

# **Tuková tkáň**

# Osnova

- vývoj tukové tkáně
- struktura a funkce adipocytu
- druhy tukové tkáně
- funkce tukové tkáně
- procesy v tukové tkáni (plasticita, browning)

# Tuková tkáň

- centrální role v regulaci energetické rovnováhy a homeostázy
- metabolické, buněčné a endokrinní funkce
  
- studium tukové tkáně, zvláště **adipocytů**, je základem pro porozumění metabolických abnormalit spojených s vývojem obezity
  
- adipocyty se podílejí na řízení metabolismu lipidů
- identifikují, řídí a posílají signály pro udržení energetické rovnováhy
  
- koncepce adipocytu jako endokrinní a funkční buňky není dosud zcela pochopena

# Funkce tukové tkáně

1. metabolismus lipidů včetně uložení TAG a uvolnění MK
2. katabolismus TAG za účelem uvolnění glycerolu a MK v rámci metabolismu glukózy
3. produkce **adipokinů**, které zahrnují hormony, cytokiny a další proteiny se specifickými biologickými funkcemi

→ významný vliv na fyziologické procesy, jako je vývoj a růst adipocytů, a energetickou homeostázu

- další funkce: angiogeneze, adipogeneze, metabolismus steroidů, imunitní odpověď, tepelná izolace, ochrana vnitřních orgánů, atd.

# Druhy tukové tkáně

□ dle rozdílů v buněčné struktuře, barvě, lokalizaci, vaskularizaci a funkci:

# Druhy tukové tkáně

- dle rozdílů v buněčné struktuře, barvě, lokalizaci, vaskularizaci a funkci:
  - bílá tuková tkáň - WAT (white adipose tissue)
  - hnědá tuková tkáň - BAT (brown adipose tissue)
  - (béžová tuková tkáň)
  - růžová tuková tkáň

# Adipocyt

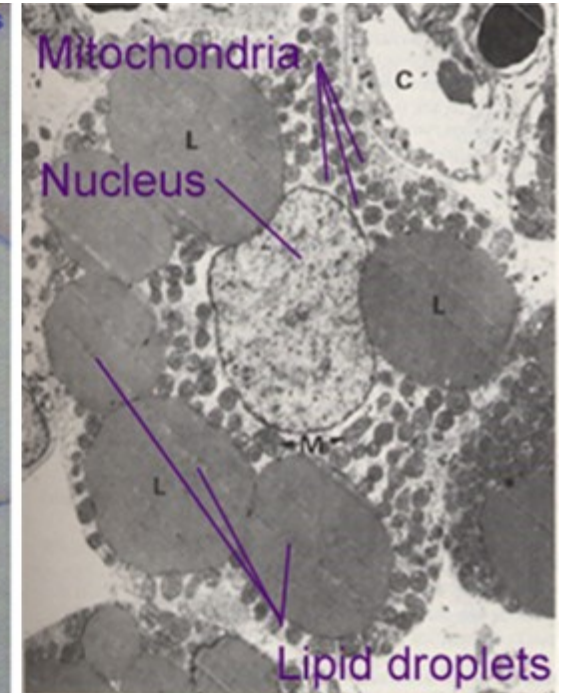
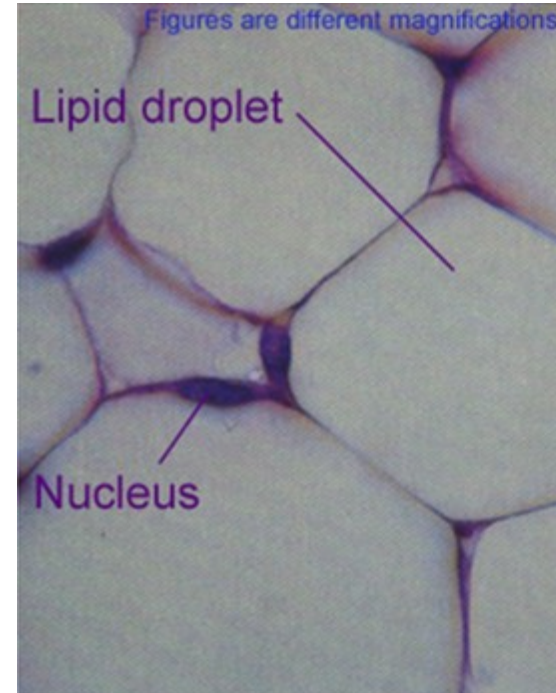
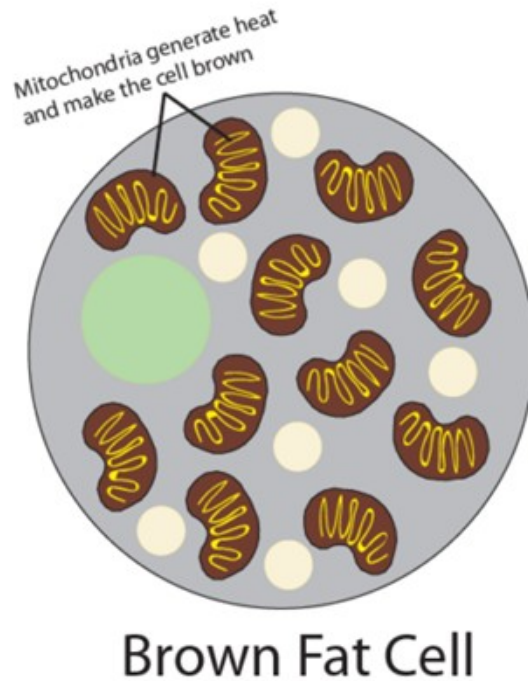
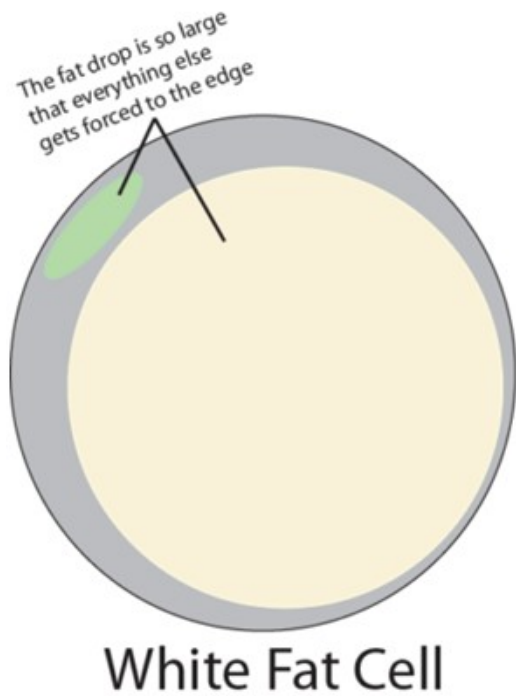
## WAT

- jedna lipidová kapka, která zabírá 90 % objemu buňky
- jádro stlačeno na okraj buněk
- cytoplazma tvoří tenký okraj
- mitochondrie
  - malé, protáhlé
  - krátké, náhodně uspořádané kristy
- unilokulární adipocyty

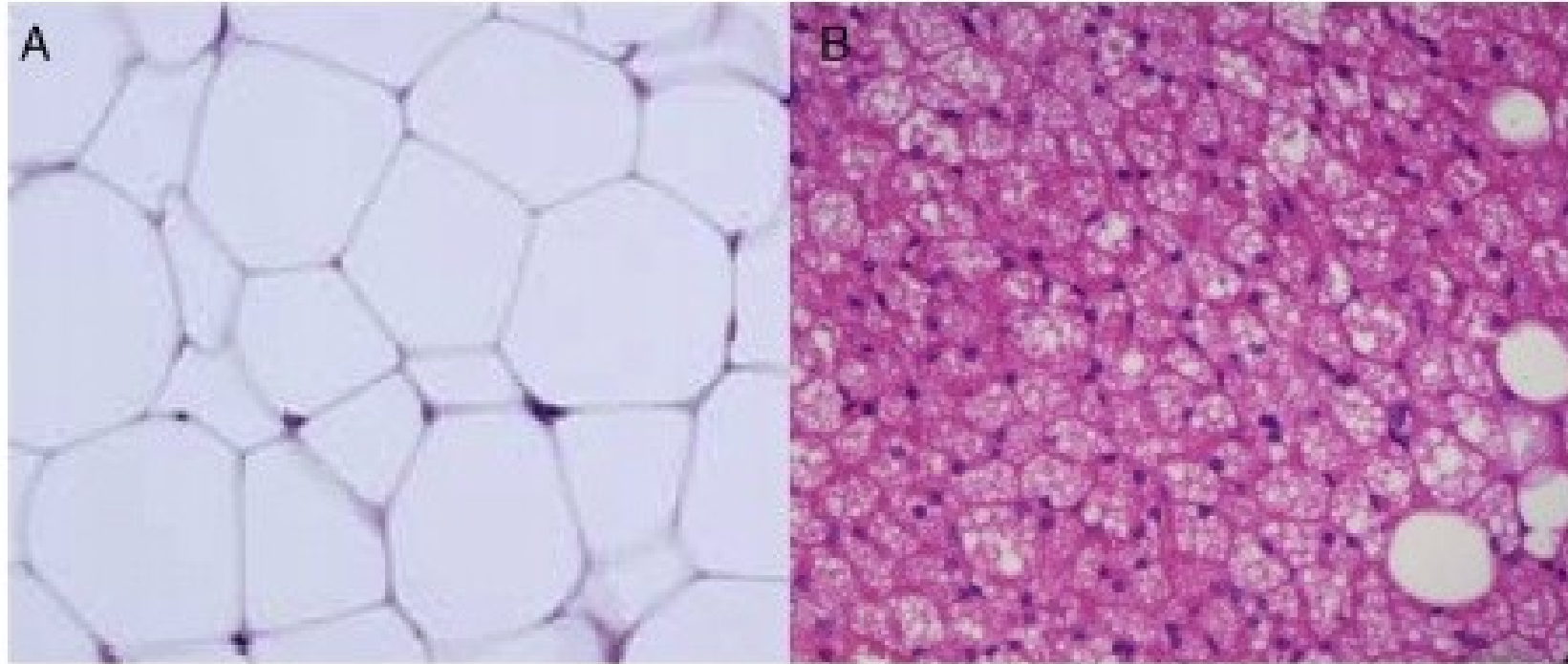
## BAT

- menší buňky
- cytoplazma obsahuje několik lipidových kapek
- kruhovitě jádro
- mitochondrie
  - četné, velké
  - laminární kristy
  - obsahují UCP-1
- multilokulární adipocyty

# Bílý a hnědý adipocyt



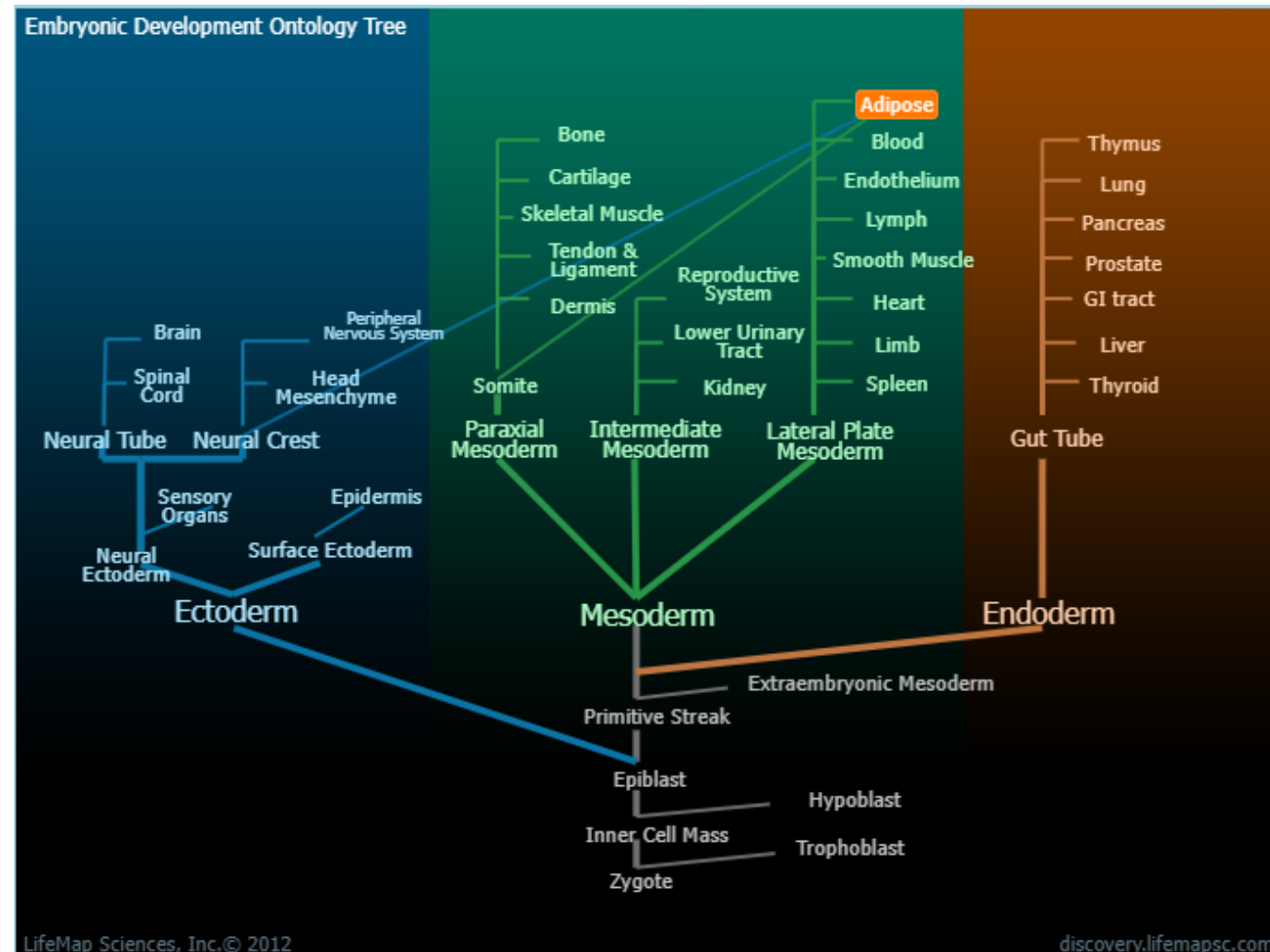




**Figure 5** Light microscope image of white adipose tissue (A) and brown adipose tissue (B).

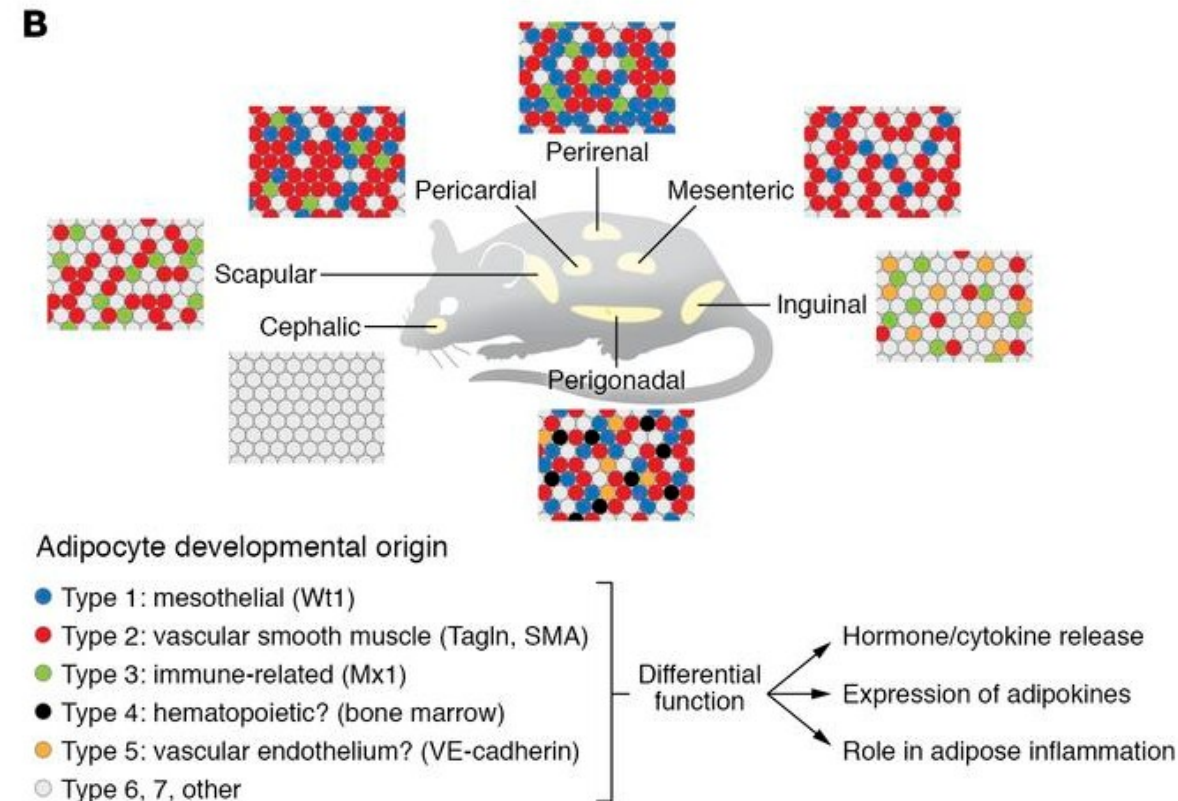
# Původ adipocytů

- Ne zcela jednoznačně pochopený
- Původ pravděpodobně z mezenchymálních kmenových buněk X adipocyty v oblasti hlavy a krku spíše z neuroektodermu
- Více řad prekurzorových buněk - možný podíl na rozdílných vlastnostech jednotlivých tukových dep
- Využití tuku jako zásobního zdroje energie je univerzální vlastností většiny živočichů, vývoj adipocytů a specializované tukové tkáně je však specifický až pro obratlovce.



