

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra genetiky a šlechtění



Pohlavně specifické aspekty vlivu diet se zvýšeným obsahem tuků a cukrů na patogenezi metabolického syndromu u experimentálních modelů

Diplomová práce

Bc. Jana Benešová

N-AMD Výživa a potraviny

Ing. Petr Sedlák, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Pohlavně specifické aspekty vlivu diet se zvýšeným obsahem tuků a cukrů na patogenezi metabolického syndromu u experimentálních modelů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10.4.2019

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Petru Sedlákoví, Ph.D. za cenné rady a vstřícnost při vedení mé diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Adéle Kábelové za její odborné konzultace, nezištnou pomoc nejen při laboratorní práci, ale i za veškerý věnovaný čas a ochotu pomoci při jakékoliv situaci. Velké poděkování patří i celé laboratoři Experimentální genetiky Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK v Praze pod vedením prof. MUDr. Ondřeje Šedy, Ph.D., za možnost zpracování daného tématu ve vstřícném prostředí a zajištění materiálních i nemateriálních prostředků nutných k vypracování práce.

Pohlavně specifické aspekty vlivu diet se zvýšeným obsahem tuků a cukrů na patogenezi metabolického syndromu u experimentálních modelů

Souhrn

Metabolický syndrom je patofyziologický stav organismu, který je charakterizován současným výskytem několika rizikových faktorů, konkrétně abdominální obezitou, poruchou glukózové tolerance, hypertenzí a dyslipidemií. Etiologie metabolického syndromu je multifaktoriální, přičemž mezi významné faktory, které ovlivňují jeho rozvoj, patří genetická predispozice, pohlaví jedince a životní styl, zejména výživa, která je současně klíčovou složkou prevence i terapie všech komponent tohoto syndromu. Cílem diplomové práce bylo, za použití několika různých geneticky definovaných kmenů laboratorního potkana, posoudit vliv diety s navýšeným množstvím tuků nebo sacharidů na patogenezi metabolického syndromu v závislosti na pohlaví.

Podávání diety s navýšeným množstvím tuku vedlo, oproti dietě s navýšeným množstvím sacharidů, k výraznějšímu zhoršení některých komponent metabolického syndromu, jmenovitě glukózové tolerance a zvýšena byla i hmotnost tukového tělesa, což bylo patrné především v rámci kmene PD/Cub v porovnání s ostatními kmeny. Strava s vysokým obsahem sacharidů byla spojena s navýšením koncentrace sérových triacylglycerolů v periferní krvi a vyšší inzulinovou rezistencí. Přestože byly u některých sledovaných morfometrických i metabolických parametrů detekovány rozdíly mezi samčím a samičím pohlavím, tyto rozdíly nebyly v rámci testovaných kmenů ani podávaných diet jednotné. Lze shrnout, že vliv pohlaví na patogenezi metabolického syndromu pravděpodobně spolupůsobí s dalšími faktory, jako je konkrétní genotyp a stravovací režim, případně jejich nutrigenetická interakce.

Klíčová slova: metabolický syndrom, potkan, stanovení glykemie, stanovení cholesterolu, vysokotuková dieta, vysokosacharózová dieta, pohlaví

Sex-Specific Aspects of the Effect of Fat and Sugar-Increased Diet on Pathogenesis of Metabolic Syndrome in Experimental Models

Summary

Metabolic syndrome is a pathophysiological condition characterized by the simultaneous presence of certain risk factors, namely abdominal obesity, impaired glucose tolerance, hypertension, and dyslipidemia. The metabolic syndrome is multifactorial in origin, where the most important factors modulating its onset comprise from genetic predisposition, gender, and lifestyle in which the nutrition plays the key role not only in prevention but also in therapy of all components of the syndrome. Using several different genetically defined laboratory rat strains, this thesis aimed to assess the sex-specific aspects of the effect of diets with increased fat or sugar amount on metabolic syndrome pathogenesis.

Compared to high-sugar diet, the administration of high-fat diet resulted in a substantial deterioration of some components of the metabolic syndrome, namely glucose tolerance, and increased weight of adipose tissue, as was evident in the PD/Cub strain in comparison to other strains. High-sugar diet was linked to an increased concentration of serum triglycerides in peripheral blood and higher insulin resistance. Although the differences between male and female sex were detected in some of the observed morphometric and metabolic parameters, these differences were not identical across the tested strains or served diets. In summary, the effect of gender in pathogenesis of the metabolic syndrome is also likely to interact with other factors such as the specific genotype and dietary regimen, or their nutrigenetic interaction.

Keywords: metabolic syndrome, rat, determination of glycemia, cholesterol determination, high-fat diet, high-sucrose diet, sex

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíle, hypotézy	2
2.1	Hypotézy	2
3	Rešerše	3
3.1	Metabolický syndrom.....	3
3.1.1	Patofyziologie metabolického syndromu	5
3.1.1.1	Inzulínová rezistencia.....	5
3.1.1.2	Nadváha a obezita	6
3.1.1.3	Porucha glukozovej tolerance	7
3.1.1.4	Dyslipidémie	9
3.1.1.5	Hypertenze	10
3.1.2	Rizikové faktory MS.....	12
3.1.2.1	Neovlivniteľné faktory a rozvoj MS.....	12
3.1.2.1.1	Genetické faktory	12
3.1.2.1.2	Věk a Pohlaví.....	14
3.1.2.1.2.1	Poměr pohlaví	14
3.1.2.1.2.2	Pohlavní hormony	15
3.1.2.1.2.2.1	Estrogeny	15
3.1.2.1.2.2.2	Androgeny (testosteron).....	16
3.1.2.1.2.3	Pohlavní rozdíly v energetickém metabolismu	16
3.1.2.1.2.4	Pohlavní rozdíly v kardiovaskulárním systému	17
3.1.2.1.2.5	Pohlavně specifická genetická architektura	19
3.1.2.2	Ovlivniteľné faktory v rozvoji MS	19
3.1.2.2.1	Výživa	20
3.1.2.2.1.1	Vliv sacharidů na rozvoj MS	20
3.1.2.2.1.2	Vliv tuků na rozvoj MS.....	21
4	Materiál a metody	23
4.1	Modelové organismy.....	23
4.1.1	Kmen SHR	23
4.1.2	Kmen PD/Cub	24
4.1.3	Kmen SHR.PDZbtb16.....	25
4.1.4	Kmen BN/Cub.....	25
4.2	Experimentální protokol.....	25

4.3	Orální glukózový toleranční test	26
4.4	Stanovení metabolického a lipidového profilu z periferní krve	27
4.5	Odběr orgánů.....	27
4.6	Glykogeneze ve svalové tkáni.....	27
4.7	Lipogeneze v tukové tkáni	28
4.8	Statistické zpracování dat a jejich grafické znázornění.....	28
5	Výsledky	30
5.1	Vysokotuková dieta.....	30
5.1.1	Vliv vysokotukové diety na morfometrické parametry.....	30
5.1.2	Vliv vysokotukové diety na metabolické parametry	36
5.2	Vysokosacharózová dieta.....	44
5.2.1	Vliv vysokosacharózové diety na morfometrické parametry	44
5.2.2	Vliv vysokosacharózové diety na metabolické parametry	46
6	Diskuze.....	52
6.1	Vliv diety s navýšeným množstvím tuku na patogenezi MS	52
6.1.1	Morfometrické parametry	53
6.1.2	Metabolické parametry.....	54
6.2	Vliv diety s navýšeným množstvím sacharidů na patogenezi MS	55
6.2.1	Morfometrické parametry	55
6.2.2	Metabolické parametry.....	55
6.3	HFD vs. HSD	56
7	Závěr	58
8	Literatura	59
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	74

1 Úvod

Současný výskyt určitých morfometrických a metabolických abnormalit konkrétně obezity, poruchy glukozového metabolismu, hypertenze a dyslipidémie u jednoho jedince, se označuje jako metabolický syndrom. Z kardiometabolického hlediska je metabolický syndrom vysoce rizikový stav, který výrazným způsobem snižuje očekávanou délku života, neboť je spojen s rozvojem diabetu mellitu 2. typu, některých typů nádorových onemocnění, ale především pak kardiovaskulárních chorob, jako je cévní mozková příhoda (CMP) nebo infarkt myokardu. Vzhledem k tomu, že prevalence metabolického syndromu se celosvětově neustále zvyšuje, je podrobný výzkum tohoto syndromu, především z hlediska jeho etiopatogeneze, velmi žádoucí.

Komplexní etiologie metabolického syndromu značí, že se na jeho rozvoji společně podílí řada faktorů, z nichž některé mohou být ovlivnitelné, kdežto jiné nikoliv. Zatímco genetické pozadí konkrétního jedince, etnická příslušnost a pohlaví jsou faktory neovlivnitelné, životní styl včetně kouření, konzumace alkoholu, pohybové aktivity a stravovacích návyků lze vůlí výrazně modifikovat. Zejména stravovací režim má při rozvoji metabolického syndromu zcela výsadní postavení, neboť podmiňuje rozvoj obezity, která je mnohými považována za hlavní faktor podmiňující jednotlivé patofyziologické aspekty tvořící tento syndrom. Hojně diskutovanou se v posledních letech stává především konzumace dvou makronutrientů; tuků a jednoduchých sacharidů - cukrů.

Zhodnocení interakce výživy, respektive diety s navýšeným obsahem tuků, případně sacharidů s pohlavím jedince je předmětem předkládané diplomové práce. Vzhledem k tomu, že výzkum patogeneze metabolického syndromu na lidském modelu je velice obtížný, zejména z důvodu vysoké genové heterogenity zkoumaných subjektů a nemožnosti zajištění identických podmínek vnějšího prostředí, jsou v praktické části práce využity geneticky definované kmeny laboratorního potkana. S využitím tohoto modelu si tak práce klade za cíl identifikovat případné pohlavně specifické aspekty vlivu různých typů diet na patogenezi metabolického syndromu.

2 Cíle, hypotézy

Cílem předkládané diplomové práce je identifikovat pohlavně specifické aspekty vlivu diet se zvýšeným obsahem tuků, nebo sacharidů na morfometrické a metabolické parametry související s patogenezí metabolického syndromu u geneticky definovaných inbredních kmenů laboratorního potkana.

2.1 Hypotézy

Konkrétně si práce klade za cíl ověřit dále popsané hypotézy:

1. Existují pohlavní rozdíly ve vlivu diety s navýšeným množstvím tuků, nebo sacharidů na morfometrické parametry potkana, konkrétně na tělesnou hmotnost a hmotnost vnitřních orgánů.
2. Existují pohlavní rozdíly ve vlivu diety s navýšeným množstvím tuků, nebo sacharidů na metabolické parametry potkana, konkrétně na glukózovou toleranci a inzulinovou rezistenci a krevní lipidy.
3. Vliv diety s navýšeným množstvím tuků, nebo sacharidů na morfometrické a metabolické parametry se mezi různými potkaními kmeny v rámci stejného pohlaví liší.

3 Rešerše

3.1 Metabolický syndrom

Počátek studia metabolického syndromu (MS), (také syndrom X, Reavenův syndrom, syndrom inzulinorezistence) se datuje do roku 1923, kdy byla americkým lékařem Kylinem publikována studie o častém společném výskytu vysokého krevního tlaku, vysoké hladiny glukózy v krvi (hyperglykémie) a dny, které se velmi často společně vyskytovaly u jednoho jedince a predisponovaly jej k rozvoji diabetu 2. typu (T2D; Type 2 Diabetes) a ischemické chorobě srdeční (Kylin 1923). Během dalších let pak k těmto rizikovým faktorům dále přibyla centrální, též abdominální obezita, charakteristická akumulací tuku v oblasti břicha, mikroalbuminurie, zvýšená koncentrace inhibitoru aktivátoru plazminogenu 1 (PAI-1; Plasminogen Activator Inhibitor 1) (Alberti & Zimmet 1998).

