buňky vymizely z wild-type myši, ale byly stále přítomny u myši postrádajících Parkin (Lu, 2019). Dané výsledky naznačují, že k udržení BEAT je potřeba inhibovat, nebo jinak omezit mitofagii a zabránit tak zpětnému bělení tukové tkáně (viz. obr. 3), ke kterému dochází po odeznění chladových či receptorových stimulací.

#### 4.1.1 Inhibice mitofagie v béžové tukové tkáni

Vzhledem k pochopení významu fungování mitofagie v BEAT byly provedeny studie, zabývající inhibicí daného procesu v tukové tkáni. Jejich cílem bylo především omezit přechod mezi béžovým a bílým fenotypem po odeznění příslušných stimulů. Dle očekávání inhibice mitofagie omezila degradaci mitochondrií a tím následovanou tvorbu WAT, čímž byl upřednostněn béžový/hnědý fenotyp (Altshuler-Keylin et al., 2017).

Deleci genu pro Parkin, konkrétně *Park2*, nedošlo ke změnám v expresi *UCP1*, které typicky provází zpětnou přeměnu BEAT do WAT (Lu et al., 2018a). Stejně tak u dvou skupin myši, s deletovaným genem *atg5*, respektive *atg12*, byly po 15 dnech od odeznění stimulace pomocí  $\beta$ 3-AR agonistů pozorovány značné rozdíly především v expresi proteinů specifických pro BEAT. Na rozdíl od kontrolní skupiny, ve WAT získané z oblasti třísel myši *atg5<sup>-/-</sup>* či *atg12<sup>-/-</sup>* přetrvala zvýšená exprese *UCP1* a mitochondriálních komplexů dýchacího řetězce (Altshuler-Keylin et al., 2016). Potlačení exprese *atg12* bylo docíleno i farmakologicky, a to podáním malinového ketonu, který mimo jiné zvýšil biosyntézu mitochondrií a expresi p62, již zmíněného represoru mitofagie, v tukových buňkách (Leu et al., 2018). Kromě malinového ketonu se jako inhibitor mitofagie ukázal také Liensinine, isochinolinový alkaloid s již prokázanou schopností navodit hnědnutí tukové tkáně. Liensinine v závislosti na dávce zabránil maturaci lysozomálních proteáz potřebných pro degradaci mitochondrií (katepsinu B, C, L), čímž došlo k inhibici mitofagie v buňkách a přetrvání béžového fenotypu *in vitro* a *in vivo* (Rodríguez-Hernández et al., 2009; Xie et al., 2019).

Problém s tvorbou a udržením fenotypu BEAT byl sledován i u WAT ze starších jedinců, přisuzuje se to senescenci prekursorů tukových buněk. Tumor supresorový faktor p53 se účastní stárnutí WAT a pozitivně reguluje autofagii prostřednictvím represe dráhy mTOR. Ve své studii Fu et al. (2019) popisují korelaci mezi mírou hnědnutí WAT a chladem navozenou represí p53. Farmakologickou inhibicí p53 u modelu stárnoucí tukové tkáně docílili obnovení schopnosti fenotypové přeměny WAT. Rovněž došlo ke zlepšení tolerance

glukózy a inzulínové senzitivity a bylo detekováno větší množství mitochondrií ve srovnání s kontrolní skupinou. Autoři předpokládají, že toto zjištění může mít terapeutické využití v léčbě věkem podmíněné obezity a inzulínové rezistence u T2D (Fu et al., 2019).

Ačkoli inhibice mitofagie se jeví výhodná v BEAT, nemůže být zaměřena na tukovou tkáň obecně a celoplošně kvůli existující výjimce, a tou je BAT.

## 4.2 Mitofagie v hnědé tukové tkáni

Na rozdíl od BEAT, mitofagie v BAT se jeví jako výhodná, neboli udržuje homeostázu mitochondrií v buňkách a tím kvalitu termogeneze při odolávání chladu. Buňky BAT stimulované chladem a  $\beta$ -AR agonisty vykazovaly zvýšenou expresi genu *UCP1* a s tím spojený častější výskyt mitofagie (Lu et al., 2018b). Yau et al. (2019) zkoumali vliv  $T_3$  (tyroidního hormonu trijodtyroninu) na obrat mitochondrií v tukové tkáni. Došli k výsledku, že  $T_3$  stejně jako jeho analogy a ostatní látky stimulující autofagii v BAT mají pozitivní vliv na oxidaci mastných kyselin, mitochondriální respiraci a termogenezi a mohou být využity pro léčbu obezity (Yau et al., 2019). Z hlediska terapeutického využití se inhibice mitofagie v BAT jeví jako nejednoznačná. Provedené pokusy s cílenou inhibicí mitofagie v myším modelu ukázala, že větší podíl mitochondrií v buňkách hnědé tukové tkáně byl způsoben spíše, než vznikem nových mitochondrií, retencí starých a nemožností jejich recyklace. Celkové množství mitochondrií ale bylo srovnatelné, což může znamenat, že u mladých a zdravých myší neovlivní přítomnost či nepřítomnost mitofagie jejich kvalitu. Inhibice v BAT může být výhodná u starších a obézních myší, u kterých je mitofagie hyperaktivována a tím dochází k ubývání podílu BAT v těle a s tím spojené obezitě a poruchám termogeneze (Kim et al., 2019). Tento fakt byl prokázán ve studii, ve které byly myši s deletovaným genem *Parkin* specificky v BAT, krmeny HFD. Na rozdíl od kontrolní skupiny byly tyto myši více odolné obezitě navozené HFD a byl u nich detekován větší podíl BAT. Transkripční regulace proteinu *Parkin* jako odpověď na termogenetickou aktivaci se tedy jeví jako možný mechanismus udržení mitochondriální homeostázy v BAT a může být relevantní pro pochopení toho, proč dochází k redukci a inaktivaci daného typu tukové tkáně za patofyziologických stavů jako je obezita a stárnutí (Cairó et al., 2019).

## 5. Lipofagie

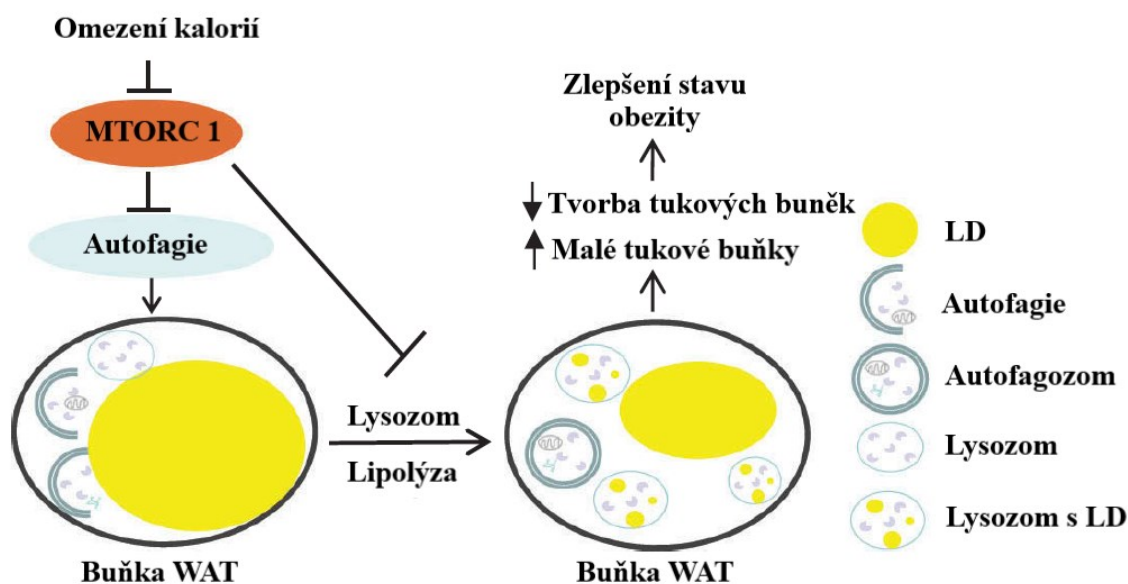
Selektivní degradace v lysozomech se vztahuje i na buněčná uložiska lipidů v procesu nazývaném lipofagie. Ta byla objevena díky porovnání mechanismů regulace s lipolýzou,