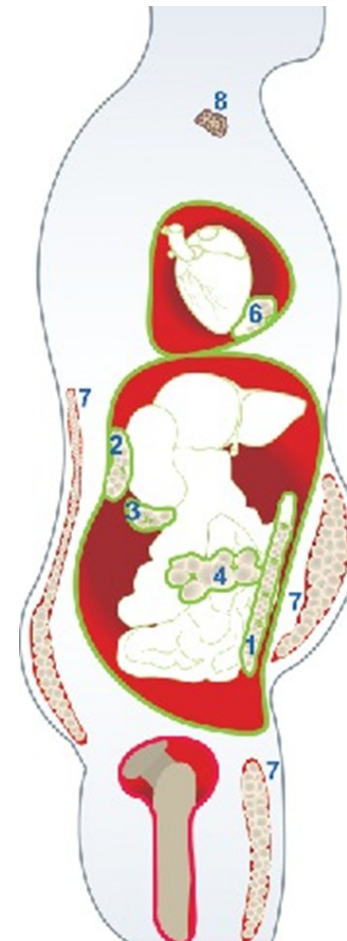
# Tukové kmenové buňky (Adipose progenitor cells - APCs)

- značná heterogenita mezi různými adipózními depy
- APCs izolované z jediného depa VWAT nejsou homogenní populací
- popsány **rozdíly v genové expresi** pro geny zapojené do angiogeneze mezi subkutánními a viscerálními zásobami tukové tkáně
- rozdíly v přítomných APCs mohou mít vliv na chování tukové tkáně při obezitě

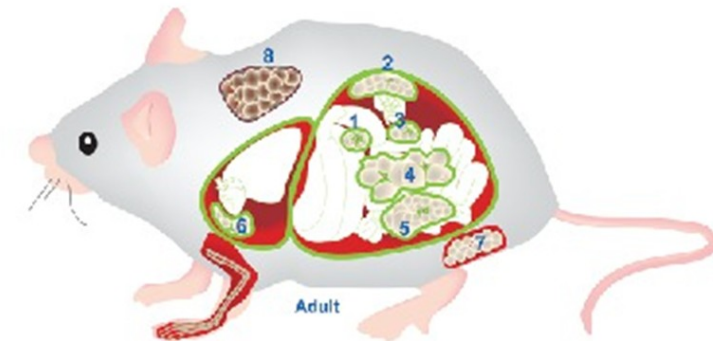


# Tukové kmenové buňky

- Z vývojového i funkčního pohledu tak lze na jednotlivá tuková depa pohlížet jako jednotlivé “mini orgány”
- Lze u nich sledovat odlišné vývojové načasování, odlišné složení z pohledu přítomných buněk i funkční rozdíly
- Jisté rozdíly v tukové tkáni mezi člověkem a myšími modely a využívání několika specifických buněčných linií znesnadňuje přesné pochopení mechanismů adipogeneze



1. Omental
2. Retroperitoneal
3. Perirenal
4. Mesenteric
5. Perigonadal (mouse only)
6. Peri/Epicardial
7. Subcutaneous
8. Brown



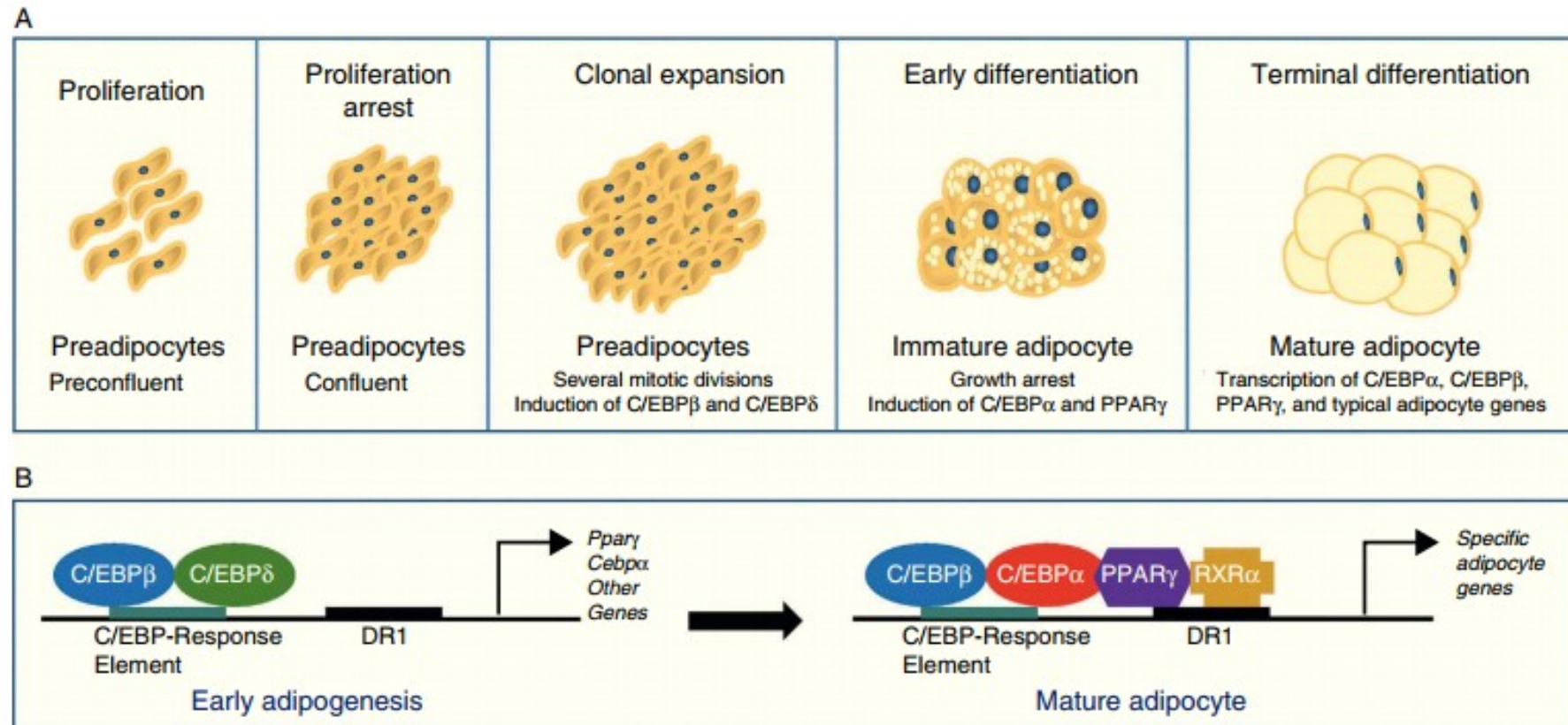
# Adipogeneze

- preadipocyt → stimulace → zralý adipocyt
- vysoce uspořádaný proces, který je zahájen během vývoje plodu a pokračuje po celý život
- hormonální aktivita a **transkripční faktory** ovlivňují diferenciaci z preadipocytů na adipocyty
  
- jaderný hormonální **receptor PPAR $\gamma$** 
  - ústředním regulátorem adipogeneze
  - hraje dominantní roli ve vývoji tukové tkáně
  - více exprimován u mladších, než u starších lidí
  
- k diferenciaci dochází spuštěním kaskády transkripčních dějů, která vrcholí expresí aktivovaného **PPAR $\gamma$**  a CCAAT/enhancer binding proteinu-a (C/EBP-a)

# Adipogeneze II.

- 4 fáze, které jsou charakterizovány různým buněčným složením a stavem diferenciací
  
- 1. Zastavení proliferace
  - **příprava preadipocytu** v přeměnu na adipocyt
- 2. Klonální expanze
  - indukovaná hormonálními signály a reprezentovaná **několika mitotickými děleními** určenými k synchronizaci buněčného cyklu
- 3. Časná diferenciací
  - buněčné dělení zastaveno, charakteristické adipocytární geny se začínají projevovat, **začíná akumulace lipidů**
- 4. Terminální diferenciací
  - **indukce transkripce genů typických pro zralé adipocyty**





**Figure 6** Differentiation of preadipocytes into adipocytes. (A) Scheme of the transition process from preadipocyte to mature adipocyte including the different stages. (B) Sequential model of transcriptional control during adipogenesis.

# Vývojové načasování adipogeneze

- u lidí je vývoj tukové tkáně zahájen během druhého trimestru
- liší se dle jednotlivých druhů a dle anatomického umístění
- v průběhu třetího trimestru lze identifikovat jednotlivá budoucí tuková depa, vyvíjí se však odlišnou rychlostí (funkční rozdíly)
- BAT se vyvíjí dříve než WAT a lze jej snadno detekovat při narození u většiny savců
- subkutánní tuková tkáň se obvykle vyvíjí dříve než abdominální tuková tkáň
- ve stadiích růstu se adipozita zvyšuje hlavně prostřednictvím hyperplazie
- schopnost diferenciacce preadipocytů v dospělosti postupně klesá
- je však zachovaná schopnost obnovy adipocytů
- další zvyšování adipozity na základě hypertrofie?

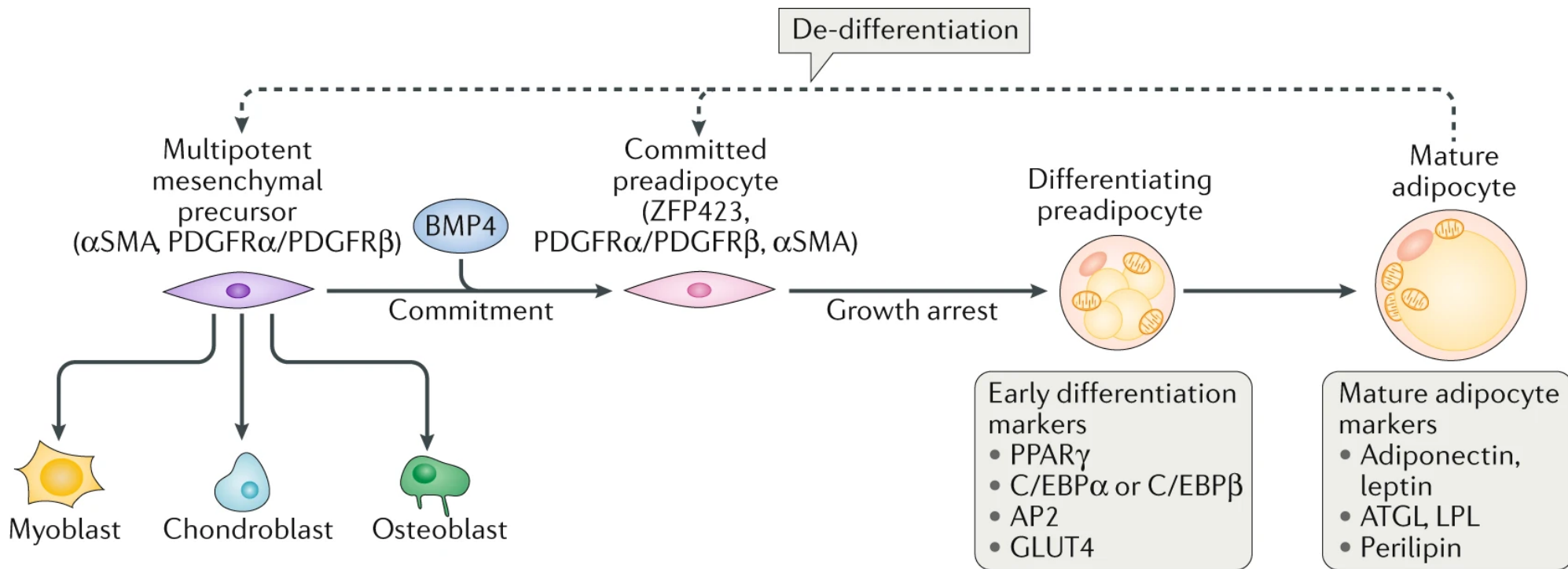


# Počet adipocytů

- objem tukové tkáně u dospělých je dán zvýšením **velikosti** adipocytů (hypertrofie) a zvýšením **počtu** adipocytů (hyperplazie)
  - objem reflektuje rovnováhu v lipidovém metabolismu
  - počet reflektuje rovnováhu mezi proliferací preadipocytů, diferenciací a apoptózou → liší se v závislosti na lokalizaci tkáně
- Aktuální teorie:
  - Fetální adipogeneze a adipogeneze v dospělosti se zřejmě účastní odlišné populace prekurzorových buněk s odlišnými regulačními mechanismy
  - Pravděpodobně souvisí s často udávanou informací o fixaci počtu adipocytů v dětství a spíše konstantním počtem v dospělosti (ne zcela jednoznačné)
  - Význam fetálního vývoje a raného dětství - nedostatečný i nadbytečný příjem energie vede k vyššímu riziku obezity a metabolických komplikací v dospělosti
  - Adipogeneze v dospělosti zachována minimálně v podobě celoživotní obnovy adipocytů - poločas náhrady adipocytů u člověka je přibližně 6 měsíců
  - V rámci stárnutí se však adipogeneze významně zpomaluje

# Počet adipocytů

- I přes rozdíly v adipogenezi v dospělosti a velký význam raného vývoje je důležité nevnímat tukovou tkáň v dospělosti jako zcela inertní
- Adipogeneze je do značné míry i vyvolatelná - **thiazolidindiony** (TZD)
  - à Mechanismus účinku spočívá v aktivaci **PPAR** receptorů (PPAR agonista)
  - à Podpora adipogeneze a maturace adipocytů - sekvestrace mastných kyselin z krevního řečiště a snižování inzulínové rezistence
  - à Viz dále
- Dospělé adipocyty jsou navíc schopné zpětné dediferenciace na preadipocyty či až prekurzorové buňky v souvislosti s hojením ran či indukci laktace
- Při úspěšném snižování hmotnosti u obézních jedinců však neproběhla měřitelná dediferenciace



# Bílá tuková tkáň (WAT)

- pouze **třetina WAT tvořena adipocyty**, zbytek tvoří fibroblasty, **makrofágy** (a jiné leukocyty), stromální buňky, preadipocyty,...
- rozdíly v přítomných buňkách závisí na anatomické lokalizaci WAT
- zvýšená velikost adipocytů, přítomnost většího množství a specifických druhů lymfocytů, infiltrace makrofágy a další změny úzce souvisí s rozvojem metabolického syndromu
- hlavní **zásobárna energie**, izolace a mechanická ochrana orgánů, endokrinní funkce
- menší inervace a vaskularizace než BAT

# Druhy WAT I.

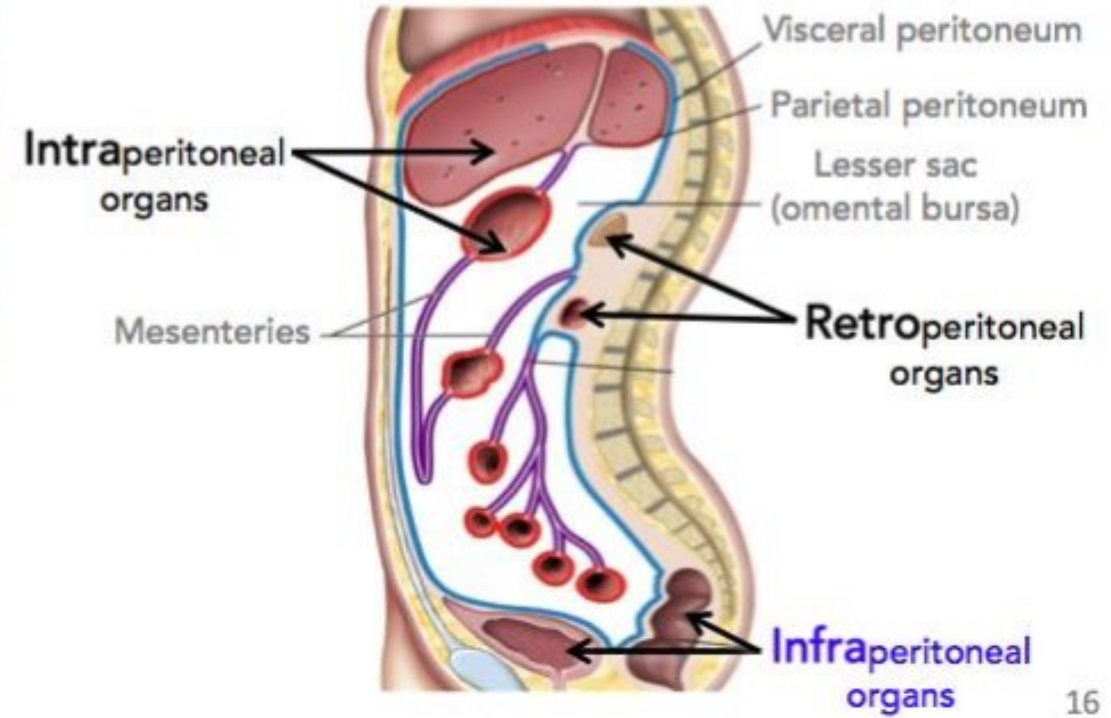
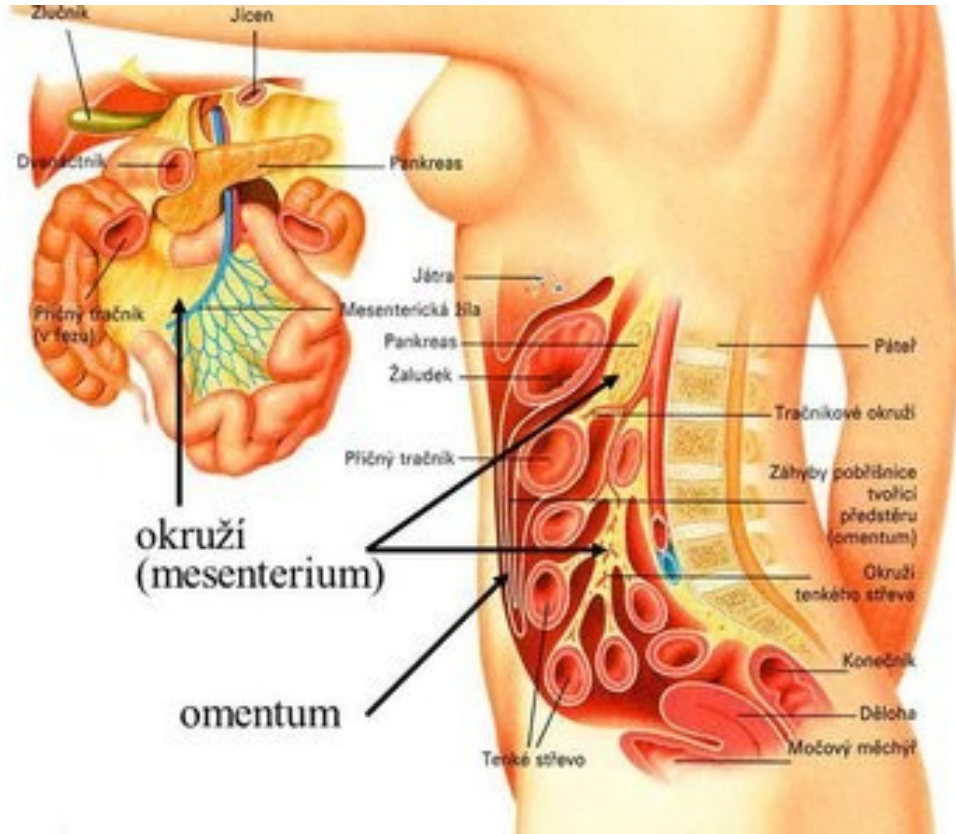
## □ subkutánní (SWAT)