Základ dnes užívané definice MS pak založil americký lékař G. M. Reaven v roce 1988, který na metabolické úrovni jasně prokázal souvislost mezi inzulinovou rezistencí, glukozovou intolerancí, arteriální hypertenzí a dyslipidemií. Definice však nebyla jednoznačně uznávána a během následujících let byly dle nových objevů navrhovány definice nové. Klinická kritéria pro diagnostiku MS tak byla během minulých let definována nezávisle hned několika odbornými lékařskými společnostmi včetně Světové zdravotnické organizace (WHO; World Health Organization), Evropské skupiny pro studium inzulinové rezistence (EGIR; European Group for the Study of Insuline Resistance) a Národního vzdělávacího programu pro cholesterol - třetí panel pro léčbu dospělých (NCEP ATP III; National Cholesterol Education Programme Adt Treatment Panel III), ve kterých byla za základní podmínku pro diagnózu MS považována abdominální obezita a inzulinová rezistence, která byla definována poruchou glukozové tolerance a hyperinzulinémií (Alberti et al. 2006). Vytvořené definice MS však nebyly jednotné a v rámci klinické praxe tak nebyla sjednocena identifikace jedinců trpících tímto syndromem. S cílem sjednotit dosud užívaná kritéria pro diagnostiku MS tak byla v roce 2009 mezinárodní federací diabetu (IDF; International Diabetes Federation), Americkou kardiologickou asociací (AHA; American Heart Association) a dalšími mezinárodními společnostmi vytvořena a představena tzv. Harmonizovaná definice MS, která definuje MS na základě současného výskytu alespoň tří z pěti kardiometabolických rizikových faktorů (viz Tab. 1) (Alberti et al. 2009).

MS a jeho jednotlivé složky patří mezi nejčastější příčiny úmrtí v rozvinutých zemích světa a z řady studií vyplývá, že mortalita v důsledku MS je mnohonásobně vyšší, než je tomu při výskytu jednotlivých rizikových faktorů zvláště (Isomaa et al. 2001; Mottillo et al. 2010). MS je významným rizikovým faktorem pro rozvoj předčasné a akcelerované aterosklerózy, na jejímž podkladě dochází k nárůstu incidence kardiovaskulárních onemocnění, a tudíž i rizika úmrtí. MS a s ním spojený stav hyperinzulinémie také predisponuje jedince k rozvoji T2D a s ním spojených akutních i chronických zdravotních komplikací. Jedinci s MS mají také současně vyšší riziko rozvoje některých typů nádorových onemocnění, například karcinomu pankreatu, jater, prsu, ovarií, dělohy či prostaty. S MS je ale spojena i celá řada dalších patofyziologických stavů organismu, které zhoršují kvalitu života jedince a jsou doprovázeny více či méně závažnými komorbiditami. Mezi tato onemocnění patří mimo jiné jaterní steatohepatitida, případně až jaterní cirhóza, obstrukční spánková apnoe, psoriáza, porucha reprodukčních a renálních funkcí (Esposito et al. 2012; Mendric et al 2017).

Tab. 1. Kritéria pro diagnostiku metabolického syndromu dle Harmonizované definice z roku 2009. Metabolický syndrom je jedinci dle této definice diagnostikován v případě současného výskytu alespoň tří z pěti kardiometabolických rizikových faktorů.

Rizikové faktory MS	
Obvod pasu (hodnoty jsou platné pro evropskou populaci)	> 102 cm (muži) > 88 cm (ženy)
Triacylglyceroly (nebo specifická léčba)	> 1,7 mmol/l
HDL (High-density lipoprotein) cholesterol (nebo specifická léčba)	< 1,0 mmol/l (muži) < 1,3 mmol/l (ženy)
Krevní tlak (TK) (nebo specifická léčba)	TK syst. > 130 mm Hg/ TK diastol. > 85 mm Hg
Glykémie na lačno (nebo diabetes mellitus)	> 5,6 mmol/l

Prevalence MS se celosvětově neustále zvyšuje jak v rozvinutých, tak v rozvojových zemích světa a pohybuje se od 10 % do 84 % v závislosti na studované kohortě (pohlaví, věk, tělesná hmotnost, rasa, etnická a geografická příslušnost, životní styl, patofyziologický stav, socioekonomický status apod.) a použitých diagnostických kritériích (Alexander et al. 2003; Cameron et al. 2004). Podle výzkumu z roku 2003 je prevalence MS v České republice nezávisle na pohlaví jedince přibližně 28 % (32 % muži, 24 % ženy) (Cífková 2003). Rozdíl v prevalenci MS v závislosti na pohlaví a věku byl pozorován také ve vzorku finské populace,

ve které mělo diagnostikováno MS 40 % mužů, ale pouze u 20 % žen. Se zvyšujícím se věkem docházelo k nárůstu prevalence MS u obou pohlaví, zejména však u žen (Ilanne-Parikka et al. 2004). Zdá se, že rozvoj MS je také, zejména pak u mužů, podmíněn výskytem abdominální obezity. Zatímco u jedinců s normální tělesnou hmotností byla prevalence MS jen 5 %, u jedinců s nadváhou dochází k jejímu zvýšení na 22 % a u obézních jedinců až na 60 %. Riziko výskytu MS se významným způsobem zvyšuje také u jedinců, kteří již mají některé z rizikových faktorů podmiňujících jeho vznik. Například jedincům s T2D je MS diagnostikován až čtyřikrát častěji než zdravým jedincům (AlSaraj et al. 2009).

3.1.1 Patofyziologie metabolického syndromu

V současné době se předpokládá účast hned několika patofyziologických mechanismů vedoucích k rozvoji MS včetně oxidačního stresu, chronického zánětu a inzulínové rezistence, přičemž právě inzulínová rezistence je odbornou veřejností nejvíce přijímána a bude proto podrobněji popsána v následující kapitole.

3.1.1.1 Inzulínová rezistence

Inzulínovou rezistencí je rozuměn stav, při němž je snížena citlivost periferních tkání, zejména jaterní svalové a tukové tkáně k působení inzulínu. Inzulín je polypeptidový hormon, který je tvořen a secernován β -buňkami Langerhansových ostrůvků pankreatu jako odpověď na zvýšení koncentrace glukózy v krvi (glykémie). Za fyziologických podmínek vede navázání inzulínu na inzulínový receptor k autofosforylaci receptoru na tyrozinových zbytcích a propagaci buněčného signálu až do buněčného jádra, kde dochází ke zvýšení exprese genů, jejichž produkty se účastní glykolýzy a syntézy mastných kyselin. Transkripce genů kódujících enzymy účastnící se glukoneogeneze v játrech je naopak utlumena. Mimo to, indukuje interakce ligandu s inzulínovým receptorem inkorporaci glukózového přenašeče, konkrétně GLUT4 (Glucose Transporter 4) do plazmatické membrány buněk, a tak i transport glukózy z extracelulární tekutiny do cytosolu, kde je glukóza fosforylována a využita pro tvorbu ATP, případně glykogenu (Hirshman et al. 1990; Klip et al. 1990). Signální dráha inzulínu současně ovlivňuje aktivitu proteinkinázy B (PKB), která stimuluje glykogeneogenezi, tedy uložení glukózy do zásob v podobě glykogenu a také proteinkinázy A (PKA), která inhibuje lipolýzu (Lizcano & Alessi 2002).

Snížená odpověď tkání na normální koncentraci inzulínu v periferní krvi, tedy stav inzulínorezistence, vede zpočátku k navýšení produkce a sekrece inzulínu buňkami Langerhansových ostrůvků s cílem udržet glykémii na fyziologických hodnotách, nicméně zvýšená hladina inzulínu v krvi (hyperinzulinémie) má však na organismus poměrně negativní efekt. Jak již bylo řečeno výše, inzulín aktivuje syntézu mastných kyselin a inhibuje lipolýzu, což vede nejenom k rozvoji jaterní steatózy, ale napomáhá také rozvoji dyslipidémie a následné aterosklerózy. Zvýšené množství volných mastných kyselin (FFA; Free Fatty Acids) v krvi je spojeno s hypertrofií a hyperplazií tukové tkáně, čímž přispívá k rozvoji obezity, případně je ektopicky ukládáno ve svalové tkáni, což inhibuje inzulínovou signální dráhu a dále prohlubuje inzulínovou rezistenci.

Za hlavní příčinu rozvoje inzulínové rezistence je považována abdominální obezita, která je spojena s mnoha metabolickými abnormalitami, případně i rozvojem celkové chronické zánětlivé reakce. Mimo jiné přispívá k jejímu rozvoji také celé řada endokrinních, imunitních faktorů a neuromediátorů, přičemž důležitými faktory jsou například aktivace proteinkinázy C (PKC), která inhibuje inzulínovou signalizaci nebo již zmiňované mastné kyseliny (MK), které přispívají k rozvoji inzulínorezistence aktivací Toll-like receptoru 4 (TLR4). Mnohé z těchto látek se současně podílejí i na rozvoji závažných zdravotních komplikací včetně nádorových, kardiovaskulárních nebo autoimunitních onemocnění (Hotamisligil et al. 1995; Qatanani & Lazar 2007).

3.1.1.2 Nadváha a obezita

Jak již bylo řečeno výše, tuková tkáň hraje ústřední roli v rozvoji inzulínové rezistence, a tudíž i MS (Lebovitz & Banerji 2005). Nadváha, případně obezita je významným rizikovým faktorem MS, neboť je přítomna až u 80 % jedinců s tímto syndromem, a zdá se, že ve většině případů předchází výskytu ostatních komponent MS (Cameron et al. 2008). Navýšení množství tukové tkáně v organismu nad fyziologickou hranici, tj. nadváha nebo obezita je nejčastěji definována na základě hodnoty indexu tělesné hmotnosti (BMI; Body Mass Index), který je vypočten z tělesné hmotnosti a výšky jedince. Hodnota BMI rovna nebo vyšší 25 kg/m² značí nadváhu, hodnota rovna nebo vyšší než 30 kg/m² pak vede k diagnóze obezity. Přestože má diagnostika nadváhy a obezity na základě BMI určité limity, neboť nemusí vždy zcela korelovat s procentuálním zastoupením tuku v organismu, patří stále mezi nejužívanější diagnostické kritérium. S cílem určit rozložení tělesného tuku bývá výpočet BMI často doplněn o měření obvodu pasu, kterým je reflektováno množství tuku v oblasti břicha, tj. obezita abdominálního

(viscerálního) typu. V porovnání s gynoidním typem obezity, při kterém je tuk akumulován spíše subkutánně, je nahromadění tuku v oblasti pasu závažnější a rizikovější z hlediska rozvoje metabolických komplikací obezity včetně inzulínové rezistence (viz výše), dyslipidémie a arteriální hypertenze (viz kapitoly 3.1.1.4. a 3.1.1.5.). Distribuce tělesného tuku je v současnosti považována za významnější rizikový faktor kardiovaskulárních onemocnění, než obezita sama o sobě (Després et al. 1990; Després 2006).

Adipocyty, tj. buňky tvořící tukovou tkáň, produkují a secernují do krevního řečiště řadu látek proteinové povahy souhrnně označovaných jako adipokiny (též adipocytokiny). U osob s výraznou akumulací tukové tkáně v oblasti břicha jsou pak ve zvýšené míře secernovány adipokiny s prozánětlivým působením, jako je například cytokin TNF- α (Tumor Necrosis Factor α), mezi jehož účinky patří stimulace lipolýzy nebo snižování inzulínové senzitivity, IL-6 (Interlukin 6), nebo leptin. Zároveň v adipocytech dochází ke snížení produkce protizánětlivých adipokinů, jako jsou adiponektin, který za fyziologických podmínek zvyšuje inzulínovou senzitivitu periferních tkání a působí proti rozvoji aterosklerozy (Bahceci et al. 2007; Wensveen et al. 2015). Akumulace buněk imunitního systému, především makrofágů v tukové tkáni má pak za následek vznik systémového chronického zánětu, který přispívá k inzulínové rezistenci (Lee et al. 2011; Weisberg et al. 2003).

Nadváha, respektive obezita je multifaktoriální onemocnění, na jejímž rozvoji se podílí jak složka genetická v rámci tzv. polygenní dědičnosti a složka prostředí, zejména strava. Vznik obezity je dán vysokým energetickým příjmem, zatímco energetický výdej je snížený, což vede k tzv. pozitivní energetické bilanci. Adekvátní energetický příjem, nejlépe pak v kombinaci s navýšením energetického výdeje v podobě fyzické aktivity je nejúčinnější preventivní, ale také terapeutickou metodou nadváhy a obezity, a tudíž i MS.