kteřá se klasicky vyznačuje hydrolyzou lipidů cytoplazmatickými neutrálními lipázami. V podmínkách nedostatku zdrojů energie, jsou lipidy uložené v tukových kapénkách ve formě triglyceridů hydrolyzovány na mastné kyseliny, což umožňuje jejich využití jako zdroje energie. Je to primární buněčná odpověď na hladovění, přičemž za sekundární můžeme považovat nespécifickou autofagii v buňce. Kombinovanou inhibicí neutrálních lipáz a autofagie bylo docíleno nárůstu množství vnitrobuněčných lipidů. Tím se prokázala souhra cytoplazmatické a lysozomální dráhy v regulaci lipidové homeostázy (Cingolani et al., 2016; Singh et al., 2009b). Cytoplazmatické tukové kapénky (lipid droplets = LD) jsou fyziologickým uložištěm lipidů v buňce. Obsahují neutrální lipidové jádro, sestávající z triglyceridů a esterů cholesterolu, ohraničené vrstvou fosfolipidů a specifických plášťových proteinů LD – perilipinů (PLINs) (Kimmel et al., 2010). Během lipolýzy s využitím neutrálních lipáz, konkrétně tukové triglycerid lipázy, v tukové tkáni dochází k aktivaci PKA, fosforylaci a proteazomální degradaci PLIN1 (Souza et al., 2002). Mechanismus, kterým jsou tukové kapénky navigovány přímo k lipofagii zatím není dostatečně známý. AUP1 (ancient ubiquitous protein 1) se ukázal jako protein schopný lokalizovat LD a zároveň interagovat s Ube2g2 (Ubiquitin-conjugating enzyme E2 G2) (Spandl et al., 2011). Avšak to, zdali tento komplex opravdu označuje a vede LD k degradaci, nebylo zatím zkoumáno.

Autofagie lipidů byla prokázána u řady buněčných typů, včetně tukové tkáně. Mohlo by se jednat o proces, regulující maturaci tukových buněk a obrát LD prostřednictvím signální dráhy mTORC1, která inhibuje lipofagii a potlačuje lipolýzu. Umlčením mTORC1 došlo ke zvýšenému výskytu lipolýzy a s ní asociované autofagie, ale zároveň ke ztrátě tukové masy a snížení schopnosti termogeneze v BAT *in vivo* (viz. obr. 4) (Zhang et al., 2019). Tyto výsledky by mohly svědčit o tom, že autofagii, a konkrétně lipofagii, v tukové tkáni je potřeba striktně regulovat, aby docházelo ke správnému průběhu diferenciaci buněk, a její role není dosud jednoznačně jasná.

U makrofágů infiltrujících tukovou tkáň (adipose tissue macrophages – ATM) bylo zjištěno, že tukové kapénky a lysozomy jsou často lokalizovány spolu, což může svědčit o roli lysozomů v lipidovém metabolismu. K prokázání tohoto tvrzení byl využit chlorochin a bafilomycin A1, který brání okyselování lysozomů. Dle očekávání, působením obou inhibitorů bylo docíleno akumulace tukových kapének v ATM. To, zdali inhibice lipolýzy chlorochinem je obecně závislá na působení ATM, se potvrdilo po odebrání vzorků tukové tkáně ze zdravých a obézních myší. Na hubené myši s malým počtem ATM v tukové tkáni neměl chlorochin žádný vliv, kdyžto u obézních vedl k redukci lipolýzy až o ~20%. ATM se

ukázaly mimo jiné jako buňky asociované s katabolismem lipidů v tukové tkáni, a jejichž počet za stavu obezity významně narůstá (Xu et al., 2013).



**Obrázek 4 – Model shrnující dráhu lipolýzy zprostředkované autofagií**

Štěpení LD zprostředkované autofagií vede k narušení maturace a tvorby tukových buněk. Zkratky: LD (lipid droplet). Převzato a upraveno: (Zhang et al., 2019)

Výsledky těchto studií tak ukazují, že, stejně jako autofagie a mitofagie, hraje lipofagie v tukové tkáni poměrně důležitou roli, avšak její inhibice se nejeví tak výhodná jako u předchozích případů. Důvody, proč tomu tak je, budou rozebrány v následujících kapitolách na příkladech hnědé a bílé tukové tkáně.

## 5.1 Lipofagie v tukové tkáni

### 5.1.1 Lipofagie v hnědé tukové tkáni

Chlad je nejen fyziologickým aktivátorem lipolýzy, ale působí i jako aktivátor autofagie v hypothalamu, což mělo za následek paralelní aktivaci lipofagie a recyklaci LD v BAT a játrech. Souhru těchto dvou procesů studovali Martinez-Lopez et al. (2016) na POMC (proopiomelanocortin) neuronech, které řídí příjem potravy v závislosti na hladině leptinu (Quan et al., 2012). Myši po chladových stimulacích měly zvýšenou expresi genu *atg7* a *LC3* v hypothalamu. Specifická delece genů *atg* v POMC následně vedla k poruchám využití lipidů a obratu LD v BAT. Na druhou stranu cílená stimulace autofagie aplikací rapamycinu do hypothalamu zvýšila expresi *atg* a *LC3* v BAT i u myši, které nebyly chovány v chladových podmínkách (Martinez-Lopez et al., 2016). Denervace BAT, která znemožnila

sympatickou synapsi, rovněž potlačila autofagii a utilizaci lipidů, což znamená, že se jedná o přímé neurální propojení autofagie v centrální nervové soustavě a autofagie v periferní tukové tkáni, které reguluje homeostázu lipidů (Martinez-Lopez et al., 2016).

Dráha N-acetylaspartátu (NAA) se rovněž ukázala jako regulační, co se týče mobilizace a oxidace lipidů v BAT. NAA je produkován z acetyl-CoA a aspartátu a jeho intracelulární koncentrace významně narůstá během tvorby buněk BAT. Kompenzačními mechanismy k udržení homeostázy během syntézy NAA je mimo jiné lipolýza asociována s lipofagii, což se ukázalo na rostoucím množství lysozomů a zvýšené expresi LC3 (Huber et al., 2019).

### 5.1.2 Lipofagie v bílé tukové tkáni

Velkou pozornost vyvolává lipofagie v bílé tukové tkáni, protože se jedná o nejrozšířenější zdroj lipidů, akumulovaných v těle ve formě triglyceridů. FoxO1 (forkhead homeobox type O1) je transkripční faktor, podílející se mimo jiné na metabolismu lipidů, regulaci velikosti tukových buněk a expresi tukové triglycerid lipázy (enzymu, který štěpí triglyceridy v LD) (Chakrabarti et al., 2009). Jeho vliv a potenciální využití v terapii byly zkoumány indukci lipofagie antidiabetickým lékem Metf (metformin), u kterého byla snaha prokázat lipolytickou schopnost v tukové tkáni. Zajímavé bylo to, že Metf dokázal navodit a napodobit metabolický stres způsobený hladověním, čímž následně indukoval FoxO1 a jím regulované cytoplazmatické i lysozomální štěpení lipidů v buňce (Lettieri Barbato et al., 2013).