- podkožní tuk
- za normálních okolností cca 80 % z celkového množství
- zodpovědný za odlišné tělesné složení mužů a žen
- ochranný charakter
- přispívá k regulaci teploty a k tepelné izolaci → na indukci se zřejmě podílí expozice chladu
- nižší obrát lipidů a vylučování volných mastných kyselin
- nižší míra hyperplazie v porovnání s VWAT
- vyšší produkce adiponektinu
- hýždě, stehna, břicho, dlaně, chodidla

# Druhy WAT II.

## viscerální (VWAT)

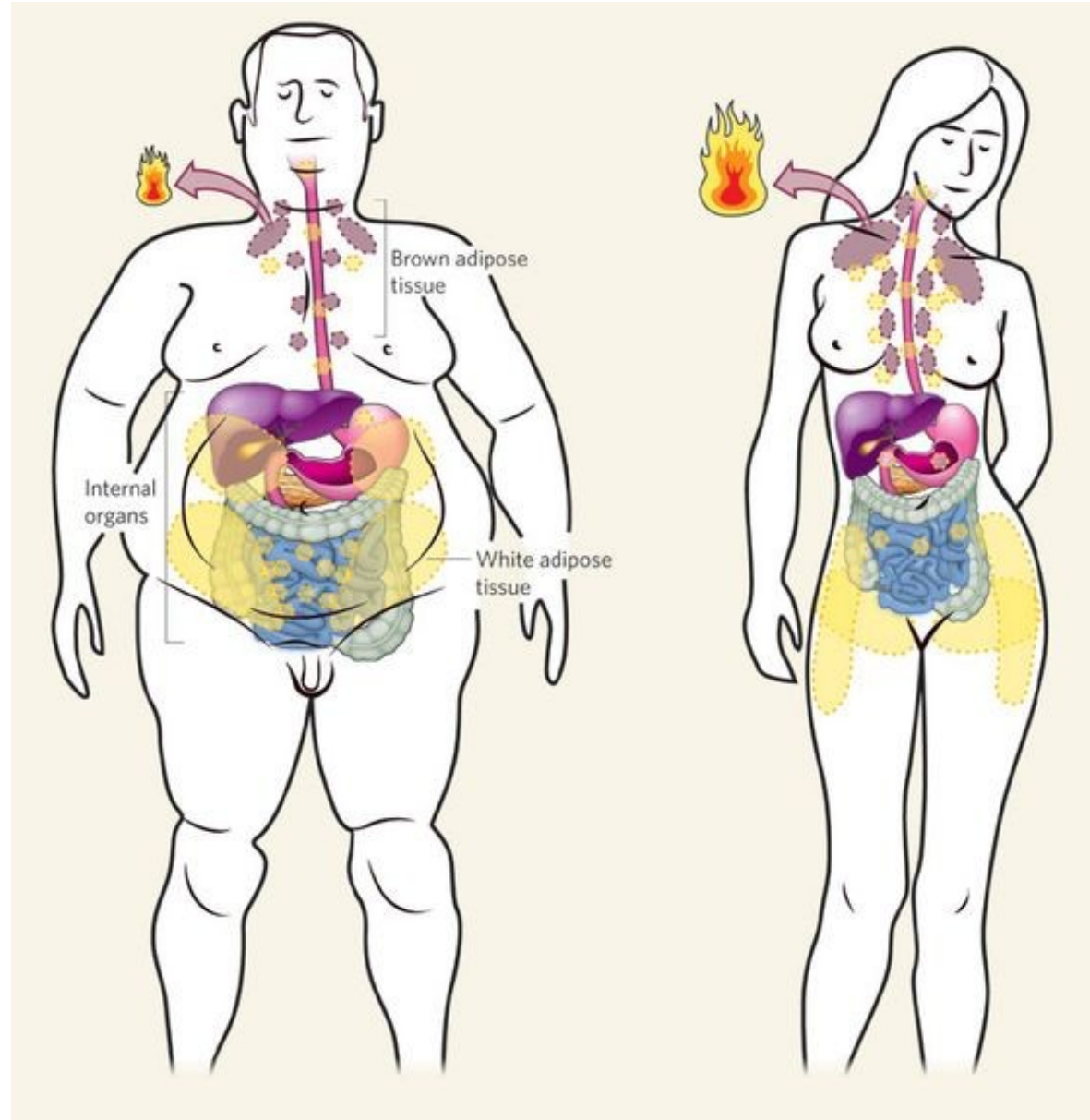
- distribuován v tělní dutině kolem orgánů
- za normálních okolností do 20 %
- vyplňuje prostor mezi orgány a udržuje je v odpovídající poloze
- největší ložiska se nacházejí kolem **omenta**, mesenteria, retroperitoneální oblast,
- perikardiální, perivaskulární nebo periarteriální, periartikulární, retroorbitální, intramuskulární, atd.
- nadbytečný VWAT je spojen s insulinovou rezistencí a metabolickými onemocněními a patologickými stavy spojenými s obezitou
- vyšší obrát adipocytů, míra lipolýzy a uvolňování FFA
- vyšší míra uvolňování některých adipokinů



# Distribuce WAT

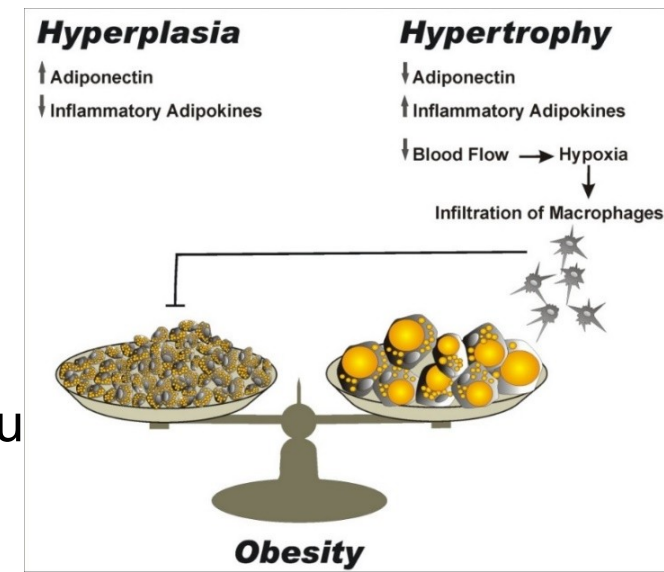
- rozložení WAT se mění s věkem
- genetické faktory
- zvyšování intraabdominálního tuku a snižování podkožního tuku (i u osob se stabilní hmotností a BMI)
- **ženy**: vyšší tělesná akumulace v oblasti hýždí a stehen (gynoidní typ)
  - gluteální adipocyty jsou větší u žen než u mužů
- **muži** mají vyšší tělesnou akumulaci v horní části těla (androidní typ)
  - vyšší riziko metabolických komplikací
  - viscerální adipocyty (mesenterální a omentální) jsou větší u mužů
- množství viscerálního tuku má prokazatelnou spojitost s inzulinovou rezistencí
  - pokud se snížilo množství viscerálního tuku (nikoliv podkožního), tak se IR zlepšila
  - nicméně to neznamená, že subkutánní tuková tkáň nepřispívá k metabolickým abnormalitám, když dochází k nárůstu tělesné hmotnosti





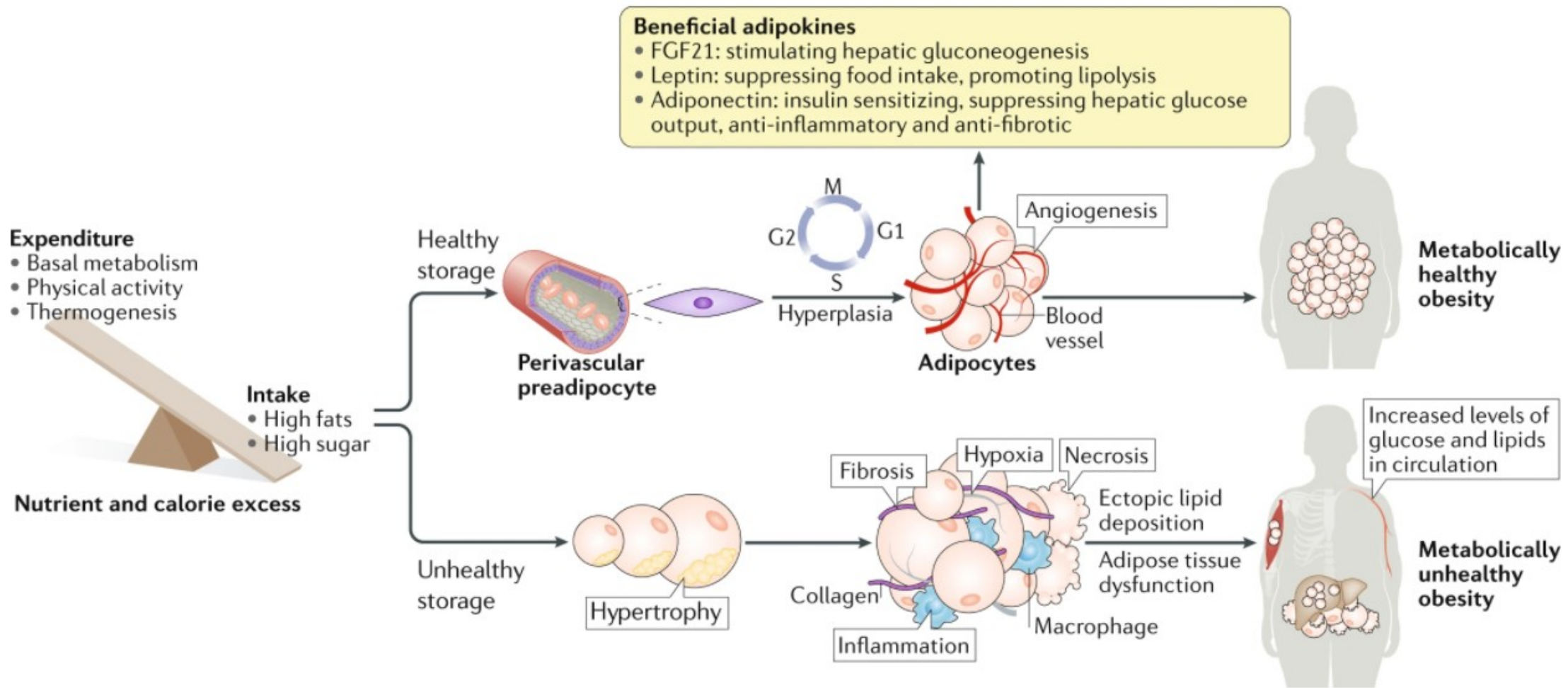
# Tuková tkáň při obezitě I.

- Obecná definice obezity vychází z "nadměrného ukládání tělesného tuku" - význam spočívá spíše v metabolických změnách
- Hyperplázie (zmnožení adipocytů) i hypertrofie (akumulace lipidů a nárůst velikosti adipocytů) jsou v obou případech zcela fyziologické metody akumulace tuku, jejichž podíl na akumulaci se liší v závislosti na jedinci a anatomické lokalizaci tukové tkáně
- Při nadměrné akumulaci tuku však hypertrofie vede k dosažení terminální velikosti adipocytu a selhání jeho funkce
- Na metabolických abnormalitách při obezitě se tak zřejmě podílí:
  - narušena rovnováha v řízení metabolismu lipidů (lipolýza, lipogeneze)
  - narušení transkripční regulace klíčových faktorů řídících adipogenezi
  - nedostatečná citlivost na vnější signály, selhání procesu přenosu signálu



# Tuková tkáň při obezitě II.

- Nárůst tukové tkáně a hromadění v organismu není prosté zmnožení buněk
- Pro dobrou funkci je potřeba bohaté cévní zásobení (neoangiogeneze) → prorůstání cév pro zásobování buněk
- Nadměrná hypertrofie vede k nedostatečné perfuzi tukové tkáně kyslíkem a selhání angiogeneze
- Tuková tkáň při pokročilé obezitě je hypoxická, infiltrovaná buňkami imunitního systému (monocyty, makrofágy, neutrofilové, ... - až 40 % buněčné frakce tukové tkáně při pokročilé obezitě)
- Chemoatraktivní působky buněk imunitního systému podporují další infiltraci – pozitivní zpětná vazba
- Prohlubující se zánět dále prohlubuje dysfunkci tukové tkáně, včetně změn v genové expresi



# Makrofágy

- intenzivní výzkum – ovlivnění metabolických a endokrinních funkcí
- klasicky aktivované makrofágy M1 – prozánětlivé a imunitní funkce
- alternativně aktivované M2 – protizánětlivá odpověď
- předpoklad trofického vlivu na vývoj tukové tkáně → makrofágy jsou hlavním zdrojem faktorů ovlivňujících angiogenezi a mohou nepřímo zprostředkovat expanzi tukové tkáně

## □ Makrofágy při obezitě:

- zánětlivé makrofágy M1 se hromadí v tukové tkáni během obezity a tím podporují inzulínovou rezistenci (podle novějších výzkumů specifická skupina „metabolicky aktivních M1“ se specifickým prozánětlivým profilem)
- alternativní aktivací M2 se zachovává citlivost na inzulín prostřednictvím mechanismu závislého na PPAR