3.1.1.3 Porucha glukozové tolerance

Koncentrace glukózy v periferní krvi je za fyziologických podmínek udržována v relativně úzkém rozmezí. Regulace glykémie se účastní řada hormonů, přičemž snižování glykémie je pod kontrolou inzulínu (viz výše), zatímco k jejímu zvýšení přispívají glukagon, somatotropní hormon, katecholaminy a glukokortikoidy. Dysregulace inzulínové signalizace v důsledku inzulínové rezistence je velmi často spojena s hyperglykemií, zejména pak v pokročilejší fázi onemocnění, kdy buňky Langerhansových ostrůvků selhávají a přestávají tvořit a secernovat inzulín.

Podle WHO je porucha glukózové tolerance (IGT; Impaired Glucose Tolerance), jakožto diagnostické kritérium MS, definována jako zvýšení glykémie stanovené po 2 hodinách orálního glukózového tolerančního testu¹ (OGTT) nad fyziologickou hranici, konkrétně na hodnotu v rozmezí 7,8 až 11,0 mmol/l. Tento patofyziologický stav organismu je označován jako prediabetes. Mimo poruchy glukózové tolerance vede k diagnóze prediabetu také zvýšení glykémie na lačno (IFG; Impaired Fasting Glucose) na hodnotu v rozmezí 6,1 až 6,9 mmol/l (WHO 2006). Prediabetes je považován za rizikový faktor rozvoje diabetu 2. typu, který se manifestuje při relativním nedostatku inzulínu z důvodu snížené citlivosti tkání k jeho působení, na rozdíl od diabetu 1. typu, který má autoimunitní podklad (Stern et al 2002).

Hyperglykémie často probíhá asymptomaticky, neboť jen v malém procentu případů dochází k charakteristickým příznakům v podobě polyurie a polydipsie. Většinou však bývají příznaky méně nápadné a nespecifické, vyskytuje se únava, vyšší náchylnost k infekcím, a je tedy běžné, že jedinci je diabetes diagnostikován až při manifestaci sekundárních komplikací onemocnění. Komplikace hyperglykémie lze rozdělit na akutní v podobě extrémních výkyvů glykémie (například hypoglykémie a hyperglykemický hyperosmolární syndrom) a chronické (retinopatie, neuropatie, nefropatie), které se rozvíjí při protražované hyperglykémii. Zvýšená hladina krevní glukózy současně akceleruje aterosklerotické změny a zvyšuje riziko úmrtí z kardiovaskulárních příčin. Lze shrnout, že hyperglykémie je stav zhoršující kvalitu života a zvyšující riziko předčasného úmrtí jedince (Fox et al 2005; Schroeder et al 2005).

Patofyziologický mechanismus propojující inzulínovou rezistenci a hyperglykémii definoval v roce 2009 DeFronzo v rámci tzv. zlověstného oktetu (de Fronzo et al. 2009). Ten zahrnuje inzulínovou rezistenci buněk svalové, jaterní a nervové tkáně, poruchu sekrece inzulínu β -buňkami pankreatu v kombinaci s jejich rezistencí k působení inkretinových hormonů. Dále pak zvýšená produkce glukózy jaterními a ledvinnými buňkami a abnormální metabolismus tukové tkáně. Patofyziologický mechanismus je ve zkratce zmíněn v dalším odstavci.

Při protražované inzulínové rezistenci, při které je nadprodukován inzulín, dochází k selhání a smrti buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu, což vede k relativnímu nadbytku α -buněk tvořících glukagon. V důsledku neschopnosti tkání využívat krevní glukózu (působení

¹ Orální glukózový toleranční test je lékařská metoda užívaná při diagnostice T2D, neboť poskytuje informace o tom, jak dobře se organismus jedince vyrovnává s nadměrným přísunem glukózy. Nejprve je pacientovy změřena glykémie na lačno a poté je podán nápoj obsahující 75 g glukózy. Během následujících dvou hodin je pacientovi pravidelně měřena glykémie.

inzulinu) a stimulace jaterní glukoneogeneze a glykogenolýzy (působení glukagonu) se rozvíjí hyperglykémie. Nárůst glykémie je dále stimulován zvýšením resorpce glukózy v ledvinných tubulech. Rezistence tukové tkáně k účinkům inzulínu pak vede k excesivní lipolýze, jejíž následkem se zvyšuje sérová koncentrace FFA. FFA nejenže působí lipotoxicky a přispívají tak k dalšímu poškození β -buněk, ale jsou také vychytávány játry, kde stimulují glukoneogenezi a tvorbu VLDL cholesterolu (viz kapitola 3.1.1.4.). Snaha organismu snížit krevní hladinu FFA vede k ukládání FFA v podobě TG do svalových buněk, což snižuje inzulínovou senzitivitu svalové tkáně (Bergman & Ader 2000). V centrálním nervovém systému (CNS) vede inzulínová rezistence k potlačení anorexigenního působení inzulínu, stimulaci apetitu, často doprovázeného nárůstem tělesné hmotnosti, což opět přispívá k inzulínové rezistenci (de Fronzo et al. 2009; Porte et al. 2005). Z výše uvedeného je patrné, že mechanismy navozující a udržující inzulínovou rezistenci a hyperglykémii se vzájemně potencují a jejich role při vzniku zmíněných onemocnění je tak vysoce komplexní.

Rizikovými faktory prediabetu a diabetu 2. typu jsou zvýšení tělesné hmotnosti, sedavý způsob života a nesprávná skladba stravy s převahou průmyslově zpracovaných výrobků, které jsou bohaté na nasycené a transnenasycené mastné kyseliny v kombinaci s jednoduchými sacharidy. Základem prevence a terapie rozvoje tohoto onemocnění je tak udržování optimální tělesné hmotnosti a zdravá životospráva (Tabák et al. 2012).

3.1.1.4 Dyslipidémie

Jako dyslipidémie bývá označován patofyziologický stav organismu, při kterém lze v periferní krvi jedince detekovat abnormální hladiny lipidů a/nebo lipoproteinů. Příčinou dyslipidémie je nejčastěji porucha v metabolismu lipidů, tj. zvýšení jejich syntézy nebo snížené odbourávání v jaterní tkáni, případně jejich kombinace. K nejběžnějším typům dyslipidemií patří zvýšená koncentrace celkového cholesterolu, VLDL (Very Low Density Lipoprotein) a LDL (Low Density Lipoprotein) cholesterolu (hypercholesterolemie), zvýšená koncentrace triglyceridů (TG) (hypertriacylglycerolemie) nebo snížená koncentrace HDL-cholesterolu. Pro diagnostiku MS jsou zásadní krevní hodnoty TG a HDL-cholesterolu (Cannon 2008).

Dyslipidémie je, společně s obezitou, diabetem, arteriální hypertenzí či kouřením, považována za jeden z nevýznamnějších rizikových faktorů pro rozvoj aterosklerózy (Reiner et al. 2011). Při ateroskleróze dochází k ukládání tukových depozit do cévní stěny, což může vést k obliteraci cévy a ischemizaci tkání za uzávěrem, případně i k ruptuře cévní stěny a masivnímu krvácení. Hlavní aterogenní účinek, tedy podmiňující vznik a následný rozvoj zánětu v cévních

stěnách, mají modifikované (nejčastěji oxidované) LDL částice, které následně nejsou schopny interagovat se svými receptory. Místo toho, se LDL částice váží na scavengerové receptory v membráně makrofágů, které se posléze přemění na tzv. pěnové buňky, které se deponují v cévní stěně a jsou prvním stádiem aterosklerózy. Oxidované LDL částice stimulují expresi jaderného receptoru aktivovaného peroxizomovými proliferátory (PPAR- γ ; Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ), což vede k indukci genové exprese scavengerového receptoru CD36 (Cluster of Differentiation 36) a potenciaci vychytávání modifikovaných LDL partikulí. Dále stimulují oxidované LDL transkripci celé řady cytokinů, adhezních molekul a proliferčních faktorů, a naopak inhibují tvorbu oxidu dusnatého, který má antiaterogenní vlastnosti (Lusis 2000; Tontonoz et al. 1998). Ve svém důsledku ateroskleróza významně zvyšuje riziko ischemické choroby dolních končetin, srdce a CMP, tj. stavy, které mohou jedince přímo ohrozit na životě. Důležitou úlohu v prevenci a terapii dyslipidémie je odstranění rizikových faktorů a dodržování zdravého životního stylu, případně farmakoterapie statiny.

Inzulinová rezistence přispívá k rozvoji dyslipidémie hned několika mechanismy. Deregulace inzulínové signalizace vede k aktivaci lipolýzy v tukových buňkách (adipocytech), což vede ke zvýšení hladin FFA v periferní krvi. FFA jsou ve zvýšené míře vychytávány játry, kde slouží pro syntézu TAG, které jsou následně uvolňovány do krevního oběhu. Inzulin také zvyšuje syntézu VLDL cholesterolu (částice transportující TG z jater do periferie) a inhibuje lipoprotein lipázu, enzym degradující VLDL částice, čímž je limitováno jejich odbourávání. TG obsažené ve VLDL částicích jsou pak odstraňovány HDL partikullemi, které se však primárně účastní metabolismu cholesterolu, a to jejich transportem z periferie do jater. HDL částice obsahující zvýšené množství TG jsou pak ve větší míře, v porovnání s fyziologickým stavem, degradovány jaterní lipázou a odstraňovány z cirkulace. To má za následek snížení množství HDL cholesterolu v krevním řečišti. Inzulinová rezistence jaterní tkáň potencuje dále ukládání TG v hepatocytech, což má za následek rozvoj nealkoholové jaterní steatózy a steatohepatitidy, případně až jaterní cirhózy (Marchesini et al. 1999; Reaven 1991).

3.1.1.5 Hypertenze

Zvýšený krevní tlak neboli hypertenze je další z rizikových faktorů pro rozvoj MS. Ve většině národních a mezinárodních směrnic je pro diagnózu hypertenze prahová hodnota systolického krevního tlaku rovna nebo vyšší než 140 mm Hg a/nebo diastolického krevního tlaku rovna nebo vyšší 90 mm Hg (James et al. 2014). V Harmonizované definici pro diagnostiku MS (viz

výše) jsou tyto hodnoty krevního tlaku (TK) sníženy na 130 mm Hg systolického TK a/nebo 85 mm Hg diastolického TK (Alberti et al. 2009).

Zatímco méně frekventovaná sekundární hypertenze vzniká na podkladě přítomného onemocnění (např. primární hyperaldosteronismus), primární, též esenciální hypertenze tvořící více než 70 % všech případů nemá jasně definovanou příčinu. Zvýšení krevního tlaku je dáváno do souvislosti s nadměrným příjmem soli, alkoholu a přirozeně se zvyšuje také s věkem jedince. Stárnutí jedince vede ke zvyšování zejména systolického TK, jehož příčinou je postižení cévní stěny aterosklerózou (Kearney et al. 2005). Významným rizikovým faktorem hypertenze je také vysoká tělesná hmotnost, která zvyšuje riziko rozvoje hypertenze až o 75 % (Doll et al. 2002). Protrahovaná a špatně kompenzovaná hypertenze má za následek rozvoj kardiovaskulárních onemocnění, zejména dochází k hypertrofii pravé komory, což může být příčinou srdečního selhání a úmrtí jedince. Kromě toho je hypertenze dávána do souvislosti s onemocněním ledvin, ztrátou zraku, demencí či psychických poruch (Sutendra & Michelakis 2013; Player & Peterson 2011).

Prevalence hypertenze se liší v závislosti na pohlaví a věku. Jak již bylo řečeno výše, s rostoucím věkem se počet hypertoniků zvyšuje, nicméně tento jev je patrný zejména u mužů. U žen je výskyt hypertenze, v porovnání s muži, výrazně nižší, a to až do období menopauzy, kdy se prevalence hypertenze u obou pohlaví vyrovnává. Kolem 65 roku věku je pak frekvence hypertenze vyšší u ženského pohlaví oproti mužskému (Roger et al. 2011). Vliv pohlaví a věku na odlišnou prevalenci hypertenze zřejmě odráží rozdíly v koncentracích pohlavních hormonů (viz kapitola 3.2.1.3.).