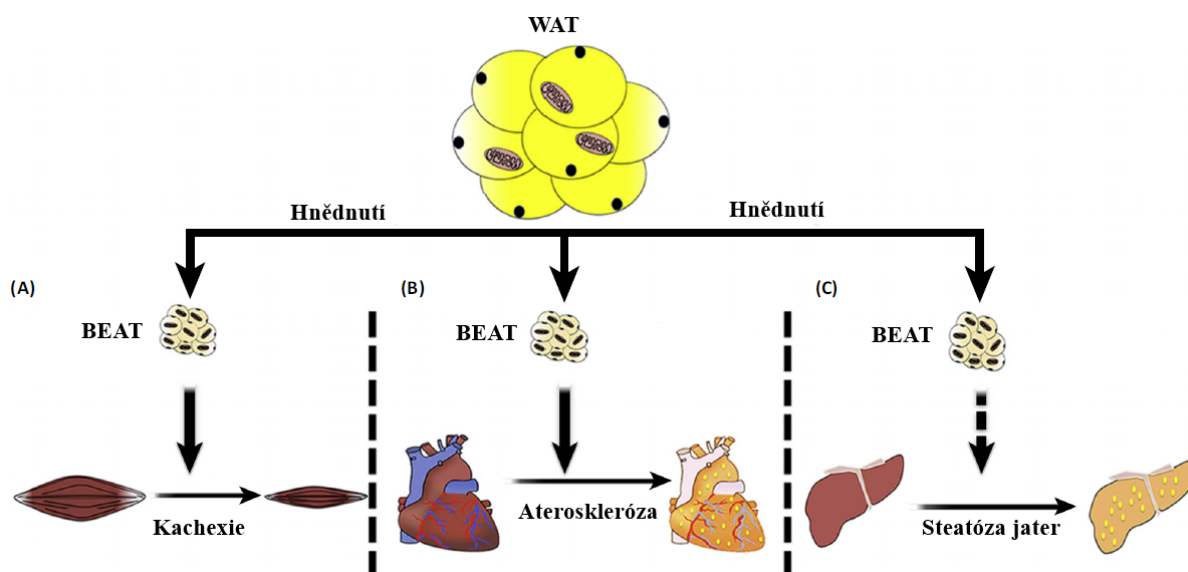
Ve snaze indukovat lipofagii v tukové tkáni v rámci terapie obezity bylo testováno několik látek, které se jevily jako vhodné. Jedna ze studií přišla s výsledky, které potvrdily, že EGCG (epigallocatechin-3-gallate), obsažený v zeleném čaji, má schopnost navodit autofagickou lipolýzu v tukových buňkách prostřednictvím signálních drah mTOR a AMPK (Kim et al., 2017). Na druhou stranu u rybího tuku, jehož účinná látka omega-3, podle výsledků mnoha studií, zlepšuje stavy inzulinové rezistence, chronického zánětu a T2D (Martins et al., 2018), se indukce lipofagie nepotvrdila (Saitoh et al., 2020).

Kromě terapie obezity a T2D se lipofagie jeví jako mechanismus, který řízením obratu triglyceridů v LD udržuje zdravý metabolický stav kůže, mimo jiné v okolí vlasových folikulů, konkrétně v buňkách kožní bílé tukové tkáně (dWAT, dermal white adipose tissue). Během vlasového cyklu dochází k výrazným změnám masy, funkce a metabolismu buněk dWAT, způsobeným lipofagií. To se prokázalo zvýšenou expresí příslušných genů při

přechodu anagenních vlasových folikulů do katagenní fáze. V anagenní fázi vlasy aktivně rostou, katagenní předchází vypadávání vlasů, v této fázi dochází k odpojení kořenu vlasu od krevního oběhu a stoupání zmenšeného vlasového folikulu k povrchu kůže. Danou hypotézu poprvé uvedli Nicu et al. (2019). Na svých primárních výsledcích ukázali, že cílená lipofagie v lidské dWAT nejen ovlivní její objem a funkční aktivitu, ale i růst vlasů (Nicu et al., 2019).

## 6. Rizika a ambivalentnost regulace autofagie

Obecně vzato autofagie v tukové tkáni má nejednoznačnou roli v procesech diferenciaci a homeostázy. Je potřeba zohledňovat její specifitu a okolnosti prováděných regulací: teplotu okolí (chladové stimulace), nutriční podmínky (HFD, hladovění), druhy a dávky podávaných farmak. Inhibice autofagie a hnědnutí tukové tkáně se jeví výhodné z hlediska terapie obezity, ale stejně jako každý esenciální proces v těle, vyžaduje zvýšenou pozornost a uvědomění rizik. Ačkoli výsledky pokusů, které se prováděly na myších s deletovaným genem *atg*, prokázaly možnost umělého navození rezistence proti obezitě, nevidím v tomto směru pro člověka bezpečné terapeutické využití. Nefunkčnost autofagie navozená úplnou delecí specifických genů, a tím podpořené hnědnutí tukové tkáně, může mít dopad kromě tukové tkáně i na jiné tkáně v těle, obzvlášť za některých tzv. hypermetabolických stavů. Na modelu popálenin byl pozorován častý výskyt hnědnutí tukové tkáně, které zhoršovalo, bez tak silně katabolický, stav pacientů (Abdullahi et al., 2016). Mimo jiné za daného a mnoha dalších hypermetabolických stavů vstupuje do hry tzv. paradox obezity. Ukázalo se, že přiměřená obezita ochránila pacienty před následky těžkého popálení (Jeschke et al., 2013) a zvýšila pravděpodobnost přežití u pacientů s nádorovými onemocněními (Gonzalez et al., 2014). Ambivalentnost regulace autofagie v této práci jsem rozebrala na příkladech aterosklerózy, kachexie a steatózy jater (viz. obr. 5).



**Obrázek 5 – Při hnědnutí WAT dochází u pacientů v hypermetabolických stavech (popáleniny, rakovina, srdeční choroby) k podstatným metabolickým změnám**

(A) Hnědnutí WAT zvyšuje energetické výdeje těla, způsobuje katabolické štěpení proteinů ve svalch a zesiluje lipolýzu. To má za následek vývoj kachexie; vysilujícího stavu charakteristického úbytkem svalové a tukové hmoty. (B) Hnědnutí WAT aktivuje lipolýzu a zvyšuje sérovou koncentraci cholesterolu. To má za následek vývoj aterosklerózy; stavu charakteristického tvorbou plaků a nestabilitou srdce. (C) Hnědnutí WAT stimuluje lipolýzu a uvolnění volných mastných kyselin. To má za následek vývoj steatózy jater; stavu charakteristického ektopickou akumulací tuku a poruchami jater. Plné šipky představují opodstatněná zjištění, přerušované – nejednoznačná. Zkratky: WAT (white adipose tissue). Převzato a upraveno: (Abdullahi et al., 2016)

## 6.1 Ateroskleróza

Jedna z chorob, u které byla zaznamenána progresse asociovaná s hnědnutím tukové tkáně, je ateroskleróza. Je charakteristická akumulací LDL (low-density lipoprotein) a VLDL (very-low-density lipoprotein) v cévních stěnách. Odpovědí buněk stěn je uvolňování oxidačních a zánětlivých faktorů, které modifikují tyto částice za vzniku oxidovaného LDL. Z monocytů, přitahovaných k místu akumulace chemoatraktanty, vznikají makrofágy a ty fagocytují modifikovaný LDL. Z makrofágů se tak stávají pěnové buňky, které indukují zánětlivou reakci a tvorbu aterosklerotických plaků (Hansson et al., 2011; Libby et al., 2002).

Chladovými stimulacemi byla docílena degradace tukových kapének nezávisle na příjmu potravy. Tím došlo k rapidnímu zvýšení koncentrace LDL v plazmě a tudíž urychlení tvorby aterosklerotických plaků. Delece genu pro UCP1 zabránila vývoji aterosklerózy indukované chladem (Dong et al., 2013).