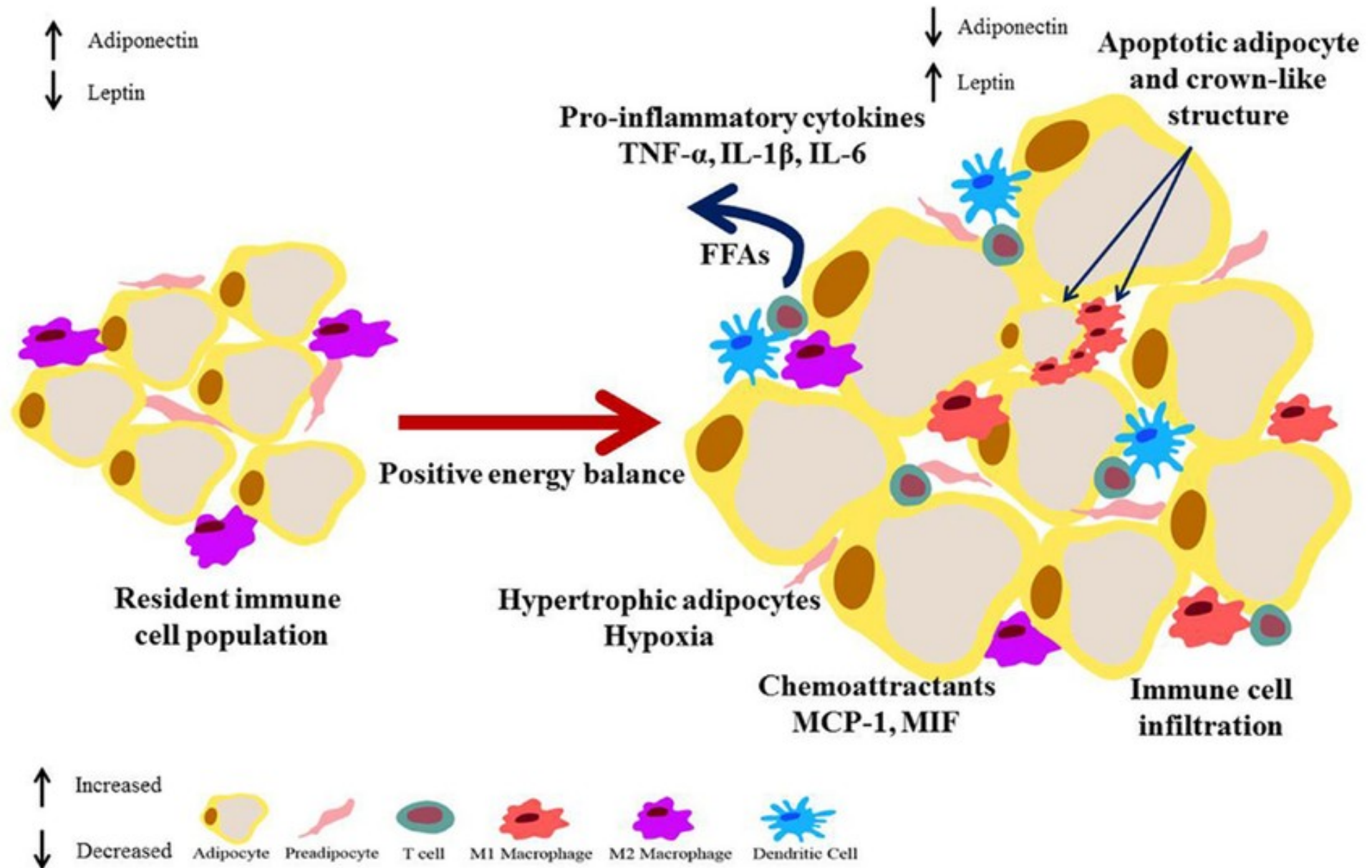
# Makrofágy při obezitě

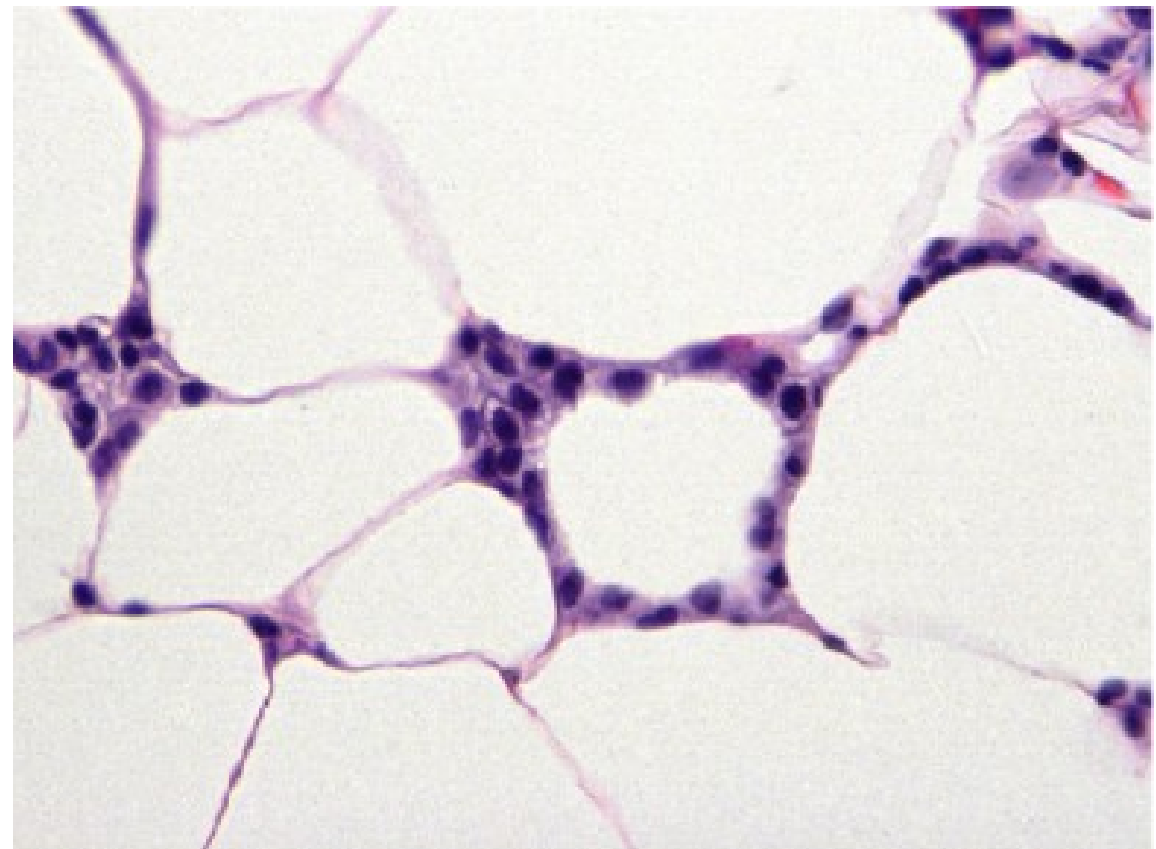
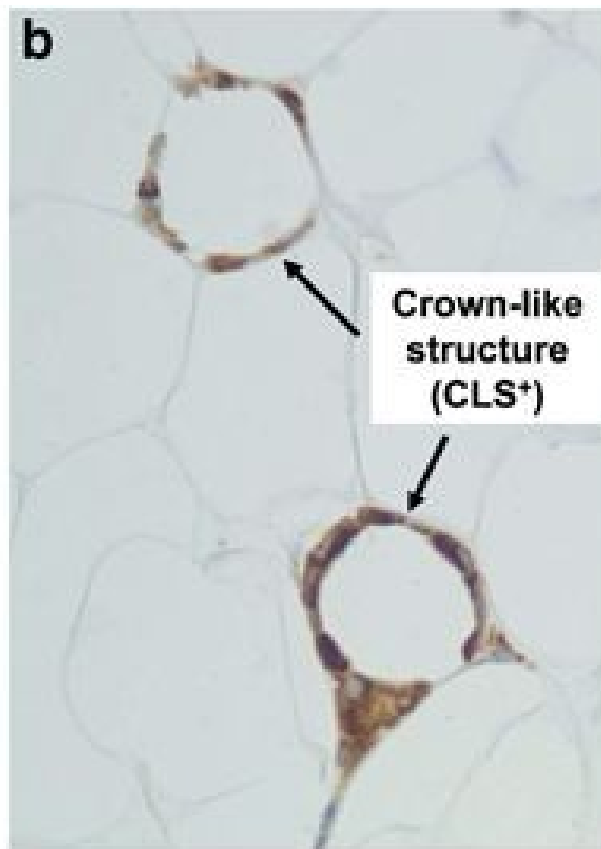
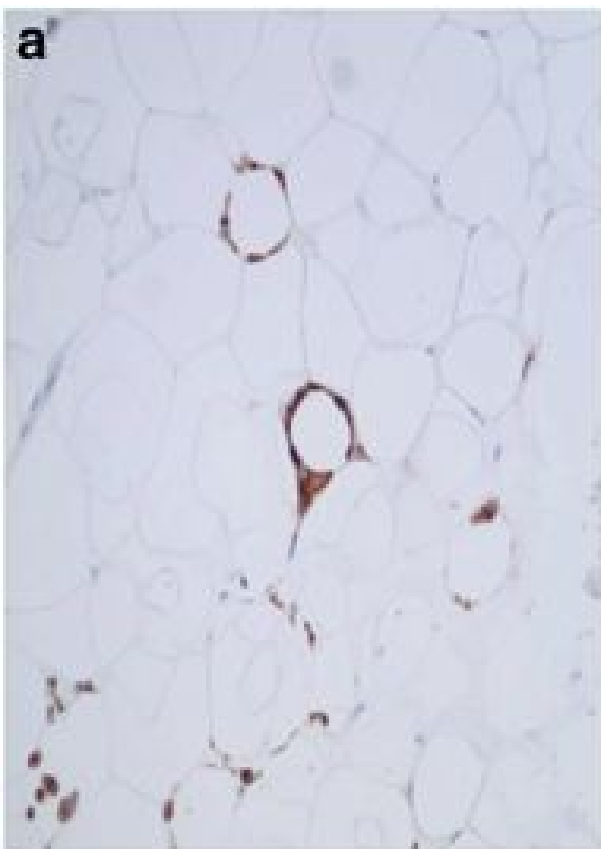
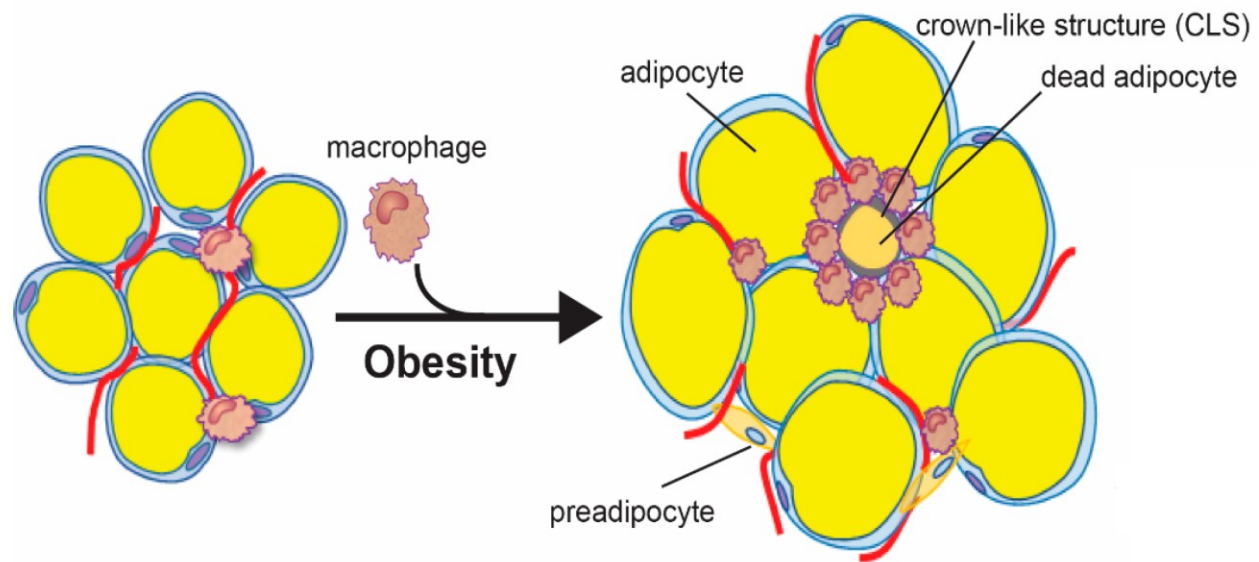
- hypertrofie tukových buněk vede k postupné fibrotizaci, hypoxii, zánětu a apoptóze adipocytů kritické velikosti, ale i nekrotickým změnám
- odumřelé adipocyty jsou obklopeny a postupně je odstraňovány makrofágy
- struktury odstraňování adipocytů se často nazývají „korunkovité struktury“ (**crown-like structures**)
- tvorba těchto CLS vyvolává lokální zánětlivou odpověď → zhoršuje fungování blízkých adipocytů, infiltrace dalších buněk imunitního systému
  
- **záněť** narušuje rovnováhu mezi skladováním a mobilizací MK a **přispívá k produkci lipidových mediátorů, které narušují signalizaci inzulínu**
- **fibróza** tukových buněk podporuje zánětlivé reakce a **zvyšuje rezistenci na inzulín** v tukové tkáni



Lean adipose tissue

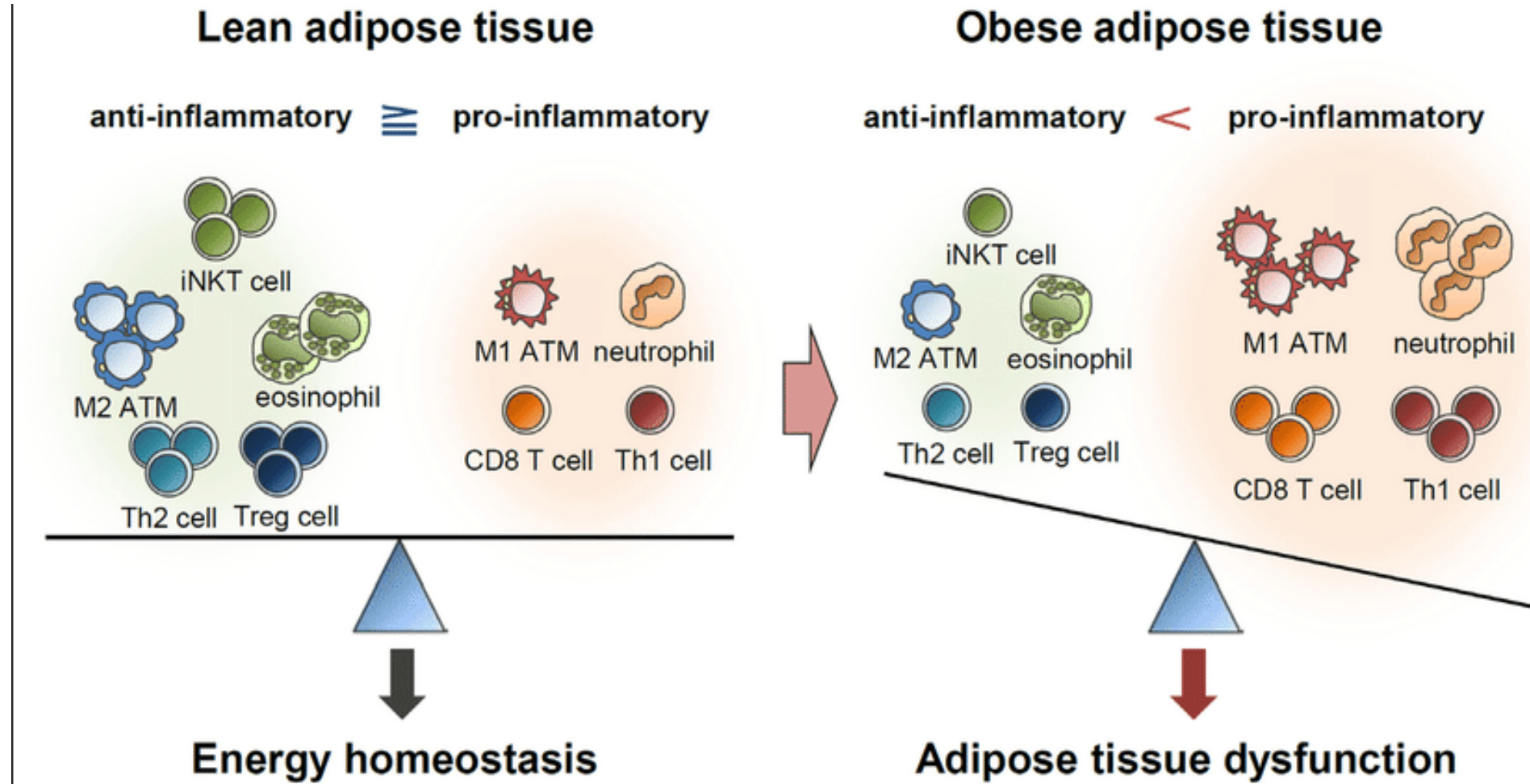
Obese adipose tissue







# Imunitní odpověď tukové tkáně



# Tuková tkáň při obezitě III.

- obézní jedinci mají více adipocytů než štíhlí jedinci → hyperplazie musí hrát roli v expanzi WAT během obezity
- experimenty na myších:
  - vysokotučná strava → výrazný nárůst tvorby nových adipocytů v perigonadálním VWAT, ale ne ve SWAT
  - viscerální depot expanduje hyperplasií, zatímco subkutánní depot ne
  - (spojeno s výsledky in vivo, které prokázaly zvýšení proliferace viscerálních prekurzorových buněk adipocytů)
- **protichůdné studie:** při vysokotučném krmení přispívá hyperplazie k expanzi SWAT více než k expanzi VWAT
- faktory ovlivňující expanzi WAT: věk, kmen a pohlaví myší, metody používané k hodnocení adipogeneze, atd..
- u samců myší je adipogeneze zvýšena u VWAT (při vysokotučné potravě), ale nikoli u SWAT
- u samic myší je adipogeneze zvýšena v depotech SWAT a VWAT (při vysokotučné potravě)
- à důsledek vlivu pohlavních hormonů na adipogenezi – muži mají častěji „androidní obezitu“, ženy „gynoidní“ – spíše subkutánní tuk - po menopauze dochází ke změně distribuce ve prospěch viscerálního tuku