Jedním z patofyziologických mechanismů vedoucích k rozvoji hypertenze je například zvýšení resorpce sodných iontů společně s molekulami vody v ledvinách v důsledku zvýšené aktivity Na^+/H^+ pumpy v membráně buněk ledvinných tubulů, která vede ke zvýšení objemu extracelulární tekutiny (Coatmellec-Taglioni & Ribière 2003). Nárůst koncentrace iontů sodíku v organismu má také za následek zvýšení intracelulární koncentrace vápenatých iontů, které zvyšují kontraktilitu hladké svaloviny cév, a tedy růst diastolického tlaku. Jakým způsobem je zvýšení tělesné hmotnosti spojeno se zvýšenou reabsorpcí sodných iontů není zatím objasněno, nicméně se zdá, že jednou z příčin by mohla být aktivace renin-angiotenzin-aldosteronového systému (RAAS), který reguluje resorpci sodíku v ledvinných tubulech, případně aktivace sympatického nervového systému (SNS), jehož působením se zvyšuje tonus cév (da Silva et al. 2009). K hypertenzi může dále pravděpodobně přispívat i inzulínová rezistence, neboť působí vazokonstrikčně (Muniyappa & Quon 2007).

3.1.2 Rizikové faktory MS

Etiologie MS je multifaktoriální, což znamená, že se na jeho rozvoji podílí jak složka genetická, tak složka environmentální, přičemž obě tyto složky (genetická a environmentální) se na rozvoji MS podílejí přibližně stejnou měrou (Bureau et al. 2015). Zatímco genetická složka zahrnuje především konkrétní genotyp jedince, tj. přítomnost určitých polymorfizmů, environmentálních faktorů predisponujících k rozvoji MS je dnes známo hned několik. Environmentální faktory jsou také, na rozdíl od faktorů genetických ve většině případů vůlí ovlivnitelné a jejich dopad na jedince při vzniku MS lze výrazně modifikovat.

3.1.2.1 Neovlivnitelné faktory a rozvoj MS

K neovlivnitelným rizikovým faktorům predisponujícím jedince ke vzniku MS lze, kromě výše zmíněného genového pozadí jedince dále zařadit epigenetické faktory (chemická modifikace deoxyribonukleové kyseliny - DNA a histonů), etnickou příslušnost, věk a pohlaví.

3.1.2.1.1 Genetické faktory

Genetická determinace MS je dána působením celé řady genů (polygenní dědičnost), které interagují jak vzájemně mezi sebou, tak i s faktory vnějšího prostředí. Pro polygenní dědičnost je charakteristické, že jednotlivé geny (tzv. minorgeny) predisponují jedince k onemocnění jen velmi malou měrou, nicméně, každá z jednotlivých složek MS má významný genetický základ. Důkazy o genetické determinaci MS vycházejí z rodinných a gemanologických studií (Stančáková & Laakso 2014). Heritabilita (neboli dědivost; udává, jak velká část proměnlivosti konkrétního znaku je zapříčiněna genetickými faktory) jednotlivých patofyziologií podmiňujících MS je v některých případech poměrně významná. Například heritabilita obvodu pasu je 0,46, glykémie na lačno 0,24, koncentrace TG v krvi 0,47, koncentrace HDL cholesterolu v krvi 0,60, systolického a diastolického tlaku 0,16 a 0,21 (Lin et al. 2005). Výsledné riziko rozvoje MS je u konkrétního jedince dáno kombinací alel, které jedince k syndromu predisponují a alel, které jej naopak chrání. Většina genetické variability u člověka je podmíněna tzv. polymorfismy se záměnou jednoho nukleotidu (SNP; Single Nucleotide Polymorphism), kdy je v rámci genomu jedna dusíkatá báze nahrazena jinou bází a výskyt této záměny v populaci je vyšší než 1 %.

Za jednu z genetických příčin rozvoje MS je hypotéza tzv. úsporného genotypu (thrifty genotype), jehož hlavním projevem je vysoká efektivita ukládání energie přijaté v potravě do

tukových zásob organismu. V minulosti, kdy byl nedostatek potravin velmi častý, představoval tento genotyp výhodu, neboť umožňoval jedinci přežít období hladomorů a válek. Tyto geny tak byly během evoluce selektovány a konzervovány. V dnešní době, kdy nedostatek potravy, zejména v rozvinutých zemích, prakticky nehrozí, je tento genotyp příčinou rozvoje obezity a MS (Neel 1962; Stöger 2008).

Vzhledem k tomu, že MS není onemocnění, ale soubor několika patofyziologických stavů, jsou polymorfismy podmiňující MS identické s polymorfismy ovlivňujícími jednotlivé složky MS. Jedním z nejvíce prozkoumaných genů asociovaných s MS, respektive obezitou, která hraje v patogenezi MS zásadní roli, je FTO (Fat Mass and Obesity-associated). Gen FTO kóduje demetylázu, čímž se podílí na epigenetické modifikaci, a tudíž i genové expresi DNA. SNP v intronu tohoto genu vedoucí k záměně thyminu za alanin (rs9939609) je spojen s vyšším BMI a současně i vyšším rizikem rozvoje diabetu 2. typu. V dalších studiích byl dále prokázán také vliv této varianty na zvýšení hladiny inzulínu na lačno a snížení inzulínové senzitivity. Efekt tohoto genu je patrný zejména v hypotalamu, kde se nachází centrum pro regulaci apetitu, přičemž variantní alela A tuto funkci pravděpodobně narušuje, protože snižuje pocit sytosti, navyšuje pocit hladu a ve výsledku tak vede k vyššímu energetickému příjmu (Qi et al. 2008).

Jiným polymorfismem asociovaným s inzulínovou rezistencí je záměna cytosinu za thymin v nekódující oblasti genu TCF7L2 (Transcription Factor 7-like 2; rs7903146). Přítomnost rizikové alely T je dáována do souvislosti se snížením produkce a sekrece inzulínu v β -buňkách, snížením inzulínové senzitivity tukové tkáně a stimulací glukoneogeneze v játrech, což má za následek rozvoj hyperglykémie (Dancott et al. 2006). Záměna prolinu za alanin v pozici 12 v genu PPAR γ je naopak spojena s nižším rizikem rozvoje MS, neboť jedinci nesoucí variantní alelu Ala vykazují nižší BMI a zvýšenou inzulínovou senzitivitu. Tento jaderný faktor stimuluje transkripci genů, jejichž produkty se podílejí na energetickém a lipidovém metabolismu (Deeb et al. 1998).

Jiný polymorfismus, který zde bude zmíněn z důvodu, že se vyskytuje v genomu některých modelových potkaních kmenů, které byli použity v praktické části této diplomové práce, je polymorfismus v genu *Zbtb16*. Gen *Zbtb16* (Zinc Finger and BTB domain containing 16) též *Plzf* (Promyelocytic Leukemia Zinc Finger) je transkripční faktor, který je lokalizovaný na chromozomu 11. U savců je tento gen vysoce konzervovaný a je exprimován ve většině lidských tkáních, zejména ve tkáni tukové. Existuje řada prací, které poukazují na roli *Zbtb16* v patogenezi prakticky všech komponent MS. Studie s experimentálními modely předkládají důkazy o účincích *Zbtb16* na adipogenezi, srdeční hypertrofii, fibrózu, hypertenzi, hladinu lipidů a citlivost na inzulín. Genové varianty *Zbtb16* korelují také s antropometrickými

parametry a hladinami lipidů v lidské kohortě. Je tedy pravděpodobné, že změněná funkce genu *Zbtb16* by mohla být jedním z genetických spouštěčů vývoje MS (Bendlová et al. 2017; Šeda et al. 2017).

3.1.2.1.2 Věk a Pohlaví

Významným rizikovým faktorem pro rozvoj MS je věk. Zatímco ve věkové kategorii 20 až 29 let je prevalence MS pouze 6,7 %, u jedinců ve věku 60 až 69 let prevalence MS stoupá až na 43,5 % (Ford et al. 2002). Rozdíly ve frekvenci výskytu MS lze však pozorovat i mezi pohlavími. Z řady studií vyplývá, že samci jsou k rozvoji MS oproti samicím citlivější, přičemž možnou příčinou tohoto pozorování je odlišná hladina pohlavních hormonů (viz kapitola 3.2.1.3.). Ta podmiňuje nejenom metabolické rozdíly mezi pohlavími, ale i rozdíly v imunitním systému, který hraje úlohu v rozvoji chronického zánětu a inzulinové rezistence (Mock & Nacy 1998). S prevalencí MS podle pohlaví je úzce spjata i prevalence dle věku. U žen před menopauzou je prevalence MS obecně nižší než u mužů stejné věkové kategorie. Po menopauze dochází u žen k výraznému nárůstu prevalence MS, která je tak dokonce vyšší než u stejně starých mužů (Ervin 2009). Vliv pohlaví na patogenezi MS je předmětem této práce a tato problematika bude tedy probrána podrobněji v následujících kapitolách.

3.1.2.1.2.1 Poměr pohlaví

Rozdílná citlivost plodu k vnějším podmínkám a s tím související schopnost přežití v závislosti na pohlaví se projevuje již v embryonálním stádiu. Bylo prokázáno, že v průběhu těhotenství se poměr obou pohlaví poměrně výrazně mění. Samčí embrya jsou totiž v období organogeneze mnohem citlivější k nepříznivým okolním podmínkám a dochází u nich k vyšší mortalitě oproti samicím embryím (Kellokumpu-Lehtinen et al. 1984; Chahnazarian 1988).

Primární pohlavní index, který je definován jako poměr samčích a samicích zygot, je výrazně vychýlen ve prospěch samců. Sekundární pohlavní index, který je dán poměrem narozených samců ku narozeným samicím, bývá však již nižší než primární. Například u lidských embryí byl zaznamenán pohlavní index 1,64 (164 samčích plodů na 100 samicích) a postnatální pohlavní index 1,17. Ještě nižší hodnotu lze pozorovat v rámci stanovení terciárního pohlavního indexu, který udává poměr samců a samic v dospělosti (Flegr 2005). U lidí od 55 let věku je celosvětový pohlavní poměr menší než jedna, což znamená, že v počtu jedinců této věkové kategorie dominují ženy (CIA – The World Factbook 2017).

3.1.2.1.2.2 Pohlavní hormony

Z výše uvedeného textu je patrné, že v prevalenci patofyziologií spjatých s MS hrají důležitou úlohu pohlavní rozdíly, respektive rozdíly v hladinách pohlavních hormonů. Pohlavní hormony zodpovídají za správný vývoj a funkci pohlavních orgánů a rozvoj primárních a sekundárních pohlavních znaků, které jsou pro dané pohlaví charakteristické. Mimo tyto pohlavně specifické úlohy však tyto hormony regulují také tělesné složení, energetickou homeostázu, metabolismus lipidů a sacharidů, čímž mohou ovlivňovat rozvoj metabolických onemocnění včetně MS.

Pohlavní hormony, které ovlivňují rozvoj MS, jsou látky steroidní povahy a lze je rozdělit do dvou skupin, tj. na estrogeny a androgeny. Přestože lze obě skupiny hormonů nalézt u obou pohlaví, je pro jedince ženského pohlaví charakteristická vyšší koncentrace estrogenů, zatímco androgeny se nacházejí spíše u mužů (Kim & Halter 2014).

3.1.2.1.2.2.1 Estrogeny

Estrogeny (zejména estriol a estradiol) jsou skupinou ženských pohlavních hormonů tvořených 18 uhlíky, které jsou produkovány v ovariích. Kromě jejich specifické úlohy u jedinců ženského pohlaví v zajištění reprodukčních funkcí, ovlivňují estrogeny také specifickou i nespecifickou imunitní odpověď a mohou stimulovat buněčnou i humorální složku imunity. Zvyšující se koncentrace estrogenů je spojena se zvýšením rezistence k některým infekčním onemocněním (Alexander 1988) a jejich působením se také snižuje tvorba některých prozánětlivých cytokinů (např. IL-1, IL-6, TNF α) (Jilka et al. 1992). Vysoká koncentrace estrogenů je tak spojena s nižší mírou rozvoje zánětu a předchází též oxidačnímu stresu (viz kapitola 3.2.1.3.2.), které hrají v patogenezi MS zásadní úlohu.