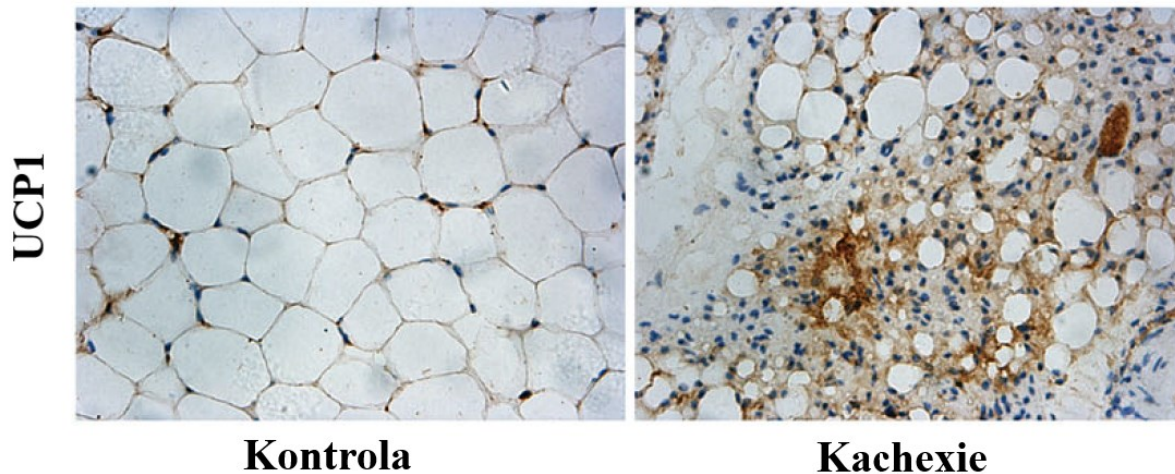
Hnědnutí WAT při ateroskleróze se tudíž jeví nevýhodné. Teoreticky by se mohlo jednat i o korelaci množství WAT s produkcí adiponektinu, metabolicky aktivního cytokinu

s protizánětlivou a proti-aterosklerotickou funkcí (Okamoto et al., 2006). V jiné studii autoři došli k výsledku, že adiponektin produkovaný pWAT (perivascular white adipose tissue) inhibuje tvorbu plaků indukci autofagie v makrofázích (Li et al., 2015), tudíž snížení masy pWAT v rámci hnědnutí může mít dopady na produkci adiponektinu, a tak zvýšení tvorby aterosklerotických plaků. Na druhou stranu za stavu obezity, kdy dochází k extrémnímu nárůstu masy tukové tkáně, se stává pWAT nefunkční – neprodukuje protizánětlivý cytokin adiponektin a zároveň uvolňuje velké množství zánětlivých cytokinů. To má za následek vaskulární dysfunkci, vazokonstrikci a poškození endotelu, a vede ke zrychlenému vývoji aterosklerózy (Zou et al., 2016). Výše popsané nebezpečí hnědnutí pravděpodobně platí pouze za původně dobré zdravotní kondice, kdyžto za stavu obezity může zabránit vývoji aterosklerózy (van Dam et al., 2017).

## 6.2 Kachexie

Kachexie je stav charakteristický atrofii a ztrátou svalové a tukové hmoty, poklesem váhy a systematickými záněty v důsledku vážného onemocnění (Mendes et al., 2015). Hnědnutí tukové tkáně předchází atrofii svalů a běžně provází první stádia rozvoje kachexie. Je asociované s chronickým zánětem a indukuje expresi UCP1 zvýšením koncentrace IL-6 (viz. obr. 6). IL-6 u nemocných pacientů indukoval nejen hnědnutí, ale i štěpení lipidů ve WAT (Han et al., 2018). Zajímavým bylo také zjištění, že exosomy, produkované nádorovými buňkami, rovněž navodily štěpení lipidů v buněčné linii 3T3-L1. Inhibicí tvorby exosomů bylo docíleno redukce hnědnutí (Hu et al., 2018). Stejného výsledku bylo dosaženo i zablokováním dráhy  $\beta$ 3-AR, což vedlo ke zmírnění jinak závažného průběhu kachexie (Petruzzelli et al., 2014). Popsané výsledky naznačují, že hnědnutí stimulované regulací autofagie může v případě nemocí charakteristických výskytem kachexie, rapidně zhoršit jejich průběh. Ubývání a fenotypové přeměny tukové hmoty v tomto případě se jeví jako nevýhodné, až život ohrožující.





**Obrázek 6 – Srovnání vzorků WAT odebraných z kontrolní wild-type a kachexické skupin myši**  
 Reprezentativní barvení UCP1 ve WAT získané z oblasti třísel. Zkratky: UCP1 (uncoupling protein 1), WAT (white adipose tissue). Převzato a upraveno: (Han et al., 2018)

### 6.3 Steatóza jater

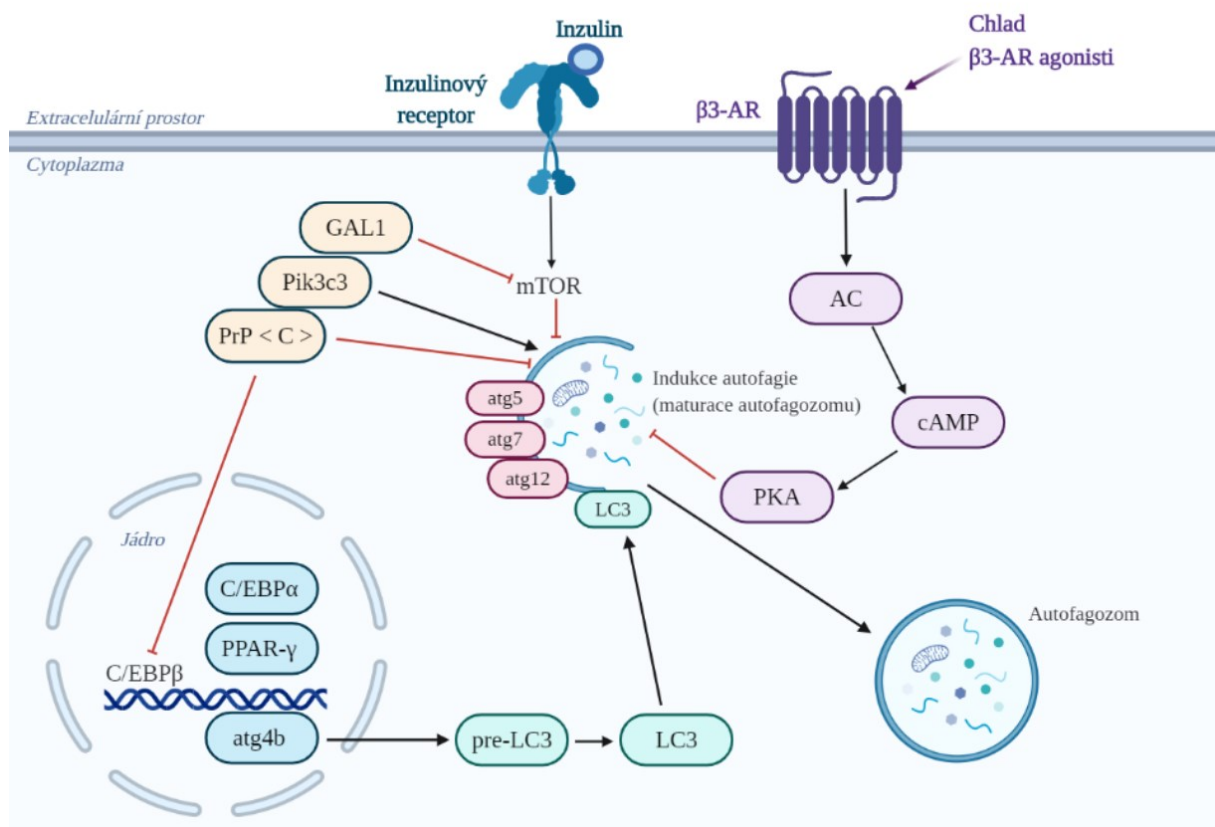
Steatóza jater je stav, při kterém dochází ke zvýšené akumulaci tuků v játrech. Jedná se o onemocnění, které se běžně vyskytuje u pacientů s masivními popáleninami, a proto bylo mnohokrát zkoumáno v kontextu hnědnutí tukové tkáně (Abdullahi et al., 2016).