# Tuková tkáň při obezitě IV.

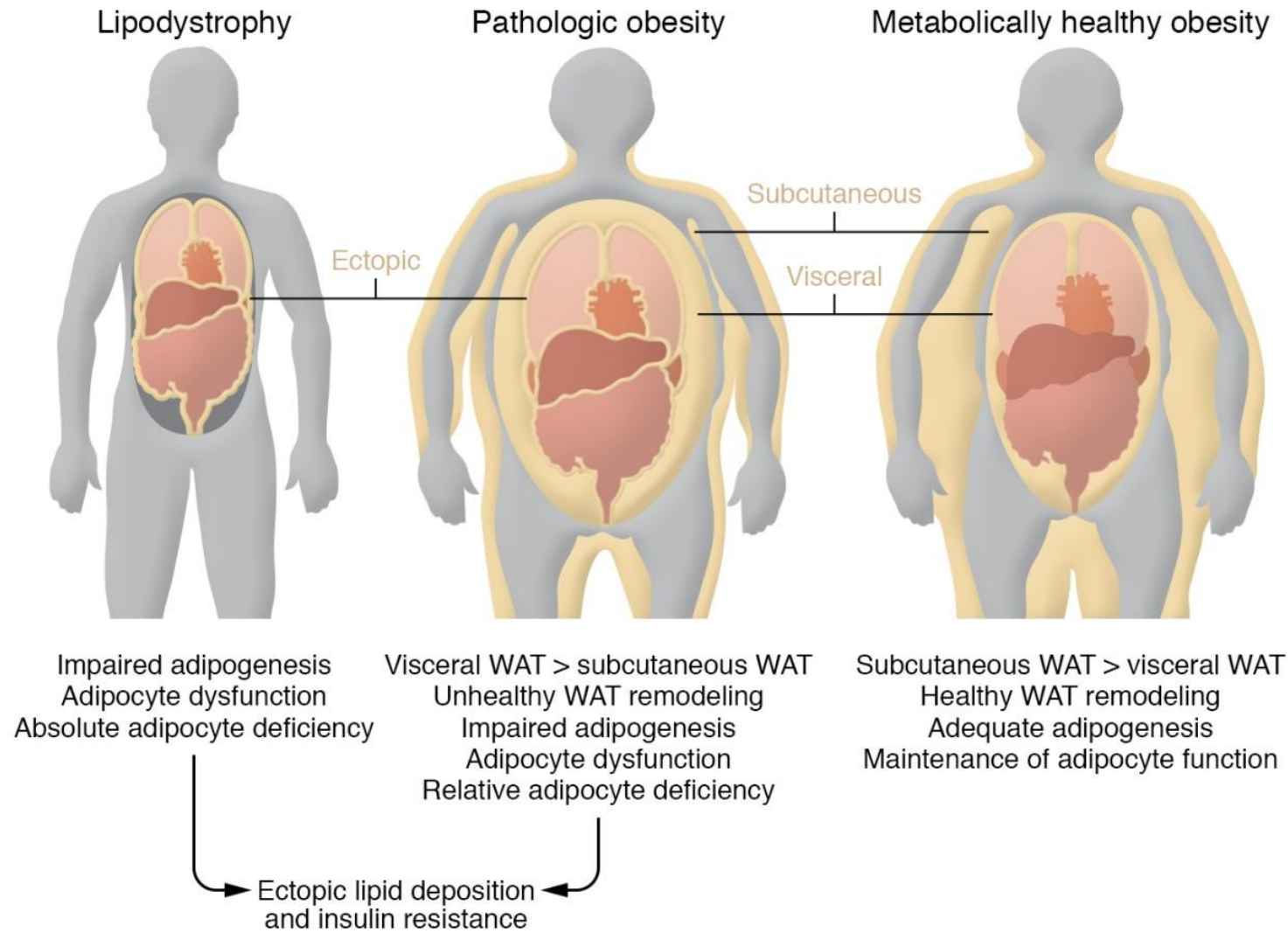
- Odlišná schopnost SWAT expandovat **hyperplázií** má velmi pravděpodobně značný vliv na **metabolické komplikace** obezity ("nezdravá" androidní obezita)
- Minimální schopnost hyperplázie SWAT na myšších modelech je pravděpodobně dána využíváním linií selektovaných pro sledování metabolických komplikací a IR
- Za normálních okolností lze předpokládat **hyperplastické** zmnožení SWAT jako **metabolicky protektivní** adaptaci na zvýšený příjem energie - stejný princip jako TZD, jejichž užívání vede ke zmnožení SWAT u diabetiků, avšak současně snížení rizika metabolických komplikací
- Na metabolickém riziku vycházejícím z obezity se tak zřejmě podílí řada faktorů souvisejících s adipogenezí, zejména ve SWAT - pohlaví, genetika, buněčná signalizace,.. (+ prostředí?)

# Inzulinová rezistence I.

- Tento závěr podporuje také pozorování metabolických komplikací u pacientů s lipodystrofií (vrozená částečná nebo úplná ztráta adipogeneze)
- Neschopnost ukládat lipidy a jejich ektopická akumulace a **lipotoxicita** v periferních tkáních vede ke klinickému obrazu inzulinové rezistence obdobnému k DM 2. typu
- Některé studie tak nahlíží na obezitu jako "**relativní lipodystrofii**" - neschopnost adipogeneze v SWAT v době nadměrného příjmu energie vedoucí k neschopnosti využít energetické substráty a **patologické remodelaci** tukové tkáně a **metabolickým komplikacím**

# Inzulinová rezistence II.

- Lokální záněť a dysfunkce hypertrofických adipocytů vede ke vzniku IR v tukové tkáni
- Neschopnost ukládat další MK a glukózu a poruchy metabolismu tuků v adipocytu – dyslipidémie a ektopická akumulace tuků až **lipotoxicita** v dalších tkáních (játra, sval, slinivka, srdce – vznik IR v těchto tkáních, funkční změny, apoptóza) – projeví se jako klinický obraz metabolického syndromu (viz další přednášky)
- Existuje řada teorií o lipotoxicitou vyvolané IR (volné mastné kyseliny – FFA, diacylglyceroly, ceramidy) základní myšlenkou je však vždy absolutní či relativní nadbytek a „spillover“ energetických substrátů
- Další podíl na vzniku IR také chronický záněť, adipokiny,...
- Rozdíly v **adipogenezi** tak pravděpodobně vysvětlují i „metabolicky zdravou“ periferní obezitu a její přechodný charakter, stejně jako IR a metabolická onemocnění **bez přítomnosti významné obezity**



# Produkce látek ve WAT

- kvantitativně nejdůležitější – **mastné kyseliny**
- **další molekuly lipidů** včetně prostanoidů, cholesterolu, retinolu a steroidních hormonů (pohlavní hormony a glukokortikoidy)
  
- výskyt různých látek ve WAT od neaktivních až po aktivní formy
- mohou mít významné autokrinní a parakrinní funkce
  
- **adipokiny**
  - sekretované adipocyty, ale i jinými buňkami např. infiltrovanými makrofágy

# Adipokiny

➤ látky bílkovinné povahy různých chemických struktur (více jak 50 látek)

## □ různé fyziologické role:

□ imunitní systém (včetně klasických cytokinů jako jsou TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-4, IL-13 a MCP-1)

➤ **podporuje vztah mezi chronickým zánětem a obezitou** (zvýšení prozánětlivých adipokinů)

□ regulace **příjmu energie**: leptin

□ regulace **krevního tlaku**: angiotensinogen

□ regulace **metabolismu lipidů**: retinol binding protein (RBP-4), cholesterol ester transfer protein (CETP)

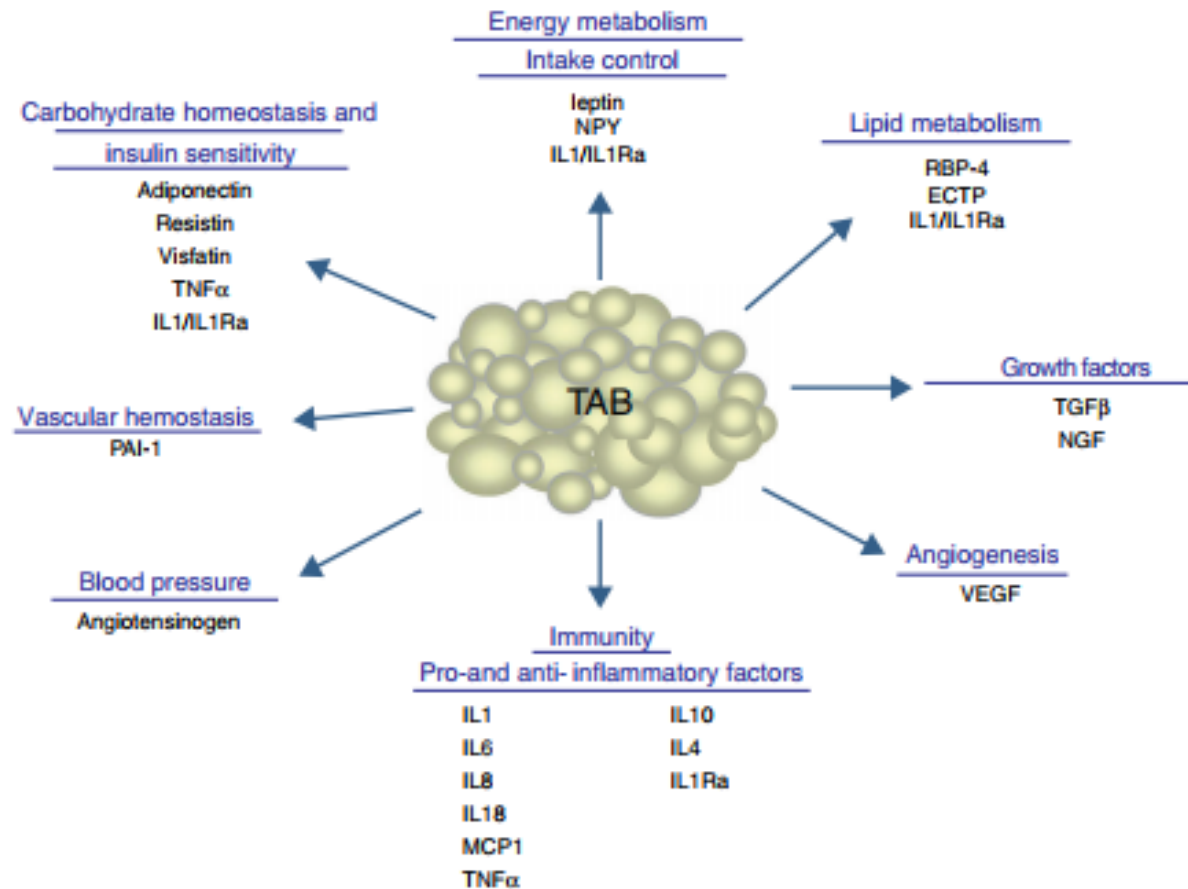
□ regulace **metabolismu sacharidů (IR)**: adiponektin, resistin, visfatin, omentin, chemerin,...

□ **angiogeneze**: vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF)

□ Regulace **adipogeneze a plasticity tukové tkáně**: BMP-4/-7 a Gremlin-1

□ mnohé jsou syntetizovány i v BAT (avšak obecně odlišný sekreční profil oproti WAT)





**Figure 1** Physiological and metabolic processes regulated by WAT by adipokine secretion. CETP: cholesterol ester transfer protein; IL1: interleukin 1; IL1Ra: interleukin receptor antagonist-1; IL4: interleukin 4; IL6: interleukin 6; IL8: interleukin 8; IL10: interleucin-10; IL18: interleukin-18; MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1; NGF: nerve growth factor; NPY: neuropeptide Y; RBP-4: retinol binding protein-4; TGF $\beta$ : transforming growth factor  $\beta$ ; TNF $\alpha$ : tumor necrosis factor alpha; VEGF: vascular endothelial growth factor.

# Funkce WAT

= aktivní endokrinní orgán → znaky vychází z produkovaných působků:

- vliv adipokinů na metabolismus, citlivost na inzulín, vaskulární homeostázu, angiogenezi, zánět a imunitní buňky
- akumulace VWAT je doprovázena hypertrofií adipocytů a nadprodukcí prozánětlivých a proaterogenních molekul (resistin, visfatin, vaspin, TNF, ILE-6, atd.)
- adipokiny tedy představují **skupinu informačních biomarkerů pro diagnostiku metabolických poruch** a předpovědi výsledků širokého spektra onemocnění
  - intenzivní výzkum
  - kromě diagnostického využití i značný farmakologický potenciál

**Table 1** Adipokines secreted by white adipose tissue and physiological function.

Adipokine	Function
Leptin	Intake control, fat deposition, inflammation
Neuropeptide Y (NPY)	Preadipocyte proliferation
Adiponectin	Insulin sensitivity, inflammation
Resistin	Insulin sensitivity, inflammation
Visfatin	Insulin sensitivity, inflammation
Omentin	Insulin sensitivity
Vaspin	Insulin sensitivity
Apelin	Vascular homeostasis (vasodilation), insulin sensitivity?
Adipsin	Inflammation
Cholesterol ester transfer protein (CETP)	Lipid metabolism
Lipoprotein lipase (LPL)	Lipid metabolism
Hormone-sensitive lipase (HSL)	Lipid metabolism
Apolipoprotein E (ApoE)	Lipid metabolism
Retinol binding protein-4 (RBP-4)	Lipid metabolism
Angiotensinogen	Vascular homeostasis
Angiotensin II	Vascular homeostasis
Angiotensin-converting enzyme (ACE)	Vascular homeostasis
Plasminogen activator inhibitor (PAI-1)	Vascular homeostasis
Interleukins (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18)	Inflammation; IL-1 $\beta$ is also involved in energy metabolism, insulin sensitivity, and intake control
C-reactive protein (CRP)	Inflammation
Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )	Inflammation, insulin sensitivity
Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)	Macrophage incorporation into tissue
Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)	Macrophage activation
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	Angiogenesis
Transforming growth factor beta (TGF $\beta$ )	Cell migration and adhesion, cell growth and differentiation
Insulin-like growth factor type I (IGF-I)	Lipid metabolism, insulin sensitivity
Nerve growth factor (NGF)	Tissue growth and differentiation
Fibroblast growth factor (FGF)	Proliferation and differentiation, angiogenesis
Prostaglandin E2	Vascular homeostasis, inflammation
Prostaglandin I2	Vascular homeostasis, inflammation

# Leptin I.

- První objevený adipokin (1994), jehož popsání nastartovalo výzkum adipokinů a významně posunulo chápání obezity a tukové tkáně (ob linie myšších modelů)
- Produkt bílé tukové tkáně, který dobře koreluje s celkovou adipozitou
- Fyziologická funkce pravděpodobně protektivní proti nadměrnému příjmu energie v období nadbytku a souvisejícím metabolickým komplikacím
  - Homeostatická regulace příjmu potravy – vyšší hladiny leptinu = pocit sytosti
  - Senzitizace periferních tkání vůči inzulínu (glc do svalů), termogenní aktivita tukové tkáně
  - Účast na regulaci imunitního systému (imunoprese při hladovění?)
- Dodání rekombinantního leptinu u obézních však bez efektu – dlouhodobé vyšší hladiny zřejmě souvisejí s leptinovou rezistencí (přesný mechanismus není jednoznačně popsán)
- Aktuálně spíše významný marker adipozity a rizika metabolických komplikací
  - Pravděpodobně přispívá k rozvoji hypertenze asociované s obezitou
  - Hraje roli v aktivaci imunitní odpovědi: stimulace proliferace T-lymfocytů, IL-6 a dalších prozánětlivých látek

# Leptin II.

## □ U pacientů s DM II

- pozitivní korelace s TAG, lipoproteinem (a) [Lp (a)], Apo-A1, glukózou, systolickým krevním tlakem a diastolickým krevním tlakem
- Negativní korelace s hladinami HDL
- IR nepřímo přispívá k hyperleptinemii: hyperinzulinémie – vede pravděpodobně ke zvýšení exprese obesogenního genu a vyšším hladinám leptinu
- vztah inzulinu a leptinu – může odrážet velikost zásob v tukové tkáni
- chronicky vyšší hladiny leptinu u obézních – snížená citlivost pankreatických  $\beta$ -buněčných receptorů – zvýšená sekrece inzulinu
- hyperinzulinémie může zhoršit obezitu a dále zvyšovat hladinu leptinu – diabetogenní smyčka pozitivní zpětné vazby

# Adiponektin I.

- Syntetizován výhradně v adipocytech a jeho syntéza je narušena při dysfunkci adipocytů
  - Hladiny v plazmě stabilně negativně korelují s obezitou, akumulací viscerálního tuku, dyslipidemií atd. → nižší hladiny markerem MS
  - antiaterogenní, antiapoptické, antidiabetické a protizánětlivé vlastnosti
  - Studie diskutují i hypoadiponektinemii v patogenezi DM2 a hypertenze
  - Vysoké hladiny adiponektinu byly spojeny se sníženým rizikem ICHS i IM
- Protizánětlivé působení pomocí tří receptorů (AdipoR1, AdipoR2 a T-kadherin):

- aktivace AdipoR1 a R2
  - zvýšená oxidace MK v játrech a svalech
  - zvýšenou produkci laktátu ve svalech
  - snížená glukoneogeneze v játrech a zvýšená absorpce glukózy v buňkách
  - inhibici zánětu a oxidačního stresu

# Adiponektin II.

- Aterogeneze
- adiponektin inhibuje expresi adhezních molekul v endotelových buňkách a inhibuje proliferaci buněk hladkého svalstva → Inhibuje přeměnu monocytů na makrofágy a tvorbu pěnových buněk a sekreci TNF- $\alpha$
- zvyšuje sekreci endoteliálního NO
- zvýšené hladiny adiponektinu souvisí se zlepšením diferenciací preadipocytů na adipocyty (u obézních jedinců je proces obvykle narušen)
- zvýšení adiponektinu podporuje redukce tělesné hmotnosti, popřípadě thiazolidindiony podporují zvýšenou sekreci adiponektinu aktivací PPAR- $\gamma$  v adipocytech