Protektivní funkce estrogenů při rozvoji MS také souvisí s jejich působením na buňky cévní stěny. Estrogeny nejenže zvyšují produkci NO (viz kapitola 3.2.1.5.), ale pozitivně ovlivňují také lipidový profil, čímž předcházejí rozvoji aterosklerózy. Eshtiaghi et al. (2010) pozorovali u postmenopauzálních žen, které mají přirozeně nižší hladinu estrogenů vyšší pravděpodobnost rozvoje MS oproti ženám před menopauzou. Porucha estrogenové signalizace je obecně dávána do souvislosti s nárůstem tělesné hmotnosti, poruchou glukózové tolerance, hyperinzulinémií a inzulinovou rezistencí (Murphy 2011). U mužů s nízkým množstvím enzymu aromatázy, který konvertuje testosteron na estrogeny byla společně s rizikem rozvoje obezity a inzulinové rezistence detekována i vyšší hladina krevních lipidů (Heine et al. 2000).

3.1.2.1.2.2.2 Androgeny (testosteron)

Testosteron je hlavním zástupcem skupiny androgenů, mužských pohlavních hormonů. Mimo působení na fyziologické a psychologické aspekty spjaté s mužským pohlavím, má testosteron důležitou souvislost s rozvojem MS. Testosteron vykazuje anabolické působení, zvyšuje množství svalové hmoty, brání rozvoji abdominální obezity a zvyšuje inzulínovou senzitivitu a lze tak shrnout, že z hlediska prevence MS jsou fyziologické hodnoty testosteronu a jeho přenašeče v systémové cirkulaci SHBG (Sex Hormone Binding Globulin) zcela zásadní (Laaksonen et al. 2004).

MS je spojen se snížením koncentrace cirkulujícího testosteronu, neboť abdominální obezita a jí navozená hyperinzulinémie potlačuje produkci testosteronu ve varlatech a současně i syntézu SHBG. Na druhou stranu je nízká hladina testosteronu spojena se snížením syntézy TG (Elam et al. 1986) a vyšší hladiny tohoto hormonu jsou tak dávány do souvislosti s horším lipidovým profilem a vyšší prevalencí aterosklerózy a vysokého krevního tlaku u mužů v porovnání se ženami před menopauzou, kdy se u nich manifestuje protektivní účinek estrogenů (viz výše) (Heiss et al. 1980). Že jsou tyto rozdíly mezi ženami a muži způsobeny pohlavními hormony dokazuje i fakt, že neexistují žádné podstatné rozdíly v sérových hladinách HDL nebo triglyceridů u prepubertálních dětí (Morrison et al. 1977; Beaglehole et al. 1980). U žen je s vyšší incidencí MS spojena naopak vyšší hladina testosteronu a nižší hladina SHBG (Ziaei & Mohseni 2013).

Novější výzkumy poukazují spíše na protektivní funkci testosteronu, přičemž jeho vliv je proměnlivý, a to v závislosti na jeho koncentraci. Muži s nižšími hladinami testosteronu mají vyšší tendenci k výskytu kardiovaskulárních onemocnění a T2D. U mužů středního věku s nižšími hladinami testosteronu dochází častěji k rozvoji MS než u stejně starých mužů s vyšší hladinou testosteronu (Laaksonen et al. 2004).

Nízké koncentrace androgenů sdružené s metabolickým syndromem se samostatně označuje jako syndrom hypoandrogenního metabolismu (HAM) (Gould et al. 2007).

3.1.2.1.2.3 Pohlavní rozdíly v energetickém metabolismu

Rozdíly mezi pohlavími lze pozorovat také v distribuci tělesného tuku. Zatímco u žen před menopauzou je tuk zpravidla akumulován spíše subkutánně, specificky v oblasti hýždí a stehen, u mužů a žen po menopauze se tuk akumuluje centrálně, v oblasti břicha, přičemž centrální

obezita je spojena s vyšším kardiometabolickým rizikem. Tyto rozdíly lze vysvětlit působením estrogenů, jejichž vyšší hladina u žen před menopauzou stimuluje lipoproteinovou lipázu, která akumuluje tuk v adipocytech, a jejíž aktivita je vyšší v adipocytech v oblasti stehien v porovnání s adipocyty v oblasti břicha. Současně bylo zjištěno, že u žen před menopauzou jsou adipocyty v oblasti hýždí více senzitivní k antilipolytickému účinku inzulinu a tuk je v případě potřeby preferenčně metabolizován z oblasti břicha (Lindberg et al. 1990; Lovejoy et al. 2009).

Ženy jsou také rizikovější z hlediska rozvoje obezity, neboť mají méně netukové a více tukové tkáně, což je příčinou nižšího denního energetického výdeje v porovnání s muži. Fyzická aktivita u žen také není spojena s výraznějším snižováním množství tukové tkáně oproti mužům (Lovejoy et al. 2009).

3.1.2.1.2.4 Pohlavní rozdíly v kardiovaskulárním systému

Mezipohlavní rozdíly v kardiovaskulárním systému lze pozorovat jak za fyziologických, tak i patologických podmínek. Rozdíl lze detekovat např. v počtu srdečních buněk (kardiomyocytů), jejichž počet je v prereprodukčním období u obou pohlaví přibližně stejný, nicméně s věkem se jejich počet u mužů snižuje, zatímco u žen se jejich počet během života prakticky nemění. Snižované množství kardiomyocytů u mužského pohlaví je kompenzováno navýšením objemu (hypertrofií) zbývajících buněk (Olivetti et al. 1995). Příčinou snižování počtu těchto buněk je zvýšení míry apoptózy kardiomyocytů, ke které u mužů dochází třikrát více než u žen, jak bylo pozorováno ve studii čítající 22 žen a 19 mužů (Mallat et al. 2001).

Epidemiologické studie dále ukazují, že u žen před menopauzou se ischemická choroba srdeční (ICHS) vyskytuje přibližně o 10 let později než u mužů (Vaccarino et al. 1995). Tento stav se však mění záhy po menopauze, kdy se u žen incidence ICHS zvyšuje rychleji než u mužů stejné věkové kategorie (Duvall 2003). Rich-Edards et al. (1995) ve své studii ukazují, že zatímco do 60 let věku prodělá srdeční chorobu pouze jedna ze sedmnácti žen a jeden z pěti mužů, po 60 roku života je frekvence úmrtí na srdeční onemocnění u obou pohlaví stejná, tedy jeden jedinec ze čtyř. Srdeční onemocnění je tak dnes u obou pohlaví nejčastější příčinou úmrtí.

Výše popsané rozdíly v prevalenci kardiovaskulárních onemocnění (KVO) a incidence ICHS mezi oběma pohlavími jsou pravděpodobně zapříčiněny odlišnými koncentracemi pohlavních hormonů, zejména estrogenů a androgenů a změnami jejich hladin během života (viz kapitola 3.2.1.3.3.). Kromě toho mohou mít na prevalenci KVO vliv i některé regulační proteiny, které interagují s receptory steroidních hormonů a mohou tak měnit genovou expresi (Ošťádal et al. 2009).

Na molekulární úrovni jsou důležitými signálními molekulami v kardiomyocytech ionty vápníku (Ca^{2+}), které regulují srdeční kontraktilitu. V plazmatické membráně srdečních buněk (sarkolema) se nachází vápenaté kanály typu L, které představují hlavní cestu vstupu iontů do buňky. V momentě, kdy dochází k navýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} v důsledku vtoku extracelulárních iontů do buňky, je současně aktivováno otevření vápníkových kanálů (tvořené ryanodinovým receptorem, RyR) na sarkoplazmatickém retikulu (SR), což vede k výraznému navýšení cytosolické hladiny Ca^{2+} a iniciaci svalové kontrakce. Při následné relaxaci jsou Ca^{2+} ionty odstraněny uzavřením zmíněných kanálů a aktivním transportem vápenatých iontů zpět do SR (Ca^{2+} ATP-ázová pumpa, SERCA 2) a extracelulárního prostoru ($\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ výměník; NSX) (Bers 2002).

Je zajímavé, že hladiny některých z výše uvedených proteinů se liší v závislosti na pohlaví. U zdravých samic potkana byla, v porovnání se samci, detekována v srdečních komorách signifikantně vyšší hladina proteinů NCX a RyR a zvýšena byla u samic i cytosolická hladina jedné z podjednotek kanálu Ca^{2+} typu L. Transkript kódující tuto podjednotku však byl překvapivě vyšší u samců, což poukazuje na to, že regulace genové exprese této podjednotky probíhá až na posttranskripční úrovni (Chu et al. 2005).

Významnou roli v kardiovaskulárním systému hraje oxid dusnatý (NO), který jako signální molekula navozuje vazodilataci a vykazuje též antiaterogenní účinek (Ignarro 1999). V hladině NO, respektive v množství exprimované endoteliální NO syntázy (eNOS) můžeme pozorovat pohlavní rozdíly, přičemž vyšší exprese genu kódujícího tento enzym je pozorována u samic. Vysvětlení je pravděpodobně opět hormonální, což dokazuje i práce, při které byla použita estradiolová léčba, v jejímž důsledku došlo ke zvýšení koncentrace NO a zároveň ke snížení výskytu ventrikulární arytmie během ischemie a rozsahu infarktu (Node et al. 1997).

Rizikovým faktorem pro rozvoj KVO, ale i MS je oxidační stres. U samců laboratorního potkana byla, v porovnání se samicemi, při podávání sacharóзовé stravy detekována zvýšená míra oxidačního stresu. Za protektivní efekt je u samic považována vyšší hladina estradiolu (viz kapitola 3.2.1.3.3.1.), který vykazuje antioxidační působení a snižuje tak pravděpodobně incidenci KVO a MS u žen v období před menopauzou (Busserolles et al. 2002a). U potkaních samců je pak krátkodobá konzumace sacharóзовé stravy spojena s negativním ovlivněním rovnováhy mezi produkcí volných radikálů a antioxidační ochranou, což vede ke zvýšené peroxidaci lipidů a hypertriacylglycerolemii. Podávání sacharóзовé diety bylo také doprovázeno signifikantním snížením hladiny plazmatického vitamínu E, který je významným antioxidantem (Busserolles et al. 2002b).

3.1.2.1.2.5 Pohlavně specifická genetická architektura

Do nedávné doby platilo ve vědecké sféře paradigma, že s výjimkou pohlavních chromozomů (gonozomů), které jsou u obou pohlaví odlišné, je lidský genom na somatických chromozomech (autozomech) společný a identický pro obě pohlaví a anatomické, fyziologické a behaviorální mezipohlavní rozdíly tak mohou být vysvětleny odlišnými gonozomálními geny. V posledních letech se však ukazuje, že k mezipohlavním rozdílům také přispívá tzv. pohlavně specifická genetická architektura. Celá řada studií dokazuje, že mimo odlišnosti v gonozomální genové expresi v závislosti na pohlaví, existují také mezipohlavní rozdíly v transkripci genů, které jsou lokalizovány na autozomech, a která je navíc často tkáňově specifická. Přestože se sekvence DNA, struktura genu a genové polymorfismy u obou pohlaví neliší, regulace genové exprese probíhá u obou pohlaví odlišně, což má za následek rozdíly mezi pohlavími na úrovni fenotypu. Odlišnosti se tak mohou mezi pohlavími vyskytnout v etiopatogenezi některých onemocnění, neboť jejich genom odlišně interaguje s environmentálními faktory, což může být příčinou odlišné prevalence, době nástupu a závažnosti komplexních onemocnění včetně MS (Ober et al. 2008).

Analýza genetické architektury metabolického syndromu probíhá na geneticky definovaných savčích modelech, jelikož se u řady inbredních kmenů laboratorního potkana manifestují jednotlivé komponenty MS za totožných genetických i environmentálních podmínek, což může vést k lepšímu pochopení etiologie onemocnění či k odhalení mezipohlavních rozdílů a následně přispět k účinné individualizované terapii (Timpson et al. 2018). Například pohlavně specifická incidence hypertenze (viz kapitola 3.1.1.5.) a její interakce s genotypem byla pozorována na modelu laboratorního potkana deficientního pro enzym konvertující angiotenzin (ACE; Angiotensin-Converting Enzyme), který navozuje zvýšení KT, přičemž gen pro tento enzym je lokalizován na chromozomu 10. Zatímco u samců vedla mutace v genu ACE ke snížení krevního tlaku v porovnání s kontrolní skupinou, u samic tento jev nebyl pozorován. Lze tak shrnout, že protektivní efekt mutace genu ACE se projevil pouze u samců (Krege et al. 1995).