Jelikož je tato choroba způsobená zvýšenou koncentrací volných mastných kyselin (Kraft et al., 2013), mohlo by se jednat o přímou korelaci mezi lipolýzou LD při hnědnutí tukové tkáně a akumulací tuků v játrech. Daná hypotéza byla prověřena inhibicí dvou regulátorů hnědnutí způsobeného popálením: IL-6 a UCP1, čímž bylo zabráněno rozvoji steatózy jater u myši (Abdullahi et al., 2019).

V případě steatózy jater soudím, že se znovu jedná o nebezpečí hnědnutí tukové tkáně, ale paradoxně pouze za určitých podmínek, tudíž ještě více nejednoznačné, než u předchozího případu. Hnědnutí způsobené popálením se zde opět jeví nevýhodné a jeho indukce regulací autofagie v tukové tkáni by měla za následek zhoršení výše popsaného stavu. Na druhou stranu u obézních myši, krmených HFD, které rovněž vykazovaly příznaky steatózy, vyvolalo indukované hnědnutí dramatickou redukci akumulace tuků v játrech (Nimri et al., 2018; Suo et al., 2018). Mohlo by se jednat o funkční, nebo mechanistický rozdíl mezi indukovaným a bazálním hnědnutím tukové tkáně. Daná problematika vyžaduje další výzkum shrnující tyto poznatky.

## 7. Závěr

Autofagie je jedním z esenciálních mechanismů udržení homeostázy v buňkách tukové tkáně a, jak se ukázalo, i jejich diferenciace a fenotypových přeměn. Poprvé byly fenotypové přeměny na myším modelu sledovány v roce 2009. Ukázalo se, že cílená inhibice autofagie vedla nejen ke snížení váhy myši, ale rovněž dokázala navodit přednostní tvorbu BAT. Potvrdilo se to i ve výzkumu provedeném na vzorcích WAT odebraných u pacientů s obezitou, u kterých byla sledována zvýšená exprese genů *atg*.



**Obrázek 7 - Grafické shrnutí signálních drah autofagie v buňkách tukové tkáně**

Autofagie je regulována, kromě kinázy Pik3c3, především expresí příslušných genů *atg* a markeru autofagie LC3. Prekurzor LC3 je štěpen cysteinovou proteázou atg4b, jejíž expresi spolu s dalšími faktory diferenciace tukové tkáně (PPAR- $\gamma$  a C/EBP- $\alpha$ ) reguluje transkripční faktor C/EBP $\beta$ . Negativními regulátory autofagie jsou: intracelulární inhibitor PrP <C>, který ovlivňuje expresi C/EBP $\beta$ , a signální dráha AC, jejíž indukce je navozena stimulacemi  $\beta$ 3-AR chladem a příslušnými agonisty. Další dráha negativně regulující autofagii je dráha mTOR, stimulována mimo jiné inzulínem a inhibována GAL1. GAL1 je jedním z faktorů regulujících diferenciaci tukové tkáně, a je zároveň nepřímým induktorem autofagie a následné maturace autofagozomu. Zkratky: AC (adenylyl cyclase), cAMP (cyclic adenosine monophosphate), PKA (protein kinase A), atg (autophagy-related genes), LC3 (microtubule-associated protein light chain 3), C/EBP $\alpha/\beta$  (CCAAT-enhancer-binding protein  $\alpha/\beta$ ), PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ), Pik3c3 (Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type 3), GAL1 (galectin-1), Prp <C> (cellular prion protein), mTOR (mammalian target of rapamycin),  $\beta$ 3-AR (beta3 adrenergic receptor). Vlastní tvorba z důvodu nenalezení souhrnného schématu, které by shrnovalo pouze zmíněné v této práci signální dráhy autofagie v tukové tkáni (vyrobena v [BioRender.com](https://www.biorender.com)).

Tato práce popsala autofagii v kontextu všech druhů tukové tkáně a představila ji jako potenciálně využitelný terapeutický cíl v léčbě obezity. Jako nejúčinnější se jeví genetická, příp. farmakologická inhibice autofagie/mitofagie v tukové tkáni. Společnou vlastností těchto regulací je schopnost navodit přednostní vznik a udržení BEAT/BAT. Dané typy tukové tkáně disponují unikátními termogenetickými vlastnostmi a jejich upřednostnění je pro organismus ve většině případů výhodné, neboť u nich bylo zaznamenáno navození rezistence vůči obezitě. Některé studie ovšem upozorňují na výhodné vlastnosti autofagie v tukové tkáni a upřednostňují její indukci. Jedná se, v případě starších jedinců, o mitofagii v BAT, která zajišťuje obrat mitochondrií v buňkách, na čemž záleží kvalita netřesové termogeneze. Dále o lipofagii, která je svou schopností štěpit LD využitelná nejen v léčbě obezity, ale i pro zlepšení stavu kůže. Kromě výhod spojených s indukcí, bylo v některých studiích poukázáno i na nebezpečí inhibice autofagie, konkrétně z hlediska hnědnutí tukové tkáně. Za určitých podmínek totiž dokázalo zhoršit průběh některých metabolických chorob včetně aterosklerózy, kachexie a steatózy jater.

Výzkum zaměřený na regulaci autofagie a tím navozenou rezistenci vůči obezitě je slibný směr v hledání terapií vhodných pro její léčbu. Avšak je potřeba zohledňovat popsaná rizika a podmínky, za kterých inhibice autofagie, procesu vykonávajícího esenciální roli v tkáních, nebude pro pacienta nebezpečná.

## 8. Použité zdroje

- \*Abdullahi, A., a Jeschke, M.G. (2016). White adipose tissue browning: A double-edged sword. *Trends Endocrinol. Metab.* 27, 542–552.
- Abdullahi, A., Samadi, O., Auger, C., Kanagalingam, T., Boehning, D., Bi, S., a Jeschke, M.G. (2019). Browning of white adipose tissue after a burn injury promotes hepatic steatosis and dysfunction. *Cell Death Dis.* 10, 870.
- Ahmed, M., Nguyen, H.Q., Hwang, J.S., Zada, S., Lai, T.H., Kang, S.S., a Kim, D.R. (2018). Systematic characterization of autophagy-related genes during the adipocyte differentiation using public-access data. *Oncotarget* 9, 15526–15541.
- \*Altshuler-Keylin, S., a Kajimura, S. (2017). Mitochondrial homeostasis in adipose tissue remodeling. *Sci. Signal.* 10, 1–11.
- Altshuler-Keylin, S., Shinoda, K., Hasegawa, Y., Ikeda, K., Hong, H., Kang, Q., Yang, Y., Perera, R.M., Debnath, J., a Kajimura, S. (2016). Beige adipocyte maintenance is regulated by autophagy-induced mitochondrial clearance. *Cell Metab.* 24, 402–419.