# Poměr leptin vs. adiponektin

- protichůdné účinky na subklinický zánět
- leptin – prozánětlivý vs. adiponektin – protizánětlivý
  
- různé studie:
  - poměr leptinu a adiponektinu interaguje navzájem při modulaci rizika DM2
  - inverzní vztah mezi leptinem a adiponektinem u pacientů s DM2, obezitou a KVO
  - souvislost rizika DM 2 s poměrem leptin/adiponektin → silnější než u samotného leptinu nebo adiponektinu
  
- poměr L / A může být užitečným indexem pro IR v klinické praxi
- indikátorem pro hodnocení účinnosti antidiabetické léčby

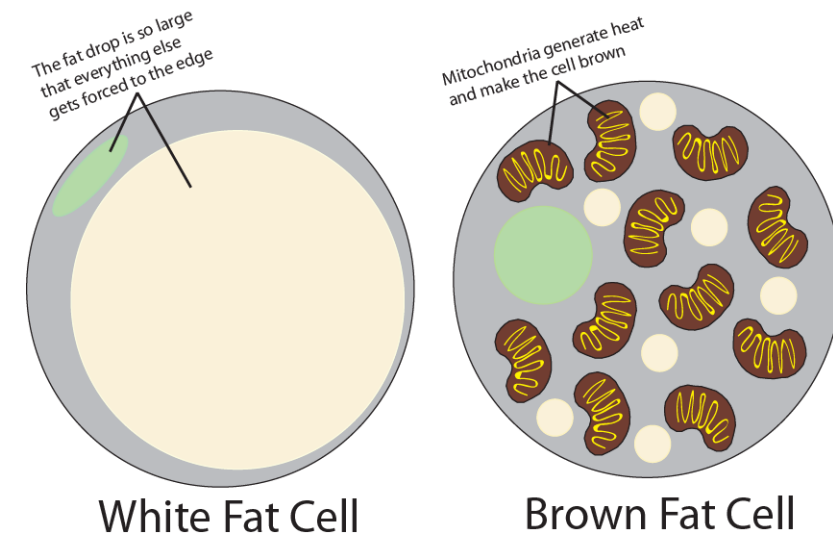


# Funkce WAT dle lokalizace

- WAT v prsou a hýždích je vysoce citlivá na estrogeny
- WAT v horní části zad a okolí krku je citlivější na glukokortikoidy
- VWAT (intraabdominální) se podílí na sekreci adipokinů souvisejících se zánětem a diabetem 2. typu
- SWAT vykazuje menší sekreci prozánětlivých adipokinů
  
- **perivaskulární WAT**
  - popsán **prozánětlivý** sekreční profil podobný profilu VWAT
  - perivaskulární (periarteriální) WAT může vzniknout jako fyziologický mechanismus pro regulaci distribuce krevního oběhu mezi orgány a uvnitř orgánů
  - vyšší periarteriální WAT – škodlivý
  - v podmínkách nadbytečné energie – zvýšení usazenin – zvýšená produkce prozánětlivých adipokinů → **podpora vývoje aterosklerózy**

# Hnědá tuková tkáň (BAT)

- Výrazně vyšší **inervace** a **vaskularizace** oproti WAT
- Hustá kapilární síť:
  - zásobuje adipocyty substrátem a kyslíkem pro oxidaci
  - efektivní distribuce tepla do zbytku těla
- Funkční rozdíl dán přítomností hnědých adipocytů
  - **zvýšený výdej energie a produkce tepla**
    - působením tzv. rozpojovacího proteinu-1 (UCP-1)
  - schopnost přímo využít glukózu a MK
  - význam v dětském věku X funkce zachovaná a indukovatelná v dospělosti
    - BAT získává pozornost jako možnost terapeutického zásahu pro obezitu a metabolická onemocnění včetně DM II



# Dýchací řetězec

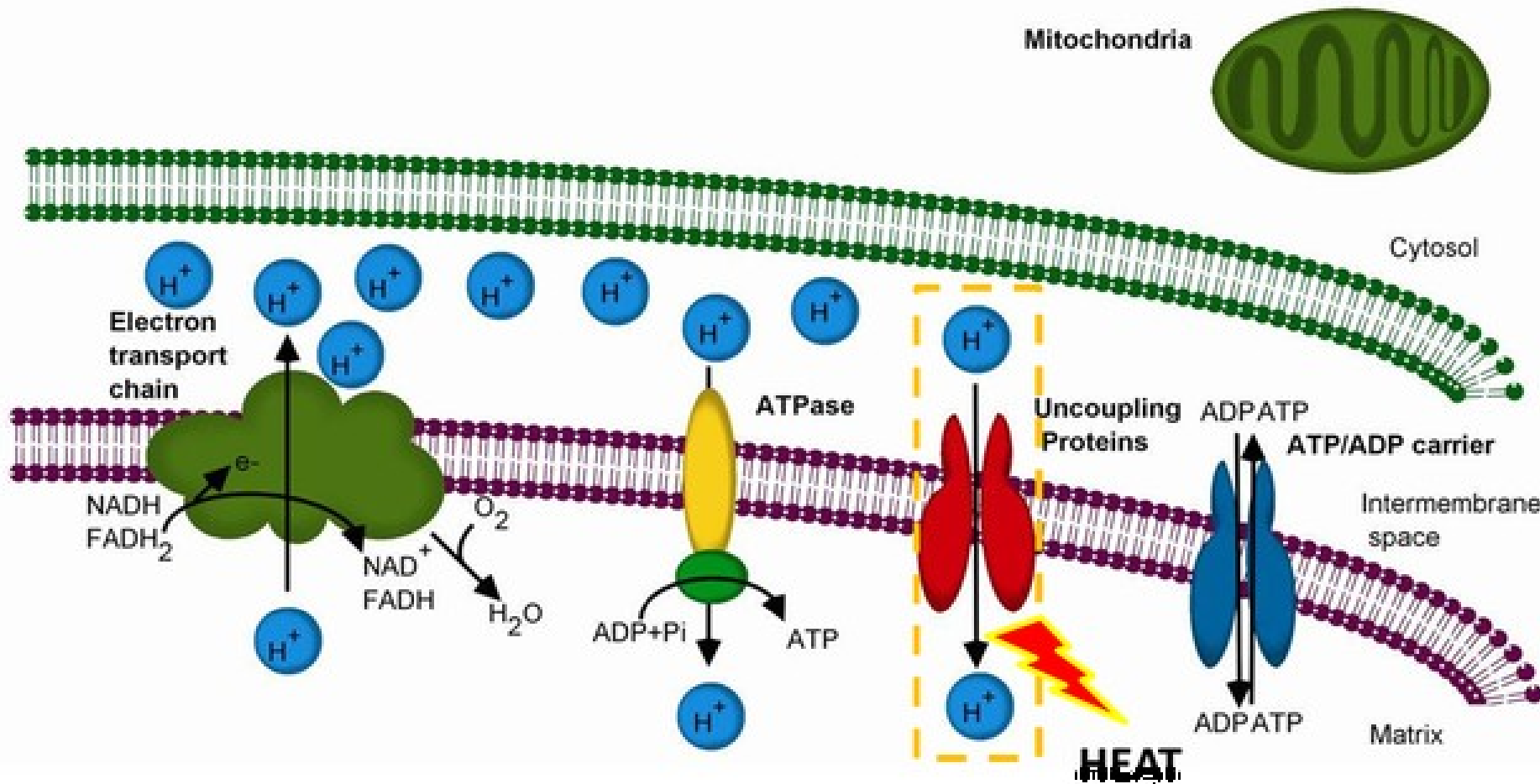
- vnitřní membrána mitochondrií
- využití redukovaných koenzymů (z CC a  $\beta$ -oxidace), přenosu elektronů a protonů přes specifické komplexy
- produktem DŘ je **energie ve formě ATP, teplo a voda**
- **složky DŘ:** NADH+H<sup>+</sup> , FADH<sub>2</sub> , koenzym Q, FeS-protein, cytochromy, transmembránové komplexy (I-IV)
- **výsledek DŘ**
  - přenesení 10 H<sup>+</sup> do intermembránového prostoru v případě použití NADH+H<sup>+</sup>
  - přenesení 6 H<sup>+</sup> v případě použití FADH<sub>2</sub>
  - aerobní fosforylace, kdy F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPasa propouští protony do matrix mitochondrie za tvorby ATP → za každé **4 protony se vytvoří 1 ATP**

# Uncoupling protein UCP-1

= tzv. rozpojovací protein

- patří do pětičlenné rodiny UCPs
  - dosud identifikováno 5 homologů UCPs v lidské tukové tkáni
  - ostatní členové UCP rodiny dosud ne zcela prozkoumány
- UCP-1 – dobře charakterizovaná **termogenní role v BAT**
- po aktivaci rozptyluje protonový gradient generovaný řetězcem pro přenos elektronů  
→ snižuje potenciál mitochondriální membrány → vede k vysoké oxidaci substrátu a ke vzniku **tepla** (relativně malé množství)
- **Rozpojovací protein – rozpojuje** za normálních okolností těsně spjaté procesy **dýchacího řetězce a aerobní fosforylace**

# Dýchací řetězec - UCPs



# Hnědé adipocyty

- hnědé adipocyty exprimují fyziologicky vysoké množství **UCP-1**
- bohatá inervace → regulace růstu BAT – sympatikus
  
- **β3-adrenoceptory (AR)**
- jsou specificky exprimovány hnědými adipocyty
  - pozitivní korelace mezi hustotou hnědých adipocytů a hustotou adrenergních vláken
  - po aktivaci adrenalinem řídí hnědou termogenní aktivaci adipocytů
  - snižují obezitu u obézních krys
- **expozice chladu** stimuluje expanzi BAT prostřednictvím aktivace proliferace a diferenciaci hnědých adipózních prekurzorových buněk
  
- ovlivnění chování bílých adipocytů → jak mají metabolicky fungovat

**Table 1. Summary of bioactive factors secreted by BAT preferentially expressed in brown vs. white adipocytes and/or activated in BAT under thermogenic stimuli (cold, norepinephrine)**

Factor	Main Role	Ref. No.
Triiodothyronine (due to 5'-deiodinase local activity)	A/E	14, 48 <sup>r,m</sup>
Prostaglandins (due to local prostaglandin synthesis enzyme activity)	A	31, 39, 53 <sup>r,m</sup>
Angiotensinogen	A/P	6 <sup>r</sup>
Interleukin-1 $\alpha$	P/A	4 <sup>m</sup>
Insulin-like growth factor I	A	20,62 <sup>r</sup>
Interleukin-6	A/P/E	4, 49 <sup>r,m</sup>
Vascular endothelial growth factor-A	P	1, 60 <sup>r,m</sup>
Fibroblast growth factor-2	A	28, 62 <sup>r,m</sup>
Nitric oxide (due to local eNOS expression)	A/P	25, 34 <sup>r</sup>
Fibroblast growth factor-21	A/E	9, 22 <sup>r,m</sup>
Retinol-binding protein-4	A/P/E (?)	41 <sup>m</sup>
Bone morphogenetic protein-8b	A/P/E (?)	56 <sup>m</sup>
Lipocalin prostaglandin D synthase	A/E	54 <sup>m</sup>

BAT, brown adipose tissue; A, autocrine; P, paracrine; E, endocrine; eNOS, endothelial nitric oxide synthase. <sup>r</sup>Studies performed in BAT or brown adipocytes from rats; <sup>m</sup>studies performed in BAT or brown adipocytes from mice; (?)role of these factors not fully established.

- Odlišný sekreční profil BAT oproti WAT (avšak stále významná sekreční aktivita)
- Minimální exprese typických WAT adipokinů (leptin)
- Pravděpodobně vychází z prakticky opačné metabolické funkce

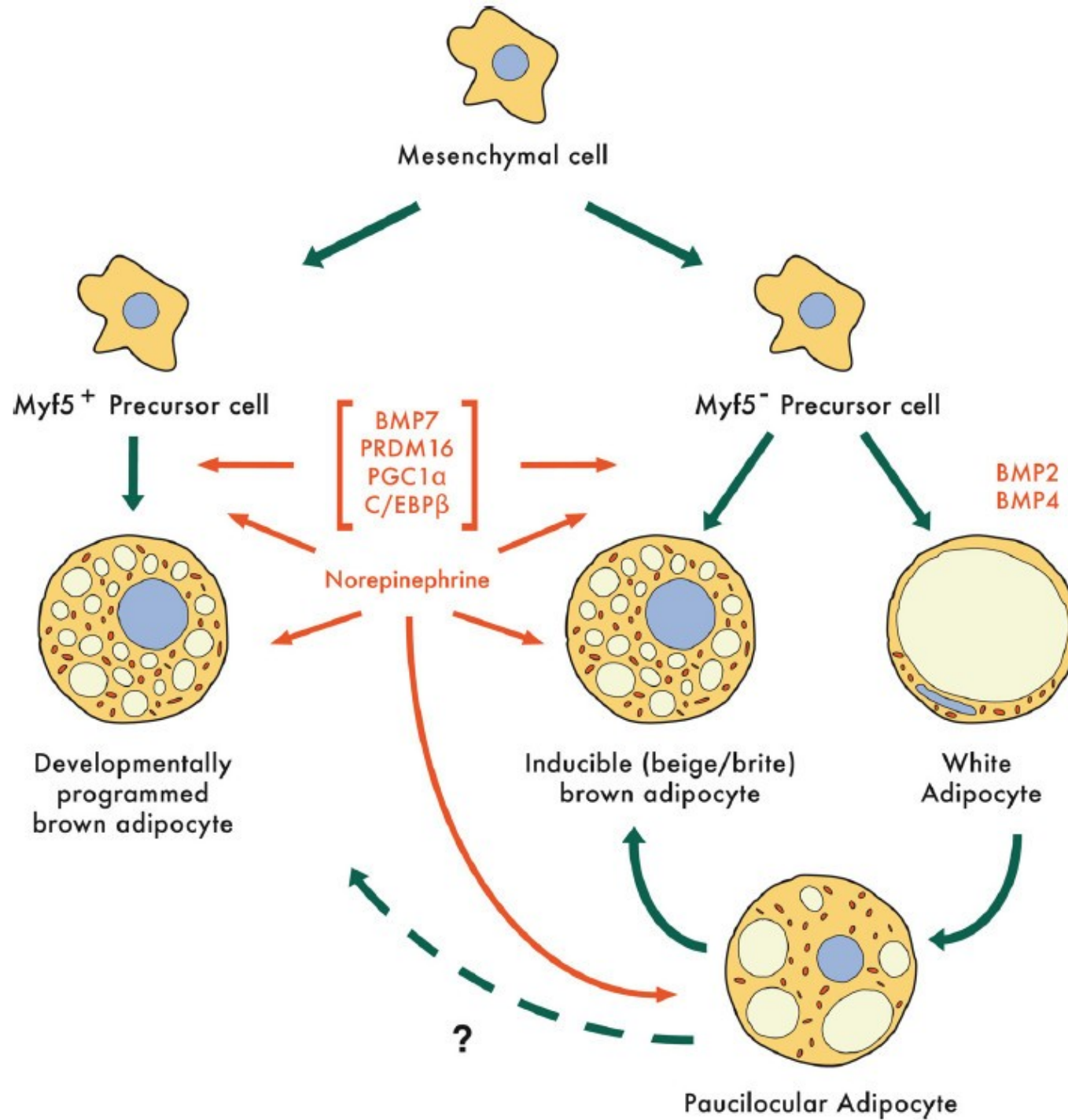
# Běžové adipocyty I.

- Nachází se ve WAT, ale morfologicky a funkčně mají blíže k BAT → lze také narazit na označení **brite** (brown in white)
- Původ je stále kontroverzní:
  - Indukovatelné prakticky ve všech depech WAT, ale s různou účinností
  - Původ z přítomné prekurzorové populace odlišné od typických WAT?
  - Transdiferenciace dospělých bílých adipocytů → stejné prekurzorové buňky, ale odlišný fenotyp odpovídající spíše BAT?
  - Prakticky veškerá WAT je za extrémních podmínek schopna přeměny (→ browning)
  - De-novo adipogeneze X dormantní → aktivace?