3.1.2.2 Ovlivnitelné faktory v rozvoji MS

Ovlivnitelné faktory predisponující, nebo naopak bránící rozvoji MS souvisí s životním stylem a zahrnují kouření, spánkový režim, konzumaci alkoholu, fyzickou aktivitu a v neposlední řadě také stravovací režim (Bureau et al. 2015; Mesarwi et al. 2013). Vzhledem k tomu, že lze tyto

faktory ovlivnit vůlí, představují v souvislosti s MS hlavní cíl preventivních i terapeutických opatření.

3.1.2.2.1 Výživa

Jak již bylo zmíněno dříve, obezita je považována za jednu z hlavních příčin rozvoje MS a je pravděpodobné, že nárůst prevalence MS jde ruku v ruce s nárůstem prevalence obezity, která se v posledních letech stala, společně se svými přidruženými komplikacemi, jedním z nejvíce závažných zdravotních problémů celosvětově.

Rozvoj obezity, ale i MS zásadním způsobem souvisí se změnou způsobu stravování, ke které došlo během minulého století. Zejména rizikovou se zdá být nadměrná konzumace průmyslově zpracovaných potravin, které, přestože mají vysokou energetickou denzitu, jsou velmi chudé na některé pozitivně působící mikronutrienty (vitamíny, minerální látky a biologicky aktivní látky). Množství jednoduchých sacharidů, nasycených a transnenasycených MK, které je v těchto potravinách zpravidla navýšeno, také negativně ovlivňuje hladinu krevních lipidů, glykémii a působí obezitogenně, diabetogenně a aterogenně (Misra & Khurana 2008). Riziková může však být i vysoká spotřeba jednostranné stravy s významnou převahou potravin s vysokým glykemickým indexem (GI) na úkor potravin s nízkým GI (McKeown et al. 2004).

3.1.2.2.1.1 Vliv sacharidů na rozvoj MS

Z chemického hlediska můžeme sacharidy dělit na jednoduché (zejména monosacharidy, které se označují jako cukry) a složené (polysacharidy). Zatímco konzumace polysacharidů působí na organismus spíše pozitivně, neboť z velké části představuje nestravitelnou složku stravy (vlákninu), konzumace cukrů má na zdravotní stav jedince spíše negativní efekt. Podávání diety s vysokým obsahem sacharózy (HSD; High Succrose Diet) vede u potkanů ke zvýšení hladiny volných mastných kyselin v plazmě, TG v plazmě, játrech a srdci, poklesu aktivity plazmatických lipáz, které TG degradují a rozvoji inzulínové rezistence (Gutman et al. 1987; Chicco et al. 2003). Consitt et al. (2009) prokázali, že inzulínovou rezistencí může navozovat zvýšená tvorba komplexů mastných kyselin s dlouhým řetězcem a koenzymu A (LCFA-CoA; long-chain fatty acyl-CoA), které vznikají jako meziprodukt lipidového metabolismu. Výsledky všech těchto studií ukazují, že dyslipidémie indukovaná konzumací HSD může hrát u potkanů důležitou úlohu při snižování citlivosti k inzulínu.

Fruktóza, která je spolu s glukózou součástí molekuly sacharózy, je v játrech primárně metabolizovaná enzymem fruktokinázou. U myši krmených HSD došlo k výraznému nárůstu tělesné hmotnosti, rozvoji jaterní steatózy, zatímco u myši deficientních pro tento enzym se tyto změny nevyvinuly. Podávání diety bohaté na tuky i cukry bylo spojeno s nejvíce signifikantním rozvojem zmíněných patologií (Ishimoto et al. 2012; Ishimoto et al. 2013).

3.1.2.2.1.2 Vliv tuků na rozvoj MS

Obsah tuku ve stravě hraje v rozvoji MS zásadní vliv, ačkoliv se v posledních letech ukazuje, že spíše než celkový obsah tuku, je důležitější jejich složení. Zatímco mononenasycené a nenasycené MK působí z hlediska rozvoje MS spíše protektivně, neboť pozitivně ovlivňují lipidový profil a působí protizánětlivě, nasycené a transnenasycené MK riziko vzniku MS spíše zvyšují (Nettleton et al. 2014).

Pokud odhlédneme od zastoupení jednotlivých typů MK, vede podání diety s vysokým obsahem tuku (HFD; High Fat Diet) ke zvýšení koncentrace plazmatických MK, což je spojeno se zvýšením exprese genů, jejichž produkty se účastní transportu MK, zejména MK s dlouhým řetězcem, které nemohou volně difundovat přes plazmatickou membránu. Jednou z rodin těchto transportních proteinů jsou tzv. proteiny vázající MK (FABPs; Fatty Acid Binding Proteins) (Roepstorff et al. 2004). Ze studií vyplývá, že zvýšená koncentrace některých z těchto proteinů může přispívat k rozvoji MS, neboť jejich plazmatická koncentrace pozitivně koreluje s obvodem pasu, krevním tlakem, dyslipidemií a inzulinovou rezistencí, a to prostřednictvím jejich účinků v adipocytech a makrofázích (Furuhashi & Hotamisligil 2008). U myši krmených HFD dochází také k výraznému zvýšení tělesné hmotnosti, což bývá patrné již po dvou týdnech (Lin et al. 2000) a tato dieta může také přispívat k navození inzulinové rezistence, neboť stimuluje ukládání TG a lipidových metabolitů v jaterní a svalové tkáni (Krssak et al. 1999).

Protože dietoterapie hraje v prevenci obezity a jejích sekundárních komplikací včetně MS důležitou úlohu, byl v posledních letech v rámci různých výživových doporučení kladen důraz na omezení konzumace tuků za současného navýšení příjmu sacharidů. Toto doporučení však mělo za následek nárůst výskytu obezity, KVO, T2D a MS a stigmatizace tuků odbornou i laickou veřejností tak v posledních letech pomalu mizí. K tomu přispělo i nedávné odhalení manipulace s výsledky vědeckých studií, v nichž byly tuky klamavě označeny za hlavní příčinu civilizačních onemocnění, zatímco vliv sacharidů byl bagatelizován a řada studií z posledních let, které jednoznačně poukazují na negativní vliv snížené konzumace tuků na zdravotní stav (Ludwik 2016). Z řady studií také vyplývá, že diety s navýšeným obsahem tuků na úkor

sacharidů jsou z hlediska snižování tělesné hmotnosti v praxi úspěšnější v porovnání např. s nízkokalorickými dietami, které neberou ohled na poměr živin (Goday et al. 2016).

4 Materiál a metody

4.1 Modelové organismy

Pro vypracování praktické části diplomové práce byly použity savčí experimentální modelové kmeny laboratorního potkana (*Rattus norvegicus*). Laboratorní potkan, jehož genom byl v minulosti několikrát kompletně sekvenován, je již dlouhou dobu zavedeným modelovým organismem, běžně využívaným především v rámci fyziologických a farmakologických studií komplexních onemocnění včetně MS.

S ohledem na stanovené cíle diplomové práce, tj. objasnění úlohy diety s navýšeným množstvím tuku, respektive sacharidů v patogenezi MS v závislosti na pohlaví, byly pro tento experiment vybrány čtyři různé geneticky definované kmeny laboratorního potkana. Konkrétně se jedná o kmeny SHR (Spontaneously Hypertensive Rat), PD/Cub (Polydactylous Rat) a SHR.PDZbtb16, které přirozeně manifestují některé z patofyziologických stavů organismu podmiňujících MS a současně jsou senzitivní k nutriční intervenci. V jednom z experimentů byl také použit kmen laboratorního potkana BN/Cub (Brown Norway). Všechny uvedené kmeny jsou vysoce inbrední a jsou chovány a udržovány cíleným křížením bratr × sestra na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN.

Všechny postupy týkající se práce s experimentálními modely byly prováděny v souladu s platnou legislativou ČR a EU na ochranu zvířat, který je v souladu s doporučeními Rady Evropy o používání laboratorních zvířat (86/609/ECC). Experimentální protokol použitý pro vypracování této diplomové práce schválila Etická komise 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

4.1.1 Kmen SHR

Oligogenní inbrední kmen spontánně hypertenzního potkana - SHR (Rat Genome Database ID: 631848) byl vytvořen v roce 1963 v Japonsku selektivním křížením geneticky nehomogenního potkaního kmene Wistar (Okamoto & Aoki 1963) a v dnešní době patří k vůbec nejčastěji využívanému kmeni potkana pro výzkum primární hypertenze. V roce 1999 byla navíc u tohoto kmene identifikována komplexní přestavba genu *Cd36/Fat*, který kóduje transportér mastných kyselin s dlouhým řetězcem přes cytoplazmatickou membránu buněk tukové tkáně, srdečního

a příčně pruhovaného svalu. Kmen SHR nesoucí deleční mutaci tohoto genu tak zcela postrádá funkční protein Cd36 (FAT) a vykazuje tak určité abnormality tukového metabolismu (Aitman et al. 1999). Z tohoto důvodu byl tento kmen v nedávné době také celosvětově ustaven jako model MS (Pravenec et al. 2014). Kmen SHR je současně metabolicky senzitivní na manipulaci podáváním vysokosacharóзовé diety. Genom tohoto potkaního kmene byl také v minulosti několikrát kompletně sekvenován (Atanur et al. 2010; Simonis et al. 2012). Kolonie potkanů kmene SHR, která je chována v Praze pochází původně z Národního institutu zdraví v USA a již více než 25 let je udržována na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze a Akademii věd České republiky cíleným křížením bratr × sestra.

4.1.2 Kmen PD/Cub

Kmen polydaktylního potkana PD/Cub (Rat Genome Database ID 728161; Cub: Charles University, Institute of Biology) je vysoce inbrední potkaní kmen, jež byl vytvořen na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze z geneticky nehomogenního potkaního kmene Wistar, u kterého byla zachycena spontánní mutace vedoucí k rozvoji malformace končetin a vzniku syndromu polydaktylie-luxace. Hlavními fenotypovými znaky tohoto kmene je preaxiální polydaktylie končetin a postižení kostí bérce projevující se luxací zadních končetin, v důsledku přítomnosti mutantní alely *Lx* lokalizované na chromozomu 8. Od roku 1969 je kmen PD/Cub chován na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN systémem cíleného křížení bratr × sestra po více než 90 generací (Křen 1975).

Tento experimentální model je v dnešní době nejčastěji využíván pro studium vývoje končetin a teratogeneze a v nedávné době byl rovněž ustanoven také jako model některých komplexních onemocnění včetně hypertriglyceridémie (Vrána et al. 1993), MS (Šedová et al. 2000) a stal se i předmětem několika nutrigenetických a farmakogenetických studií (Šeda et al. 2008; Šedová et al. 2007; Šedová et al. 2012). V rámci metabolických abnormalit vykazuje kmen PD/Cub větší velikost epididymálního tukového tělesa, která je užívána jako marker obezity centrálního typu (viz kapitola 3.1.1.2.), zvýšenou hladinu nenasycených mastných kyselin v periferní krvi, hyperinzulinémií a výraznou inzulinovou rezistencí (Šedová et al. 2000). Ve všech zmíněných parametrech sacharidového a lipidového metabolismu vykazuje tento kmen výraznější odchylky v porovnání s kmenem SHR (viz výše).

4.1.3 Kmen SHR.PDZbtb16

Kongenní kmen potkana SHR.PDZbtb16, který je geneticky predisponovaný k vyšší citlivosti na faktory predisponující jedince k rozvoji jednotlivých patofyziologických stavů organismu podmiňující MS, byl nedávno vytvořen na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze. Tento potkaní kmen nese na genomickém pozadí inbredního potkaního kmene SHR mutovaný gen *Zbtb16*, pocházející z potkaního kmene PD/Cub (viz výše). Od kmene SHR se tudíž kmen SHR.PDZbtb16 liší pouze jedním genem, a to konkrétně variantou genu *Zbtb16*. Z dostupné literatury je známo, že tento gen pleiotropním způsobem ovlivňuje parametry MS, a to nejen u potkana (Liška et al. 2017), ale i člověka (Bendlová et al. 2017). Při manipulaci podáváním vysokosacharóзовé diety vykazuje kmen SHR.PDZbtb16, ve srovnání se svým progenitorovým kmenem SHR, horší glukózovou toleranci, sníženou inzulínovou senzitivitu kosterního svalu a vyšší sérovou hladinu TG (Kábelová et al. 2017).