- Baerga, R., Zhang, Y., Chen, P.H., Goldman, S., a Jin, S. (2009). Targeted deletion of autophagy-related 5 (atg5) impairs adipogenesis in a cellular model and in mice. *Autophagy* 5, 1118–1130.
- Barbatelli, G., Murano, I., Madsen, L., Hao, Q., Jimenez, M., Kristiansen, K., Giacobino, J.P., De Matteis, R., a Cinti, S. (2010). The emergence of cold-induced brown adipocytes in mouse white fat depots is determined predominantly by white to brown adipocyte transdifferentiation. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 298, 1244–1253.
- \*Bray, G.A., a Bellanger, T. (2006). Epidemiology, trends, and morbidities of obesity and the metabolic syndrome. *1*, 109–117.
- Cai, M., Zhao, J., Liu, Q., Wang, X., a Wang, Y. (2019). FAM134B improves preadipocytes differentiation by enhancing mitophagy. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* 1864, 158508.
- Cairó, M., Campderrós, L., Gavaldà-Navarro, A., Cereijo, R., Delgado-Anglés, A., Quesada-López, T., Giralt, M., Villarroya, J., a Villarroya, F. (2019). Parkin controls brown adipose tissue plasticity in response to adaptive thermogenesis. *EMBO Rep.* 20, 5.
- \*Cannon, B., a Nedergaard, J. (2004). Brown adipose tissue: Function and physiological significance. *Physiol. Rev.* 84, 277–359.
- Chakrabarti, P., a Kandrór, K. V. (2009). FoxO1 controls insulin-dependent adipose triglyceride lipase (ATGL) expression and lipolysis in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 284, 13296–13300.
- \*Chen, L., Magliano, D.J., a Zimmet, P.Z. (2012). The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus - Present and future perspectives. *Nat. Rev. Endocrinol.* 8, 228–236.
- \*Cingolani, F., a Czaja, M.J. (2016). Regulation and functions of autophagic lipolysis. *Trends Endocrinol. Metab.* 27, 696–705.
- van Dam, A.D., Boon, M.R., Berbée, J.F.P., Rensen, P.C.N., a van Harmelen, V. (2017). Targeting white, brown and perivascular adipose tissue in atherosclerosis development. *Eur. J. Pharmacol.* 816, 82–92.
- Dong, M., Yang, X., Lim, S., Cao, Z., Honek, J., Lu, H., Zhang, C., Seki, T., Hosaka, K., Wahlberg, E., et al. (2013). Cold exposure promotes atherosclerotic plaque growth and instability via UCP1-dependent lipolysis. *Cell Metab.* 18, 118–129.
- \*Ferhat, M., Funai, K., a Boudina, S. (2019). Autophagy in adipose tissue physiology and pathophysiology. *Antioxid. Redox Signal.* 31, 487–501.
- Friedman, J.M. (2009). Leptin at 14 y of age: An ongoing story. *Am. J. Clin. Nutr.* 89, 973S/979S.

- Fu, W., Liu, Y., Sun, C., a Yin, H. (2019). Transient p53 inhibition sensitizes aged white adipose tissue for beige adipocyte recruitment by blocking mitophagy. *FASEB J.* 33, 844–856.
- Fujioka, K. (2007). Pathophysiology of type 2 diabetes and the role of incretin hormones and beta-cell dysfunction. *JAAPA Suppl*, 3–8.
- Fujiwara, M., Tian, L., Le, P.T., DeMambro, V.E., Becker, K.A., Rosen, C.J., a Guntur, A.R. (2019). The mitophagy receptor Bcl-2-like protein 13 stimulates adipogenesis by regulating mitochondrial oxidative phosphorylation and apoptosis in mice. *J. Biol. Chem.* 294, 12683–12694.
- \*Galluzzi, L., Baehrecke, E.H., Ballabio, A., Boya, P., Bravo-San Pedro, J.M., Cecconi, F., Choi, A.M., Chu, C.T., Codogno, P., Colombo, M.I., et al. (2017). Molecular definitions of autophagy and related processes. *EMBO J.* 36, 1811–1836.
- Ghosh, A.K., Mau, T., O'Brien, M., a Yung, R. (2018). Novel role of autophagy-associated Pik3c3 gene in gonadal white adipose tissue browning in aged C57/Bl6 male mice. *Aging (Albany, NY)*. 10, 764–774.
- Goldman, S.J., Zhang, Y., a Jin, S. (2011). Autophagic degradation of mitochondria in white adipose tissue differentiation. *Antioxidants Redox Signal.* 14, 1971–1978.
- Gonzalez, M.C., Pastore, C.A., Orlandi, S.P., a Heymsfield, S.B. (2014). Obesity paradox in cancer: new insights provided by body composition. *Am. J. Clin. Nutr.* 99, 999–1005.
- Guo, L., Huang, J.-X., Liu, Y., Li, X., Zhou, S.-R., Qian, S.-W., Liu, Y., Zhu, H., Huang, H.-Y., Dang, Y.-J., et al. (2013). Transactivation of Atg4b by C/EBP $\beta$  promotes autophagy to facilitate adipogenesis. *Mol. Cell. Biol.* 33, 3180–3190.
- Han, J., Meng, Q., Shen, L., a Wu, G. (2018). Interleukin-6 induces fat loss in cancer cachexia by promoting white adipose tissue lipolysis and browning. *Lipids Health Dis.* 17, 14.
- Hansson, G.K., a Hermansson, A. (2011). The immune system in atherosclerosis. *Nat. Immunol.* 12, 204–212.
- \*Harms, M., a Seale, P. (2013). Brown and beige fat: Development, function and therapeutic potential. *Nat. Med.* 19, 1252–1263.
- Hu, W., Ru, Z., Xiao, W., Xiong, Z., Wang, C., Yuan, C., Zhang, X., a Yang, H. (2018). Adipose tissue browning in cancer-associated cachexia can be attenuated by inhibition of exosome generation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 506, 122–129.
- \*Hu, Y.X., Han, X.S., a Jing, Q. (2019). Autophagy in Development and Differentiation. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 1206, 469–487.

- Huber, K., Hofer, D.C., Trefely, S., Pelzmann, H.J., Madreiter-Sokolowski, C., Duta-Mare, M., Schlager, S., Trausinger, G., Stryeck, S., Graier, W.F., et al. (2019). N-acetylaspartate pathway is nutrient responsive and coordinates lipid and energy metabolism in brown adipocytes. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* *1866*, 337–348.
- Jansen, H.J., Van Essen, P., Koenen, T., Joosten, L.A.B., Netea, M.G., Tack, C.J., a Stienstra, R. (2012). Autophagy activity is up-regulated in adipose tissue of obese individuals and modulates proinflammatory cytokine expression. *Endocrinology* *153*, 5866–5874.
- Jeong, J.K., Lee, J.H., Kim, S.W., Hong, J.M., Seol, J.W., a Park, S.Y. (2019). Cellular prion protein regulates the differentiation and function of adipocytes through autophagy flux. *Mol. Cell. Endocrinol.* *481*, 84–94.
- Jeschke, M.G., Finnerty, C.C., Emdad, F., Rivero, H.G., Kraft, R., Williams, F.N., Gamelli, R.L., Gibran, N.S., Klein, M.B., Arnoldo, B.D., et al. (2013). Mild obesity is protective after severe burn injury. *Ann. Surg.* *258*, 1119–1129.
- Ju, L., Chen, S., Alimujiang, M., Bai, N., Yan, H., Fang, Q., Han, J., Ma, X., Yang, Y., a Jia, W. (2018). A novel role for Bcl2l13 in promoting beige adipocyte biogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *506*, 485–491.
- Ju, L., Han, J., Zhang, X., Deng, Y., Yan, H., Wang, C., Li, X., Chen, S., Alimujiang, M., Li, X., et al. (2019). Obesity-associated inflammation triggers an autophagy–lysosomal response in adipocytes and causes degradation of perilipin 1. *Cell Death Dis.* *10*, 121.
- Kim, D., Kim, J.-H., Kang, Y.-H., Kim, J.S., Yun, S.-C., Kang, S.-W., a Song, Y. (2019). Suppression of brown adipocyte autophagy improves energy metabolism by regulating mitochondrial turnover. *Int. J. Mol. Sci.* *20*, 3520.
- Kim, K.H., Jeong, Y.T., Oh, H., Kim, S.H., Cho, J.M., Kim, Y.N., Kim, S.S., Kim, D.H., Hur, K.Y., Kim, H.K., et al. (2013). Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine. *Nat. Med.* *19*, 83–92.
- Kim, S.N., Kwon, H.J., Akindehin, S., Jeong, H.W., a Lee, Y.H. (2017). Effects of epigallocatechin-3-gallate on autophagic lipolysis in adipocytes. *Nutrients* *9*, 680.
- Kimmel, A.R., Brasaemle, D.L., McAndrews-Hill, M., Sztalryd, C., a Londos, C. (2010). Adoption of PERILIPIN as a unifying nomenclature for the mammalian PAT-family of intracellular lipid storage droplet proteins. *J. Lipid Res.* *51*, 468–471.
- \*Klionsky, D.J., Abdelmohsen, K., Abe, A., Abedin, M.J., Abeliovich, H., Arozena, A.A., Adachi, H., Adams, C.M., Adams, P.D., Adeli, K., et al. (2016). Guidelines for the use