# Běžové adipocyty II.

- Některé běžové adipocyty: UCP1-negativní, jiné UCP1-pozitivní
- Mitochondriální morfologie se pohybuje od typického bílého adipocytu až po typický hnědý adipocyt
- Exprimují UCP-1 při odpovědi na chlad nebo jiné induktory (např.  $\beta$ -adrenergní agonisté nebo PPARy aktivátory)
- Závislost na externích podnětech pro indukci UCP-1 je charakteristickým znakem běžového tuku

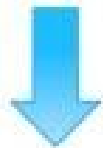
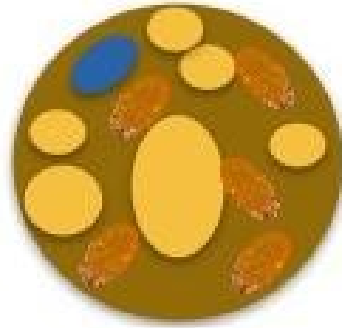


**Brown Adipocyte**



**Heat**

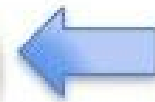
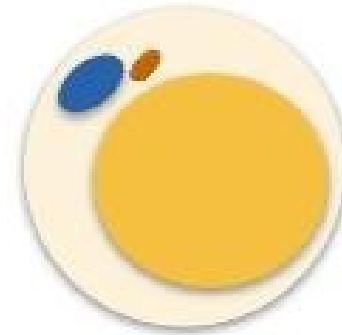
**Beige Adipocyte**



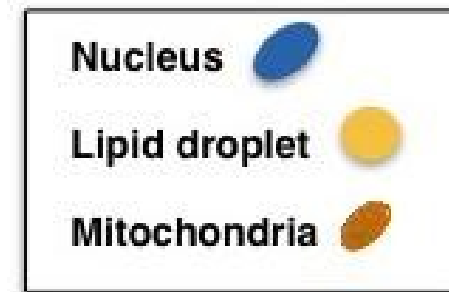
**Heat**

**Thermogenic  
Fat converted to heat**

**White Adipocyte**

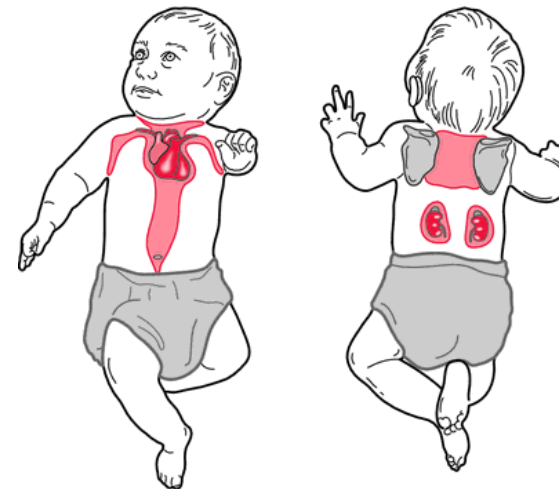


**Fat storage**



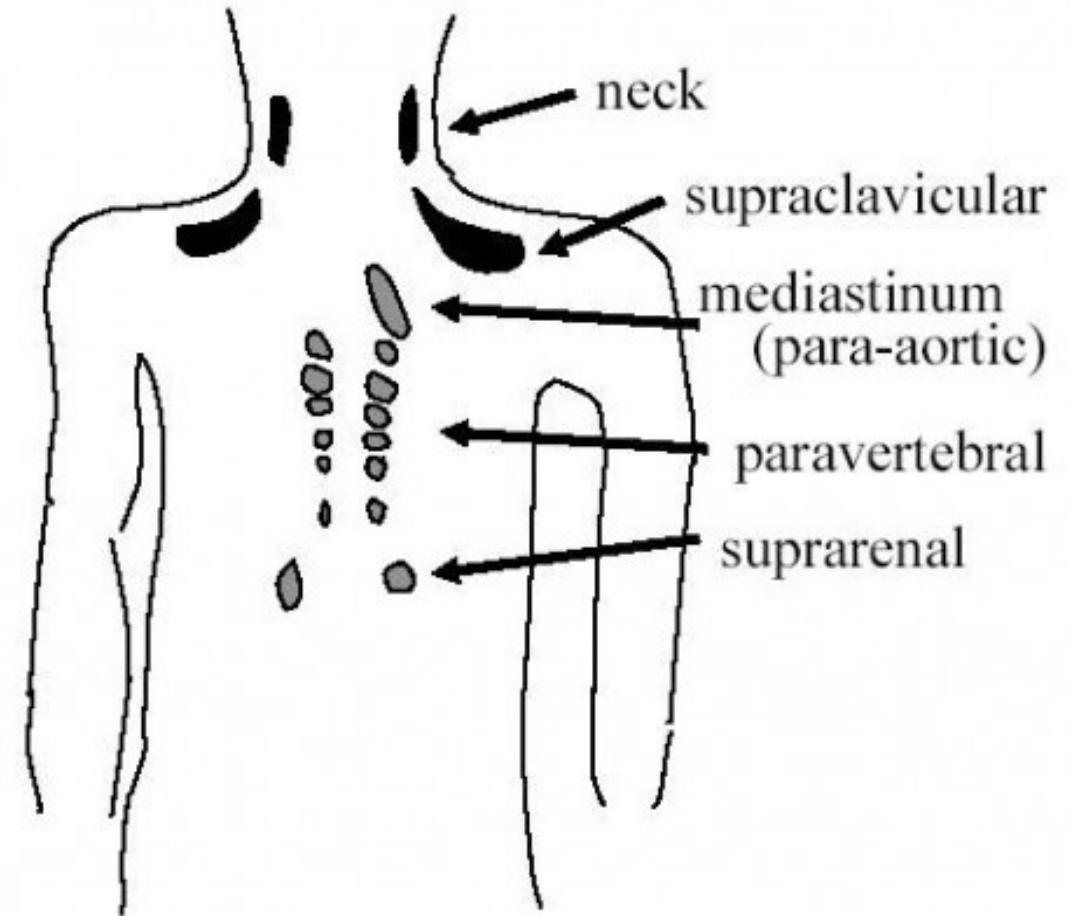
# Distribuce BAT - kojenci

- tenká vrstva interkapsulární BAT
- perirenální BAT
- podobné morfologické a molekulární rysy jako BAT hlodavců
  - exprimuje geny, které jsou charakteristické pro klasické hnědé adipocyty
- po narození se množství BAT snižuje



# BAT v dospělosti I.

- BAT obecně heterogenní a obsahuje více buněčných typů (hnědé X béžové adipocyty?)
- studie používající PET-CT odhalily vysokou prevalenci metabolicky aktivních oblastí
- **v supraklavikulární oblasti** u dospělých lidských subjektů, kolem štítné žlázy
- cervikální, paracervikální, supraklavikulární a paravertebrální, perirenální atd.
- biopsie z těchto oblastí jsou obohaceny o UCP-1-pozitivní buňky



# BAT v dospělosti II.

- zjištěná aktivita BAT negativně koreluje s indexem tělesné hmotnosti (BMI) a / nebo tělesným tukem
- množství BAT klesá s věkem
- existují vyšší hodnoty detekovatelných BAT u mladých a štíhlých lidí
- činnost BAT je u mladých lidí s nadváhou nebo obezitou snížena
- místa s funkčními BAT častější u žen než mužů
  
- aktivita BAT se zvyšuje **po dlouhodobé expozici chladu**
  - (např. 10 dní, teplota prostředí 15 až 16 °C, 6 hodin denně
  - hlavní výstupní parametry: aktivace BAT – PET-CT, energetický výdej nepřímou kalorimetrií před a po expozicích chladu → výrazné zvýšení BAT, výrazné zvýšení celkového E výdaje)

# Dlouhodobá expozici chladem

## □ u myši:

- umístění do chladného prostředí → akutně brání svou tělesnou teplotu „třesením“ (tzv. shivering thermogenesis) – svalové kontrakce → zvýšení produkce tepla
- při dlouhodobé expozici chladu se třesení postupně sníží, ale energetické výdaje zůstávají zvýšené → tzv. nonshivering thermogenesis → lze připsat BAT; adaptivní termogeneze

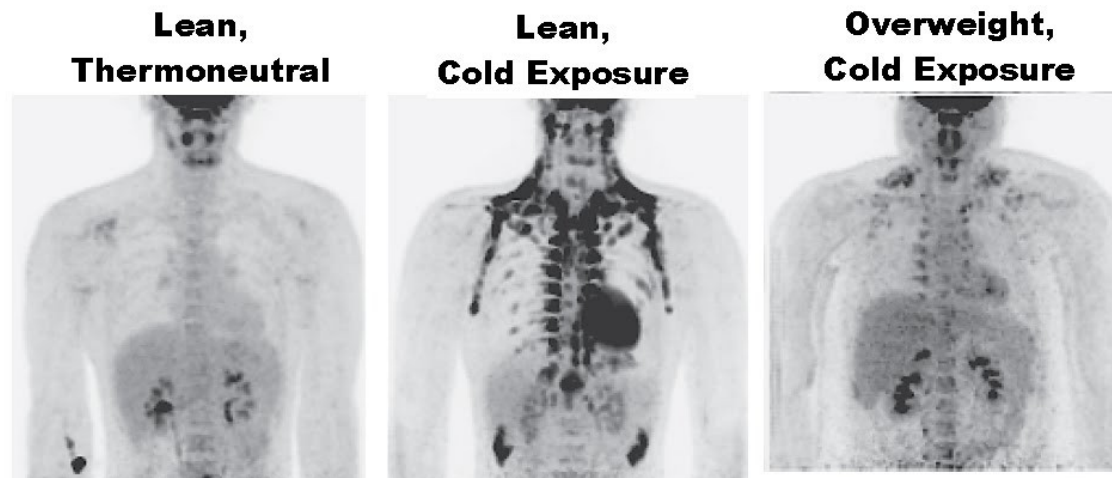
## □ u člověka:

- 1) dlouhodobá expozice chladu: 12 °C, 8h denně, 31 dní u zdravých mužů vedla k postupnému snižování chvění, zatímco produkce tepla zůstala zvýšená; ale neprozkoumána BAT
- 2) dlouhodobá expozice chladu: 15 až 16 °C, 6h denně, 10 dní; hlavní výstupní parametry: aktivace BAT – PET-CT, energetický výdej nepřímou kalorimetrií před a po expozicích chladu → výrazné zvýšení BAT, výrazné zvýšení celkového E výdaje)

# Vliv chladu na BAT

- expozice chladem aktivuje BAT působením na sympatická nervová vlákna
- sympatikus inervuje hnědé adipocyty na úrovni parenchymu
- chronická studená expozice vede k větvení noradrenergických parenchymálních vláken → významně zvyšuje sympatickou inervaci BAT
- M2 makrofágy vylučují katecholaminy, které zvyšují katabolismus a udržují termoregulační funkce během expozice za studena

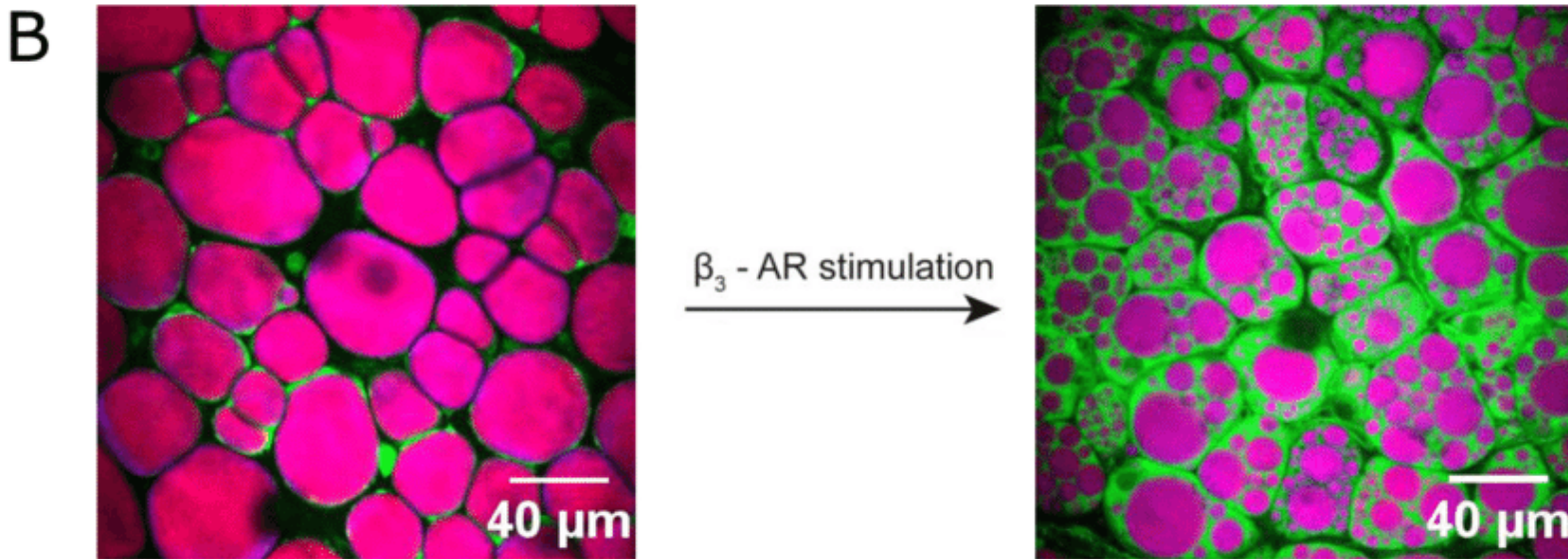
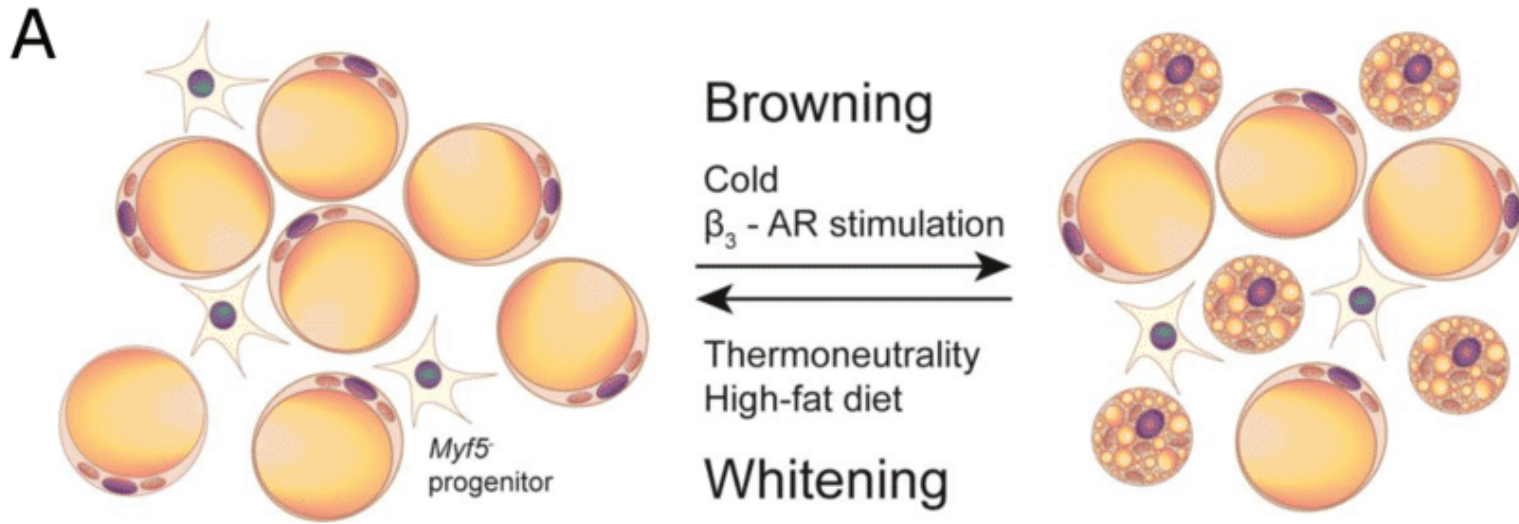
## Brown Adipose Tissue Activity (PET-CT with $^{18}\text{F}$ -FDG)





# Browning I.

- nadbytečná WAT – nepříznivé účinky na metabolické zdraví
- expozice teplem, stárnutí a obezita → „whitening“
- stimulace vývoje béžových adipocytů ve WAT (tzv. „**browning**“) má potenciál naklonit energetickou rovnováhu od skladování k výdeji
  - strategie, která slibuje boj proti rostoucí epidemii obezity a metabolickému syndromu
  - intenzivní výzkum
  - řada perspektivních možností ovlivnění X zatím nízká úspěšnost
- dle výzkumů na myších: aktivace BAT má příznivé účinky na:
  - adipozitu, inzulinovou rezistenci a hyperlipidemií

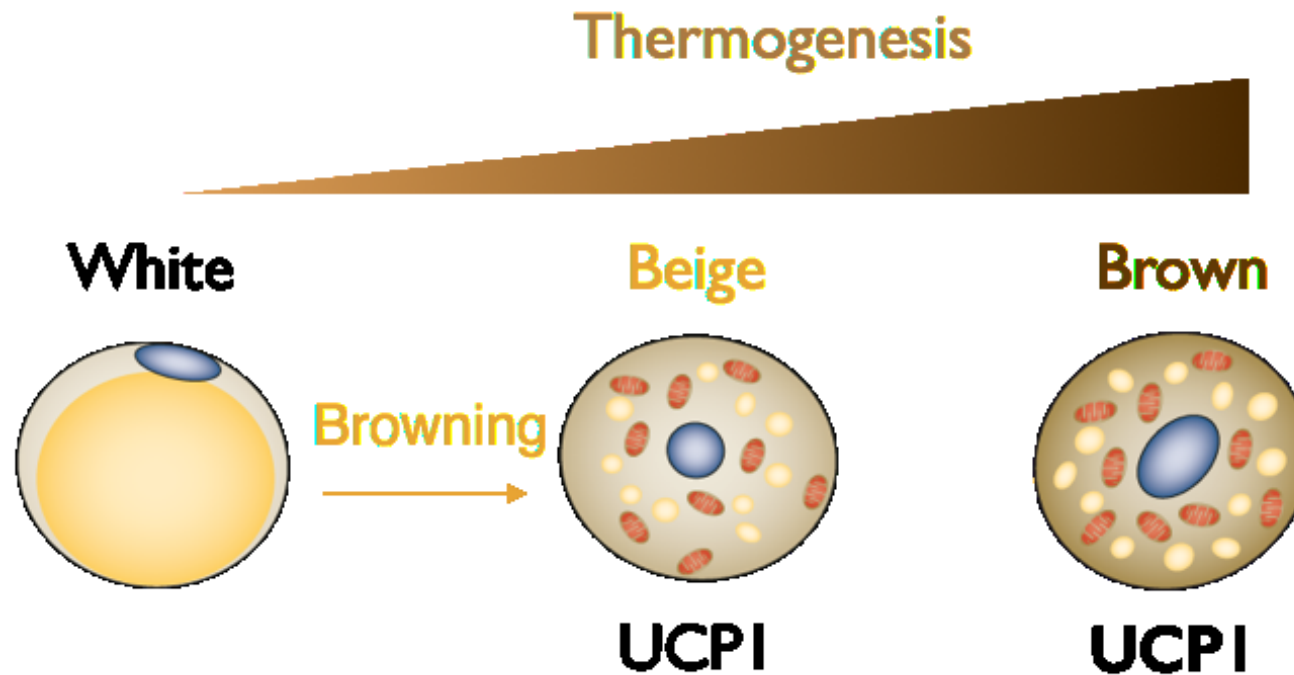


# Hlavní regulátory hnědnutí

- chronická expozice chladu
- fyzická aktivita zvyšuje hnědnutí WAT a výdej energie
- **agonista PPAR $\gamma$**  (agonista peroxizomálně aktivovaného receptoru  $\gamma$ )
- **PGC-1 $\alpha$**  – koaktivátor PPAR $\gamma$
- **PRDM16 (PR domain containing 16)** – determinující faktor hnědnutí
- **irisin** (hormonální stimul – myokin)
- **FGF21** (fibroblastový růstový faktor 21 ) - působí autokrinním a parakrinním způsobem → zvýšení hnědnutí WAT
- **$\beta$ -adrenergní stimulace** (farmakologická léčba)