4.1.4 Kmen BN/Cub

Potkaní kmen Brown Norway (BN/Cub) (Rat Genome Database ID 737899) pochází z divoce žijících potkanů, kteří byli odchyceni v roce 1917 v USA a následně chováni odděleně od ostatních kmenů. Na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1.LF UK a VFN v Praze je tento kmen chován od roku 1964 systémem cíleného křížení bratr × sestra po více než 90 generací. Kmen BN/Cub je běžně využíván jako kontrolní kmen pro metabolické a fyziologické studie. Genom tohoto kmene byl navíc kompletně sekvenován (Gibbs et al. 2004) a několik let probíhá také systematická analýza jeho fenomu (Kwitek et al. 2006).

Zatímco výše uvedené kmeny jsou metabolicky senzitivní k nutriční manipulaci vysokosacharóзовou dietou, u kmene BN se MS při jejím podávání nerozvíjí. Podávání diety s vysokým obsahem tuků však vede u kmene BN k rozvoji hypercholesterolemie (Šeda et al. 2005).

4.2 Experimentální protokol

Potkani výše uvedených kmenů byli narozeni a chováni na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze, v místnosti se stálou teplotou (23 °C), vlhkostí (55 %) a řízeným režimem světla a tmy (12/12 hodin). Po celou dobu trvání experimentu měla zvířata volný přístup k potravě a vodě.

Všem potkanům určeným k experimentu byla od jejich narození podávána standardní dieta (STD, Standard diet) (viz Tab. 2) (Ssniff RZ, Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Germany). Po dosažení pohlavní dospělosti, konkrétně v pěti měsících věku byli všichni potkani v rámci jednotlivých kmenů rozděleni do dvou skupin v závislosti na pohlaví (n=8 kmen/pohlaví/dieta) a následně jim byla po dobu dvou týdnů podávána *ad libitum* vysokotuková dieta (HFD; High Fat Diet) (viz Tab. 2) (Ssniff, Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Germany), nebo vysokosacharozová dieta (HSD; High-Sucrose Diet) (viz Tab. 2) (Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika). HFD byla konkrétně podávána potkaním kmenům SHR, PD/Cub, SHR.PDZbtb16, zatímco HSD byla podávána kmenům PD/Cub a BN/Cub. Procentuální zastoupení makronutrientů (lipidů, bílkovin a sacharidů) v použitých dietách z hlediska energetického krytí je uvedeno v Tab. 2. Během podávání experimentálních diet byla dvakrát týdně monitorována tělesná hmotnost všech potkanů a množství zkonsumované diety (Adventurer Pro Precision Balance AV2102c, Ohaus, Melrose, USA).

Tab. 2 Procentuální složení použitých diet z hlediska energetického krytí. STD, Standardní dieta; HFD; Vysokotuková dieta, HSD; Vysokosacharozová dieta

Makronutrienty	Lipidy	Proteiny	Sacharidy
STD	10 %	26 %	64 %
HFD	59 %	15 %	26 %
HSD	10,4 %	19,6 %	70 %

4.3 Orální glukózový toleranční test

Po uplynutí doby experimentu byl po nočním lačnění u všech potkanů proveden orální glukózový toleranční test (OGTT). Krev pro stanovení glykémie byla odebírána z ocasní žíly v intervalech 0, 30, 60, 90, 120 a 180 minut po intragastrickém bolusovém podání 30% vodného roztoku glukózy (3 g/kg tělesné hmotnosti) (Glukopur, Natura, Havlíčkův Brod, Česká republika). Pro stanovení glykémie byl použit komerčně dostupný glukometr (Bayer Contour TS Glucose Monitor, Basel, Switzerland), který funguje na principu elektrochemické metody. Pro přesnější porovnání schopnosti organismu reagovat na zvýšení hladiny glukózy byla vypočtena hodnota AUC (Area under the glycemic curve), tato hodnota obecně vyjadřuje míru biologické dostupnosti podané látky.

4.4 Stanovení metabolického a lipidového profilu z periferní krve

Krev odebraná z ocasní žíly potkanů byla na dobu minimálně dvaceti minut ledována a poté centrifugována (3000 rpm, - 4 °C, 10 minut) (Refrigerated Centrifuge 5415R, Eppendorf, Hamburk, Německo). Supernatant (nesražená krev) byl přepipetován do čisté zkumavky a opět centrifugován (5000 rpm, - 4 °C, 5 minut). Získané sérum (supernatant) bylo přeneseno do čisté zkumavky a uloženo do - 60°C, kde bylo skladováno pro následná stanovení (Sanyo Upright Ultra-low -86C Freezer Model NO. MDFU72VC, Sanyo, Osaka, Japonsko).

Pro stanovení vybraných parametrů (nonHDL a HDL-cholesterol, TAG, FFA, ALT, AST, inzulin), byly vždy použity vzorky šesti potkanů z každé experimentální skupiny. Stanovení těchto parametrů probíhalo na spolupracujícím pracovišti na Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM). Koncentrace TAG, nonHDL-cholesterolu a HDL-cholesterolu byly měřeny standardními enzymatickými metodami, za použití komerčně dostupných kitů (Erba-Lachema, Brno, Česká republika), koncentrace volných (neesterifikovaných) mastných kyselin (FFA) byla stanovena pomocí kolorimetrického kitu na bázi acyl-CoA oxidázy (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo). Koncentrace sérového inzulinu byla stanovena pomocí ELISA kitu (Mercodia, Uppsala, Švédsko). Koncentrace alaninaminotranferázy (ALT) a aspartátaminotransferázy (AST) byly měřeny kolorimetricky komerčně dostupnými kity (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA).

4.5 Odběr orgánů

Po usmrcení potkanů dekapitací byly, za účelem stanovení hmotnosti vnitřních orgánů, odebrány tyto orgány: srdce, játra, ledviny, nadledviny, svalová tkáň (*musculus soleus*), hnědý, retroperitoneální a epididymální tuk (u samců), respektive periovariální tuk (u samic) (AX324, Adventurer® OHAUS Europe GmbH, Switzerland). Odebrané orgány byly zabaleny do hliníkové folie, zamrazeny v tekutém dusíku a umístěny do -60 °C, kde byly skladovány (Sanyo Upright Ultra-low -86C Freezer Model NO. MDFU72VC, Sanyo, Osaka, Japonsko).

4.6 Glykogeneze ve svalové tkáni

Bazální a inzulinem stimulovaná inkorporace glukózy do glykogenu ve svalové tkáni (bránice), byla měřena *ex vivo*. Nejprve byla bránice po dobu 2 hodin inkubována v 95% O₂ + 5% CO₂

v Krebs-Ringerově bikarbonátovém pufru (pH = 7,4) obsahujícím 0.1 $\mu\text{Ci/ml}$ [U-14C] značené glukózy (UVVR, Praha, Česká Republika), 5 mM neznačené glukózy a 2.5 mg/ml bovinního sérového albuminu (Fraction V; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) v přítomnosti, či nepřítomnosti 250 $\mu\text{U/ml}$ inzulínu v inkubačním mediu. Glykogen vzniklý za bazálních podmínek (bez stimulace inzulínem) byl extrahován a poté byla měřena inzulínem stimulovaná glykogeneze.

4.7 Lipogeneze v tukové tkáni

Části epididymální tukové tkáně byly po dobu 2 hodin inkubovány v Krebs-Ringerově bikarbonátovém pufru s 5 mmol/l glukózou, 0.1 μCi [U-14C] značenou glukózou/ml (UVVR, Prague, Czech Republic) a 2 % bovinním sérovým albuminem, plynnou fází 95 % O_2 and 5 % CO_2 v přítomnosti, či nepřítomnosti 250 $\mu\text{U/ml}$ inzulínu v inkubačním mediu. Inkubace probíhala při 37 °C v uzavřených nádobách ve vodném prostředí na laboratorní třepačce. Pro detekci inkorporace [U-14C] značené glukózy do neutrálních tuků, byla tuková tkáň odstraněna z inkubačního media, promyta ve fyziologickém roztoku a umístěna do chloroformu. Části tkáně byly rozrušeny homogenzátorem s teflonovým pístem. Po přidání methanolu (ve výsledném poměru chloroform:metanol 2:1) byly lipidy přes noc při 4 °C extrahovány. Po odstranění zbývajících kousků tkání, byl k čistému extraktu přidán KH_2PO_4 . Vytvořený roztok byl odpařen, znovu rozpuštěn ve scintilační tekutině. Radioaktivita vzorku byla měřena ve scintilačním detektoru.

4.8 Statistické zpracování dat a jejich grafické znázornění

Získaná morfometrická a metabolická data byla vnesena do integrované databáze a dále statisticky zpracována (STATISTICA12_CZ), což nám umožnilo porovnání požadovaných charakteristik v rámci jednotlivých skupin potkanů (rozdíl mezi pohlavími v rámci stejného kmene a typu diety, tj. samci \times samice), ale i komplexnější srovnání mezi skupinami (různá dieta v rámci stejného kmene a pohlaví, tj. HFD \times HSD).

Pro porovnání morfometrických a metabolických parametrů mezi analyzovanými potkaními skupinami byla použita vícecestná analýza rozptylu (Two-way ANOVA) s hlavními faktory „pohlaví“ (M \times F), „kmen“ (SHR \times PD/Cub \times SHR.PDZbtb16 \times BN/Cub) a „dieta“ (HFD \times HSD), s následnou Tukeyho post-hoc metodou porovnávání jednotlivých skupin.

Hladina významnosti Tukeyho post-hoc testu byla zvolena $p < 0,05$. Grafické zpracování dat bylo provedeno v programu STATISTICA12_CZ a MS Excel (Microsoft Office 365).

5 Výsledky

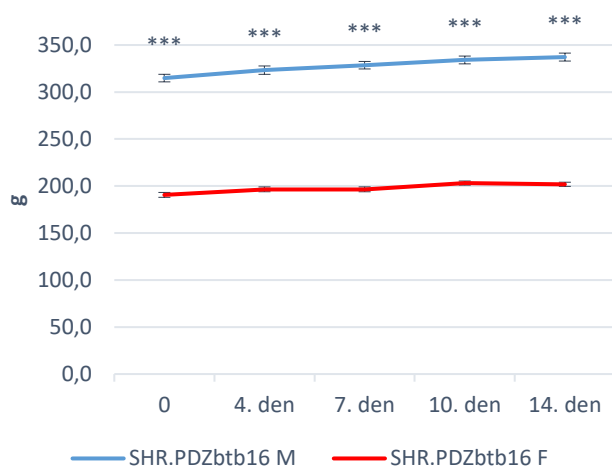
5.1 Vysokotuková dieta

5.1.1 Vliv vysokotukové diety na morfometrické parametry

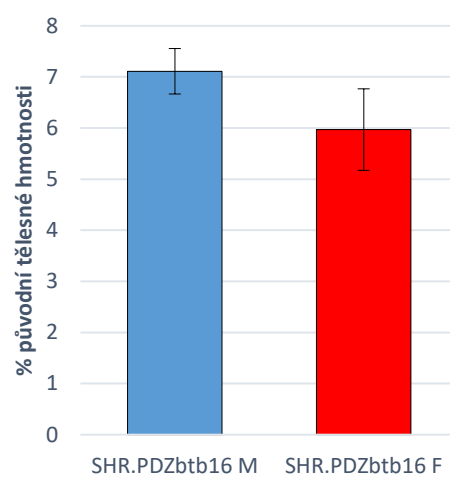
Cílem stanovení morfometrických parametrů, konkrétně nárůstu tělesné hmotnosti a hmotnosti vybraných tělesných orgánů, bylo posoudit vliv HFD na tyto parametry a zachycení případných rozdílů mezi pohlavími v rámci potkaních kmenů SHR, PD/Cub a SHR.PDZbtb16.