- and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy* 12, 1–222.
- Kovsan, J., Blüher, M., Tarnovscki, T., Klöting, N., Kirshtein, B., Madar, L., Shai, I., Golan, R., Harman-Boehm, I., Schön, M.R., et al. (2011). Altered autophagy in human adipose tissues in obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96, 268–277.
- Kraft, R., Herndon, D.N., Finnerty, C.C., Hiyama, Y., a Jeschke, M.G. (2013). Association of postburn fatty acids and triglycerides with clinical outcome in severely burned children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98, 314–321.
- \*Kroemer, G., Mariño, G., a Levine, B. (2010). Autophagy and the integrated stress response. *Mol. Cell* 40, 280–293.
- \*Kwok, K.H., Lam, K.S., a Xu, A. (2016). Heterogeneity of white adipose tissue: Molecular basis and clinical implications. *Exp. Mol. Med.* 48, 215.
- Lettieri Barbato, D., Tatulli, G., Aquilano, K., a Ciriolo, M.R. (2013). FoxO1 controls lysosomal acid lipase in adipocytes: Implication of lipophagy during nutrient restriction and metformin treatment. *Cell Death Dis.* 4, 861.
- Leu, S.Y., Tsai, Y.C., Chen, W.C., Hsu, C.H., Lee, Y.M., a Cheng, P.Y. (2018). Raspberry ketone induces brown-like adipocyte formation through suppression of autophagy in adipocytes and adipose tissue. *J. Nutr. Biochem.* 56, 116–125.
- Li, C., Wang, Z., Wang, C., Ma, Q., a Zhao, Y. (2015). Perivascular adipose tissue-derived adiponectin inhibits collar-induced carotid atherosclerosis by promoting macrophage autophagy. *PLoS One* 10, 1–13.
- \*Libby, P. (2002). Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420, 868–874.
- \*Lowell, B.B., a Spiegelman, B.M. (2000). Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature* 404, 652–660.
- \*Lu, X. (2019). Maintaining mitochondria in beige adipose tissue. *Adipocyte* 8, 77–82.
- Lu, X., Altshuler-Keylin, S., Wang, Q., Chen, Y., Sponton, C.H., Ikeda, K., Maretich, P., Yoneshiro, T., a Kajimura, S. (2018a). Mitophagy controls beige adipocyte maintenance through a Parkin-dependent and UCP1-independent mechanism. *Sci. Signal.* 11, eaap8526.
- Lu, Y., Fujioka, H., Joshi, D., Li, Q., Sangwung, P., Hsieh, P., Zhu, J., Torio, J., Sweet, D., Wang, L., et al. (2018b). Mitophagy is required for brown adipose tissue mitochondrial homeostasis during cold challenge. *Sci. Rep.* 8, 1–13.
- Martinez-Lopez, N., a Singh, R. (2016). Telemetric control of peripheral lipophagy by hypothalamic autophagy. *Autophagy* 12, 1404–1405.

- Martinez-Lopez, N., Garcia-Macia, M., Sahu, S., Athonvarangkul, D., Liebling, E., Merlo, P., Cecconi, F., Schwartz, G.J., a Singh, R. (2016). Autophagy in the CNS and periphery coordinate lipophagy and lipolysis in the brown adipose tissue and liver. *Cell Metab.* 23, 113–127.
- Martins, A.R., Crisma, A.R., Masi, L.N., Amaral, C.L., Marzuca-Nassr, G.N., Bomfim, L.H.M., Teodoro, B.G., Queiroz, A.L., Serdan, T.D.A., Torres, R.P., et al. (2018). Attenuation of obesity and insulin resistance by fish oil supplementation is associated with improved skeletal muscle mitochondrial function in mice fed a high-fat diet. *J. Nutr. Biochem.* 55, 76–88.
- Meijer, W.H., Van Der Klei, I.J., Veenhuis, M., a Kiel, J.A.K.W. (2007). ATG genes involved in non-selective autophagy are conserved from yeast to man, but the selective Cvt and pexophagy pathways also require organism-specific genes. *Autophagy* 3, 106–116.
- \*Mendes, M.C.S., Pimentel, G.D., Costa, F.O., a Carvalheira, J.B.C. (2015). Molecular and neuroendocrine mechanisms of cancer cachexia. *J. Endocrinol.* 226, 29–43.
- \*Mizushima, N. (2007). Autophagy: Process and function. *Genes Dev.* 21, 2861–2873.
- Mukherjee, R., Kim, S.W., Park, T., Choi, M.S., a Yun, J.W. (2015). Targeted inhibition of galectin 1 by thiodigalactoside dramatically reduces body weight gain in diet-induced obese rats. *Int. J. Obes.* 39, 1349–1358.
- Nicu, C., Hardman, J.A., Pople, J., a Paus, R. (2019). Do human dermal adipocytes switch from lipogenesis in anagen to lipophagy and lipolysis during catagen in the human hair cycle? *Exp. Dermatol.* 28, 432–435.
- Nimri, L., Staikin, K., Peri, I., Yehuda-Shnaidman, E., a Schwartz, B. (2018). Ostreolysin induces browning of adipocytes and ameliorates hepatic steatosis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 33, 1990–2000.
- Novikoff, A.B., Novikoff, P.M., Rosen, O.M., a Rubin, C.S. (1980). Organelle relationships in cultured 3T3-L1 preadipocytes. *J. Cell Biol.* 87, 180–196.
- \*Okamoto, Y., Kihara, S., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., a Libby, P. (2006). Adiponectin: A key adipocytokine in metabolic syndrome. *Clin. Sci.* 110, 267–278.
- Öst, A., Svensson, K., Ruishalme, I., Brännmark, C., Franck, N., Krook, H., Sandström, P., Kjolhede, P., a Strålfors, P. (2010). Attenuated mTOR signaling and enhanced autophagy in adipocytes from obese patients with type 2 diabetes. *Mol. Med.* 16, 235–246.