# Browning II.

WAT → vystavení určitému podnětu → tendence převzít fenotyp BAT



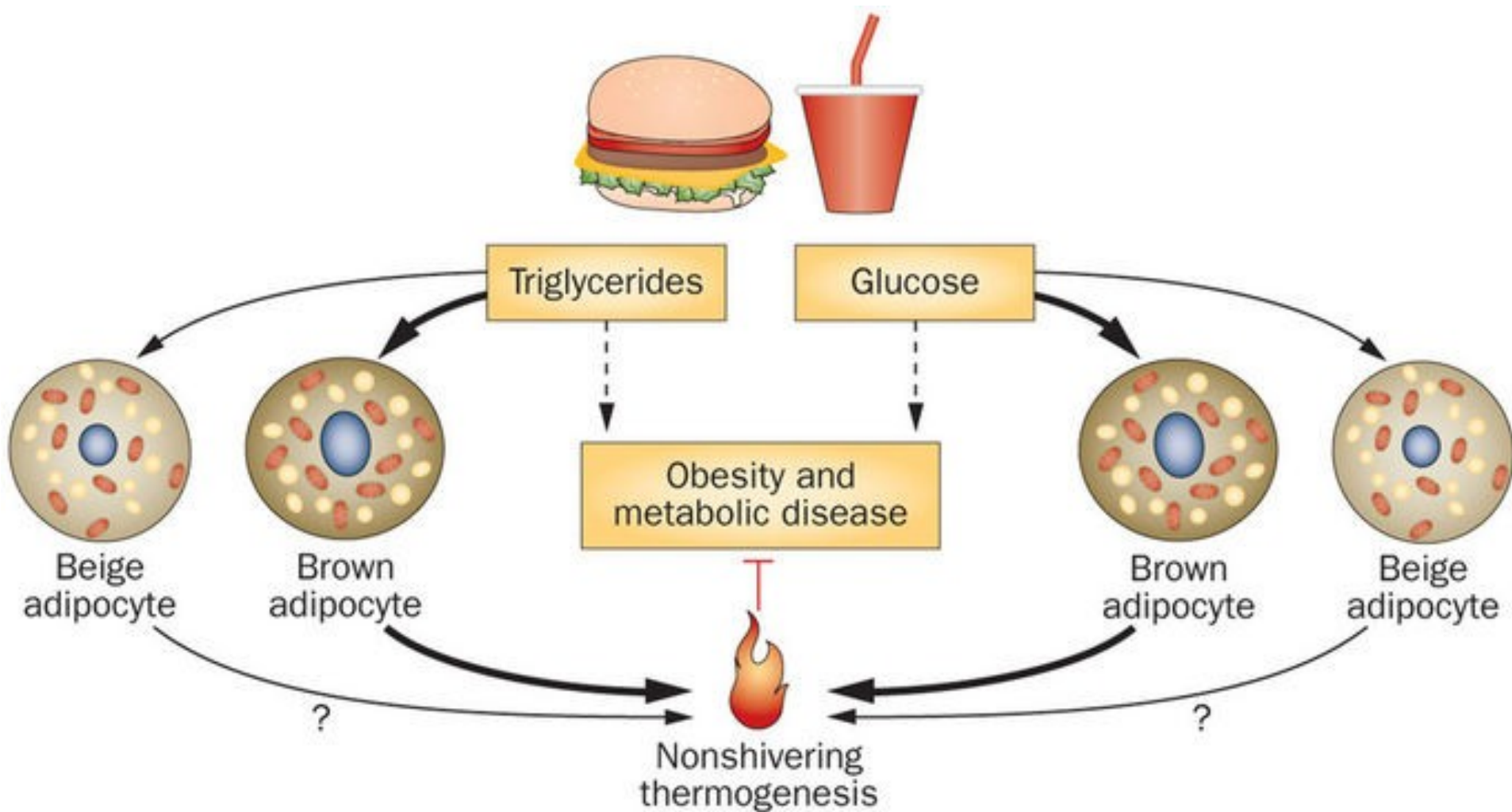
# Browning III.

- **v bazálním stavu** mají béžové adipocyty nízkou termogenetickou aktivitu a malé množství mitochondrií
- **po aktivaci** mají mnoho biochemických a morfologických vlastností BAT:
  - přítomnost multilokulárních lipidových kapiček a mnohočetných mitochondrií
- při plné stimulaci vyjadřují podobné hladiny UCP-1 jako hnědé adipocyty

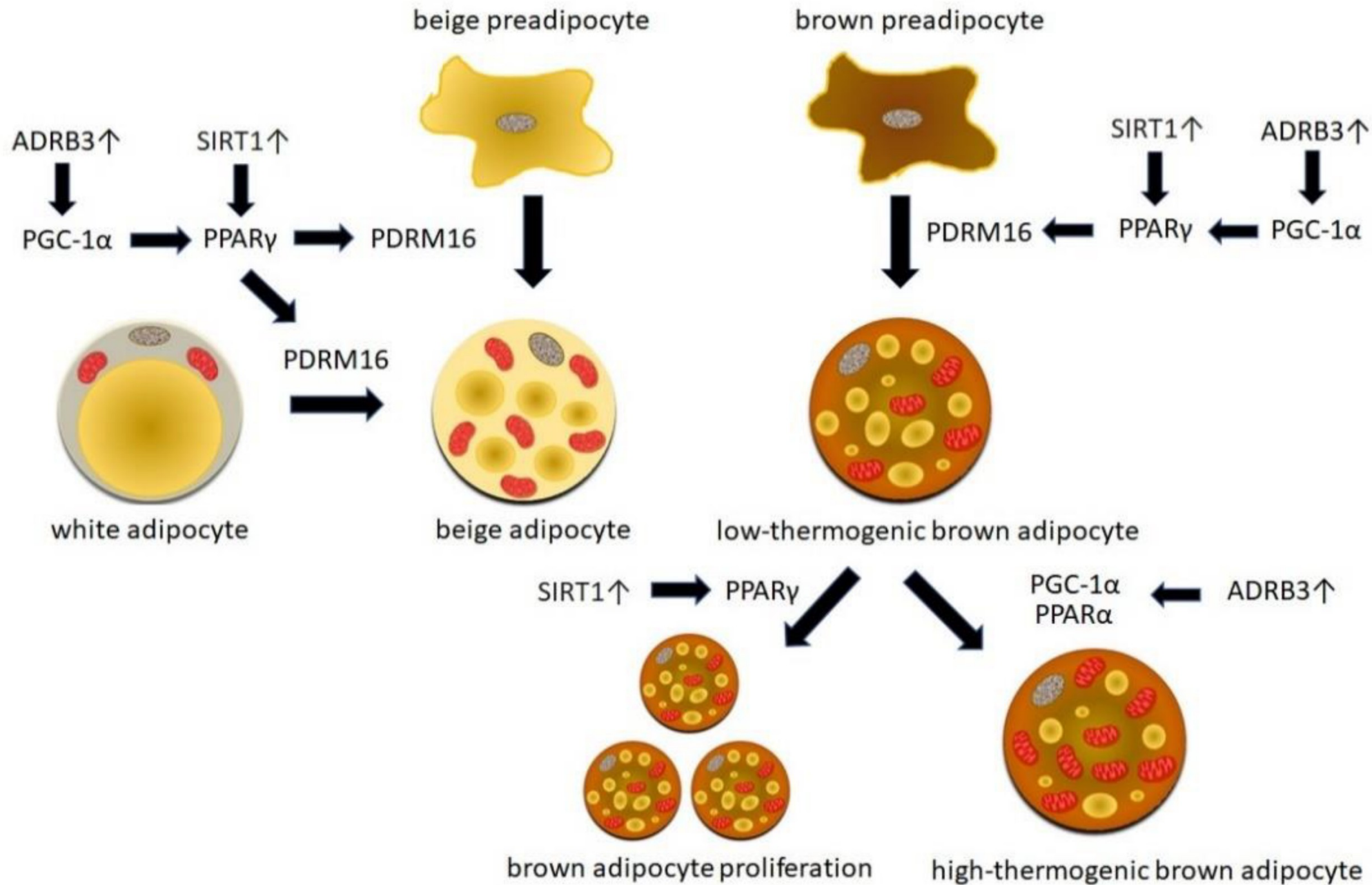
## reverzibilní transdiferenciace

- expozice teplem – změna opět na adipocyty fenotypicky podobné WAT
- opětovné vystavení chladu zahrnovalo návrat k fenotypu BAT s UCP-1
- opakovaná aktivace po předchozím vystavení chladu velice účinná (epigenetické změny?)
- zachování fenotypu a metabolické aktivity i po ztrátě UCP-1 ?

# Zvýšení clearance a využití živin hnědými a béžovými adipocyty by mohlo snížit přebytek TAG a glukózy







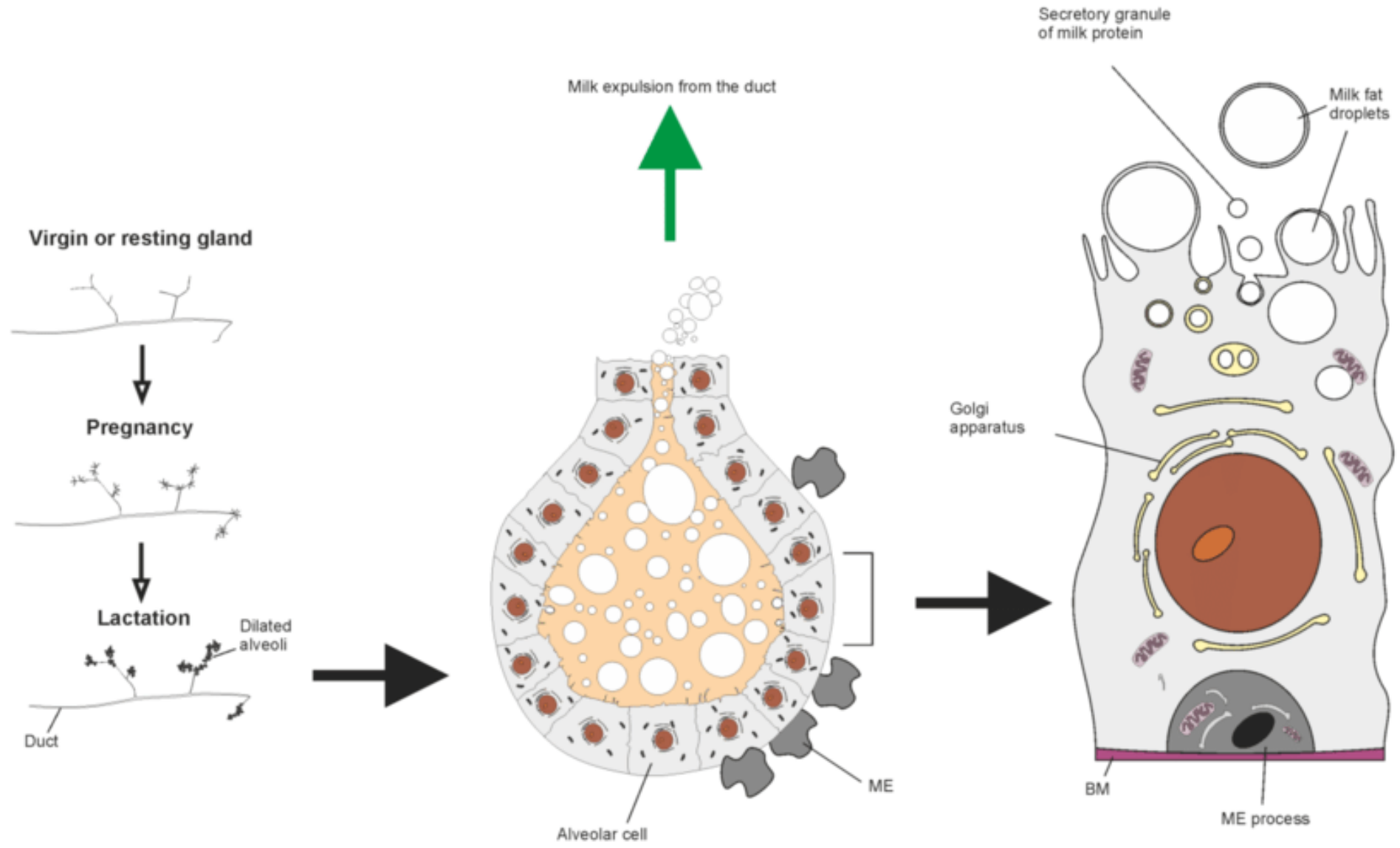
# Růžová tuková tkáň

- alveolární epiteliální buňky mléčné žlázy
  - pravděpodobně vycházejí z transdiferenciace subkutánních bílých adipocytů
  
  - úkolem je **produkovat a vylučovat mléko**
  - identifikována v myších podkožních tukových depech během těhotenství a laktace
  
  - **růžové adipocyty:**
    - vznikají výhradně v ženských podkožních depech během těhotenství a laktace - **alveologeneze**
    - splňují definici adipocytu (schopnost uchovat velké množství lipidů)
    - mléčná žláza je v těhotenství a laktaci zbarvená do růžova (i na makroskopické úrovni)
  
  - růžové adipocyty, kromě mléčných složek, vylučují **leptin**
- 72 □ zřejmě hraje důležitou roli při prevenci obezity u mláďat



# Vývoj alveolů mléčné žlázy

- během těhotenství alveoly postupně nahrazují tukovou tkáň
- alveoly mléčné žlázy se vyvíjejí ve dvou fázích dvěma různými mechanismy:
  - **první fáze těhotenství**
    - alveoly tvořeny epiteliálními buňkami, které by mohly pocházet z proliferace kmenových buněk
    - postrádají cytoplazmatické kapénky lipidů
    - subkutánní tuk se zmenšuje postupně
  - **druhé stadium těhotenství**
    - alveoly složeny z epiteliálních buněk s tukem
    - podkožní adipocyty postupně získají epiteliální vlastnosti, pravděpodobně pod hormonálními stimuly
    - agregují s růžovými adipocyty a s myoepiteliálními buňkami za vzniku alveolů sekretujících mléko



# Růžová tuková tkáň II.

- výzkum karcinomu prsu:
- reverzibilní transdiferenciace white-to-pink by mohla osvětlit biologii karcinomu prsu
- dle studií ztráta exprese PPAR $\gamma$  buňkami sekrečních epiteliálních mléčných žláz vytváří vhodné prostředí pro vývoj karcinomu prsu
- PPAR $\gamma$  je klíčovým faktorem pink-to-white diferenciaci in vitro

# Plasticita tukové tkáně I.

- tuková tkáň = **spousta metabolických, buněčných a endokrinních funkcí**
- více buněčných typů přispívá k adipogenezi ve vývoji a remodelaci tukové tkáně
  - WAT, BAT, béžové adipocyty, růžové adipocyty
  - různý původ (dosud neobjasněný)
- lokalizace tukové tkáně jsou heterogenní a obsahují dynamickou směs buněčných typů a mají různé funkce
  - **WAT**: adipokiny, které ovlivňují stravovací chování a metabolismus (leptin, adiponektin, resistin, adipsin), zánět, imunitu atd.
  - **BAT**: hormony a růstové faktory (betatrofin a FGF21)
  - **růžové adipocyty**: mléčná složka, leptin

# Plasticita tukové tkáně II.

- adipocyty se obměňují po celý život a jsou dynamicky regulovány z hlediska počtu, velikosti a metabolických vlastností
- progenitory adipocytů
  - aktivují se během homeostatického obratu a hyperplastické expanze
  - podílejí se na browningu (fenotypový přechod mezi anabolickými a katabolickými stavy)
- vlastní metabolická plasticita zralých buněk
  - browning, přeměna white-to-pink
- mobilita a metabolická plasticita tukové tkáně může být zaměřena na terapeutický přínos

# Čtení pro náročné

- <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2020.00022/full>
- <https://www.nature.com/articles/s41580-018-0093-z>
- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30067154/>
- <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/10/3570>

**DĚKUJI ZA POZORNOST**