- Parray, H.A., a Yun, J.W. (2017). Combined inhibition of autophagy protein 5 and galectin-1 by thiodigalactoside reduces diet-induced obesity through induction of white fat browning. *IUBMB Life* 69, 510–521.
- Petruzzelli, M., Schweiger, M., Schreiber, R., Campos-Olivas, R., Tsoi, M., Allen, J., Swarbrick, M., Rose-John, S., Rincon, M., Robertson, G., et al. (2014). A switch from white to brown fat increases energy expenditure in cancer-associated cachexia. *Cell Metab.* 20, 433–447.
- Quan, W., Kim, H.-K., Moon, E.-Y., Kim, S.S., Choi, C.S., Komatsu, M., Jeong, Y.T., Lee, M.-K., Kim, K.-W., Kim, M.-S., et al. (2012). Role of hypothalamic proopiomelanocortin neuron autophagy in the control of appetite and leptin response. *Endocrinology* 153, 1817–1826.
- \*Ro, S.H., Jang, Y., Bae, J., Kim, I.M., Schaecher, C., a Shomo, Z.D. (2019). Autophagy in adipocyte browning: Emerging drug target for intervention in obesity. *Front. Physiol.* 10, 22.
- Rodríguez-Hernández, Á., Cordero, M.D., Salviati, L., Artuch, R., Pineda, M., Briones, P., Izquierdo, L.G., Cotán, D., Navas, P., a Sánchez-Alcázar, J.A. (2009). Coenzyme Q deficiency triggers mitochondria degradation by mitophagy. *Autophagy* 5, 19–32.
- Saitoh, K., Yoshimura, T., Sun, L., Yang, M., Wang, Y., Taniyama, S., Hara, K., Murayama, F., Nikawa, T., Tachibana, K., et al. (2020). Effect of dietary fish oil on enhanced inflammation and disturbed lipophagy in white adipose tissue caused by a high fat diet. *Fish. Sci.* 86, 187–196.
- Singh, R., Xiang, Y., Wang, Y., Baikati, K., Cuervo, A.M., Luu, Y.K., Tang, Y., Pessin, J.E., Schwartz, G.J., a Czaja, M.J. (2009a). Autophagy regulates adipose mass and differentiation in mice. *J. Clin. Invest.* 119, 3329–3339.
- Singh, R., Kaushik, S., Wang, Y., Xiang, Y., Novak, I., Komatsu, M., Tanaka, K., Cuervo, A.M., a Czaja, M.J. (2009b). Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 458, 1131–1135.
- Sophie Mokas, J.R.M., Cristina Garreau, M.-J., Fournier, 'e, Robert, F., Arya, P., Kaufman, R.J., Pelletier, J., a Mazroui\*, and R. (2009). Uncoupling stress granule assembly and translation initiation inhibition. *Mol. Biol. Cell* 20, 2673–2683.
- Souza, S.C., Muliro, K. V., Liscum, L., Lien, P., Yamamoto, M.T., Schaffer, J.E., Dallal, G.E., Wang, X., Kraemer, F.B., Obin, M., et al. (2002). Modulation of hormone-sensitive lipase and protein kinase A-mediated lipolysis by perilipin A in an adenoviral reconstituted system. *J. Biol. Chem.* 277, 8267–8272.

- Spandl, J., Lohmann, D., Kuerschner, L., Moessinger, C., a Thiele, C. (2011). Ancient ubiquitous protein 1 (AUP1) localizes to lipid droplets and binds the E2 ubiquitin conjugase G2 (Ube2g2) via its G2 binding region. *J. Biol. Chem.* *286*, 5599–5606.
- Suo, J., Zhao, X., Guo, X., a Zhao, X. (2018). Met-enkephalin improves metabolic syndrome in high fat diet challenged mice through promotion of adipose tissue browning. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* *359*, 12–23.
- Tan, S.H., Shui, G., Zhou, J., Li, J.J.E., Bay, B.H., Wenk, M.R., a Shen, H.M. (2012). Induction of autophagy by palmitic acid via protein kinase C-mediated signaling pathway independent of mTOR (mammalian target of rapamycin). *J. Biol. Chem.* *287*, 14364–14376.
- Tang, Q.Q., a Lane, M.D. (1999). Activation and centromeric localization of CCAAT/enhancer-binding proteins during the mitotic clonal expansion of adipocyte differentiation. *Genes Dev.* *13*, 2231–2241.
- Taylor, D., a Gottlieb, R.A. (2017). Parkin-mediated mitophagy is downregulated in browning of white adipose tissue. *Obesity* *25*, 704–712.
- Vincow, E.S., Merrihew, G., Thomas, R.E., Shulman, N.J., Beyer, R.P., MacCoss, M.J., a Pallanck, L.J. (2013). The PINK1-Parkin pathway promotes both mitophagy and selective respiratory chain turnover in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *110*, 6400–6405.
- Wang, W., Kissig, M., Rajakumari, S., Huang, L., Lim, H.W., Won, K.J., a Seale, P. (2014). Ebf2 is a selective marker of brown and beige adipogenic precursor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *111*, 14466–14471.
- Wu, J., Boström, P., Sparks, L.M., Ye, L., Choi, J.H., Giang, A.H., Khandekar, M., Virtanen, K.A., Nuutila, P., Schaart, G., et al. (2012). Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* *150*, 366–376.
- Xie, S., Li, Y., Teng, W., Du, M., Li, Y., a Sun, B. (2019). Liensinine inhibits beige adipocytes recovering to white adipocytes through blocking mitophagy flux *in vitro* and *in vivo*. *Nutrients* *11*, 1640.
- Xu, X., Grijalva, A., Skowronski, A., Van Eijk, M., Serlie, M.J., a Ferrante, A.W. (2013). Obesity activates a program of lysosomal-dependent lipid metabolism in adipose tissue macrophages independently of classic activation. *Cell Metab.* *18*, 816–830.
- Yau, W.W., Singh, B.K., Lesmana, R., Zhou, J., Sinha, R.A., Wong, K.A., Wu, Y., Bay, B.H., Sugii, S., Sun, L., et al. (2019). Thyroid hormone (T3) stimulates brown adipose tissue

- activation via mitochondrial biogenesis and MTOR-mediated mitophagy. *Autophagy* 15, 131–150.
- Zeng, R., Fang, Y., Zhang, Y., a Bai, S. (2018). P62 is linked to mitophagy in oleic acid-induced adipogenesis in human adipose-derived stromal cells. *Lipids Health Dis.* 17, 1–11.
- Zhang, X., Wu, D., Wang, C., Luo, Y., Ding, X., Yang, X., Silva, F., Arenas, S., Weaver, J.M., Mandell, M., et al. (2019). Sustained activation of autophagy suppresses adipocyte maturation via a lipolysis-dependent mechanism. *Autophagy* 18, 1–15.
- Zhang, Y., Goldman, S., Baerga, R., Zhao, Y., Komatsu, M., a Jin, S. (2009). Adipose-specific deletion of autophagy-related gene 7 (atg7) in mice reveals a role in adipogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 19860–19865.
- Zhang, Y., Marsboom, G., Toth, P.T., a Rehman, J. (2013). Mitochondrial respiration regulates adipogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *PLoS One* 8(10), e77077.
- Zou, L., Wang, W., Liu, S., Zhao, X., Lyv, Y., Du, C., Su, X., Geng, B., a Xu, G. (2016). Spontaneous hypertension occurs with adipose tissue dysfunction in perilipin-1 null mice. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* 1862, 182–191.

**\*review jsou označeny hvězdičkou**

### **Další použité zdroje:**

mTORC1 and Autophagy in Human Brown Adipocytes, clinicaltrials.gov [online databáze], Aktualizováno: 20.12.2019, citováno: 28.03.2020. Dostupné z:

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04206124?term=autophagy+obesity&draw=2&rank=1>

Tenfold increase in childhood and adolescent obesity in four decades: new study by Imperial College London and WHO. Dostupné z:

<https://www.who.int/news-room/detail/11-10-2017-tenfold-increase-in-childhood-and-adolescent-obesity-in-four-decades-new-study-by-imperial-college-london-and-who>