Co se týká tělesné hmotnosti, v rámci jednotlivých potkaních kmenů byla hmotnost samic všech uvedených kmenů signifikantně nižší než hmotnost samců, a to přibližně o 130 g. Nárůst tělesné hmotnosti během podávání HFD byl u samic i samců všech potkaních kmenů rovnoměrný. V rámci kmene PD/Cub byl zaznamenán signifikantně větší váhový přírůstek u samic (8,4 % původní tělesné hmotnosti) oproti samicím (4,3 % původní tělesné hmotnosti) ($p=5,16 \times 10^{-4}$). Mezi pohlavími potkanů kmene SHR a SHR.PDZbtb16 nebyl během pokusu pozorován žádný výrazný rozdíl v nárůstu tělesné hmotnosti. Nejnižší váhový přírůstek byl detekován u samic kmene PD/Cub (4,3 % původní tělesné hmotnosti) v porovnání se samicemi kmene SHR.PDZbtb16 (6,6 % původní tělesné hmotnosti) ($p=0,04$) a SHR (8,5 % původní tělesné hmotnosti) ($p=3,74 \times 10^{-4}$). Mezi samci v rámci testovaných kmenů nebyl nalezen žádný signifikantní rozdíl ve váhovém přírůstku (viz Graf 1A, 1B a 1C).

1A. Tělesná hmotnost



1A. Váhový přírůstek





Graf 1. Změny tělesné hmotnosti a váhový přírůstek potkanů krměných HFD. Průběh křivky znázorňuje změny tělesné hmotnosti potkanů od začátku podávání HFD (0) až do dne, kdy byli potkani vystaveni 12 hodinovému lačnění (14. den). Hodnoty uvedené v grafu představují průměr \pm SEM z osmi nezávislých měření ($n=8$ /pohlaví/kmen). Graf 1A – kmen SHR.PDZbtb16; Graf 1B – kmen SHR; Graf 1C – kmen PD/Cub; M, samci; F, samice; *** $p \leq 0,001$.

Větší množství zkonsumované diety (v průměru o 5 g/den) bylo zaznamenáno u samců v porovnání se samicemi v rámci všech testovaných potkaních kmenů, konkrétně u kmene SHR.PDZbtb16 ($p=6,14 \times 10^{-6}$), SHR ($p=1,72 \times 10^{-5}$) a PD/Cub ($p=2,03 \times 10^{-6}$). U samčího pohlaví bylo nejvíce HFD zkonsumováno potkany kmene PD/Cub v porovnání s potkany kmene SHR.PDZbtb16 ($p=2,01 \times 10^{-3}$) a SHR ($p=3,68 \times 10^{-4}$). V rámci samčího pohlaví nebyly

mezi různými kmeny detekovány žádné rozdíly v množství zkonsumované diety (data nejsou zobrazena).

Za účelem porovnání hmotností vnitřních orgánů potkanů mezi samci a samicemi, byly absolutní hodnoty hmotností jednotlivých orgánů vztaženy na 100 g tělesné hmotnosti potkana.

Hmotnost srdce byla signifikantně vyšší u samic v porovnání se samci, a to v rámci kmene SHR.PDZbtb16 ($p=1,61 \times 10^{-6}$), SHR ($p=9,18 \times 10^{-10}$) a PD/Cub ($p=6,35 \times 10^{-7}$). Vyšší hmotnost srdce byla naměřena u samic kmene SHR oproti samicím kmene SHR.PDZbtb16 ($p=2,31 \times 10^{-3}$) a PD/Cub ($p < 10^{-16}$) a současně i u samic kmene SHR.PDZbtb16 v porovnání se samicemi kmene PD/Cub ($p=3,89 \times 10^{-15}$). V rámci samčího pohlaví byla nižší hmotnost srdce detekována u kmene PD/Cub oproti kmeni SHR.PDZbtb16 ($p=2,11 \times 10^{-15}$) a kmeni SHR ($p=8,88 \times 10^{-16}$) (viz Tab 3).

V rámci jednotlivých kmenů byla naměřena vyšší hmotnost jater vždy u samic kmene SHR.PDZbtb16 ($p=1,49 \times 10^{-6}$), SHR ($p=2,02 \times 10^{-7}$) a PD/Cub ($p=3,93 \times 10^{-5}$) oproti samcům příslušných kmenů. V rámci samičího a samčího pohlaví nebyl mezi testovanými potkaními kmeny ve hmotnosti jaterní tkáně detekován žádný významný rozdíl (viz Tab. 3).

Větší hmotnost ledvin byla pozorována u samců kmene SHR.PDZbtb16 ($p=2,92 \times 10^{-3}$) a SHR ($p=3,71 \times 10^{-3}$) oproti samicím příslušných kmenů. V rámci samičího pohlaví byla vyšší hmotnost ledvin pozorována u kmene SHR v porovnání s kmenem PD/Cub ($p=7,67 \times 10^{-4}$) a současně také u kmene SHR.PDZbtb16 oproti kmenu PD/Cub ($p=1,98 \times 10^{-2}$). Dále pak byla vyšší hmotnost ledvin pozorována u samců kmene SHR.PDZbtb16 v porovnání se samci kmene PD/Cub ($p=1,44 \times 10^{-7}$) a samců kmene SHR oproti samcům kmene PD/Cub ($p=6,09 \times 10^{-9}$) (viz Tab. 3).

U samic všech testovaných kmenů byla detekována vyšší hmotnost nadledvin v porovnání se samci, a to v rámci kmene SHR.PDZbtb16 ($p=2,27 \times 10^{-12}$), SHR ($p=1,04 \times 10^{-10}$) a PD/Cub ($p=1,72 \times 10^{-7}$). Signifikantně vyšší hmotnost nadledvin byla detekována u samic kmene SHR.PDZbtb16 oproti samicím kmene SHR ($p=3,61 \times 10^{-2}$) a kmene PD/Cub ($p=1,00 \times 10^{-6}$) a současně i samic kmene SHR oproti samicím kmene PD/Cub ($p=4,71 \times 10^{-4}$). V rámci samčího pohlaví nebyl v hmotnost nadledvin mezi různými kmeny žádný významný rozdíl detekován (viz Tab. 3).

Vyšší hmotnost hnědého tuku byla pozorována u samic kmene SHR.PDZbtb16 v porovnání se samci stejného kmene ($p=1,14 \times 10^{-2}$), zatímco u ostatních kmenů žádný signifikantní rozdíl mezi pohlavími nebyl detekován. V rámci samičího pohlaví byla signifikantně vyšší hmotnost hnědého tuku detekována u kmene PD/Cub v porovnání se

samicemi kmene SHR.PDZbtb16 ($p=4,29 \times 10^{-8}$) a SHR ($p=8,99 \times 10^{-6}$). U samčího pohlaví byla vyšší hmotnost hnědého tuku pozorována u kmene PD/Cub oproti kmene SHR.PDZbtb16 ($p=1,74 \times 10^{-11}$) a SHR ($p=1,23 \times 10^{-8}$) a současně i u kmene SHR oproti kmene SHR.PDZbtb216 ($p=1,19 \times 10^{-2}$) (viz Tab. 3).

Hmotnost epididymálního/periovariálního tukového tělesa byla vyšší u samic kmene PD/Cub oproti samcům stejného kmene ($p=5,97 \times 10^{-8}$), zatímco v rámci ostatních kmenů žádný signifikantní rozdíl mezi oběma pohlavími nebyl detekován. V rámci samčího pohlaví byla vyšší hmotnost periovariálního tuku detekována u kmene PD/Cub oproti kmene SHR.PDZbtb16 ($p=2,23 \times 10^{-13}$) a SHR ($p=1,29 \times 10^{-12}$). U samců byla signifikantně větší hmotnost epididymálního tukového tělesa naměřena u kmene PD/Cub oproti kmene SHR.PDZbtb16 ($p=3,12 \times 10^{-6}$) a SHR ($p=4,05 \times 10^{-6}$) (viz Tab. 3).

Hmotnost retroperitoneálního tukového tělesa byla signifikantně vyšší u samců oproti samicím, a to u kmene SHR ($p=8,96 \times 10^{-4}$) a PD/Cub ($p=1,57 \times 10^{-7}$). Samice kmene PD/Cub měly vyšší hmotnost retroperitoneálního tuku v porovnání se samicemi kmene SHR.PDZbtb16 ($p=1,28 \times 10^{-4}$) a SHR ($p=7,81 \times 10^{-8}$) a také u samic kmene SHR.PDZbtb16 oproti samicím kmene SHR ($p=1,26 \times 10^{-2}$). V rámci samčího pohlaví byla větší hmotnost retroperitoneálního tukového tělesa detekována u kmene PD/Cub v porovnání s kmenem SHR.PDZbtb16 ($p=3,73 \times 10^{-13}$) a kmenem SHR ($p=3,22 \times 10^{-11}$) a současně i u kmene SHR oproti kmene SHR.PDZbtb16 ($p=4,98 \times 10^{-2}$) (viz Tab. 3).

Ve hmotnostech svalové tkáně (*m. soleus*) nebyly detekovány žádné významné rozdíly mezi pohlavími v rámci stejného kmene, ani v rámci stejného pohlaví mezi různými kmeny (viz Tab. 3).

Tab. 3 Hmotnost vnitřních orgánů potkanů krmených HFD. Hodnoty uvedené v tabulce jsou vztaženy na 100 g tělesné hmotnosti potkana a představují vždy průměr \pm SEM z osmi nezávislých měření ($n=8$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; EDT, epididymální tuk; POT, periovariální tuk; RPT, retroperitoneální tuk.

Orgány	SHR.PDZb16 M	SHR.PDZb16 F	SHR M	SHR F	PD/Cub M	PD/Cub F	p ANOVA (kmen)	p ANOVA (pohlaví)	p ANOVA (kmen x pohlaví)
Srdce	0,39±0,009	0,43±0,006	0,39±0,003	0,45±0,003	0,29±0,005	0,34±0,005	< 10 ⁻¹⁶	4,38×10 ⁻¹³	0,11
Játra	2,76±0,031	3,24±0,020	2,72±0,028	3,24±0,071	2,81±0,027	3,14±0,075	0,48	3,65×10 ⁻¹¹	0,42
Ledviny	0,65±0,005	0,59±0,007	0,67±0,010	0,62±0,010	0,53±0,015	0,55±0,008	5,33×10 ⁻⁹	4,85×10 ⁻³	5,56×10 ⁻¹³
Nadledviny (mg)	16,2±0,251	29,3±0,703	15,0±0,705	27,5±1,210	14,2±0,332	22,0±0,642	2,95×10 ⁻⁵	3,33×10 ⁻¹⁶	0,01
Hnědý tuk (mg)	84,5±2,916	112±3,175	113±4,414	139±4,963	195±7,444	191±10,80	4,93×10 ⁻¹³	0,02	0,08
EDT/POT	0,99±0,033	1,01±0,043	0,98±0,061	1,07±0,096	1,85±0,171	3,25±0,183	3,00×10 ⁻¹⁴	2,11×10 ⁻⁵	6,19×10 ⁻⁵
RPT	1,18±0,069	1,22±0,046	1,30±0,080	0,91±0,055	2,53±0,088	1,78±0,155	1,02×10 ⁻¹³	6,27×10 ⁻⁶	2,47×10 ⁻⁵
M. soleus	37,1±0,846	40,5±1,153	80,1±30,45	45,6±2,488	40,2±2,107	48,9±1,354	0,35	0,54	0,33

5.1.2 Vliv vysokotukové diety na metabolické parametry

Měření metabolických parametrů u potkanů krmných HFD za účelem stanovení glukózové tolerance a inzulínové rezistence zahrnovalo stanovení hodnot glykémie v průběhu OGTT a výpočet AUC (Area Under The Glycemic Curve), stanovení inzulínémie a výpočet indexu inzulínové rezistence HOMA-IR (Homeostatic model assessment for insulin resistance). Za účelem stanovení lipidového profilu byly měřeny hodnoty TAG, FFA, nonHDL a HDL cholesterolu v periferní krvi. Případné poškození jater bylo hodnoceno stanovením hladiny alaninaminotransferázy (ALT) a aspartátaminotransferázy (AST).

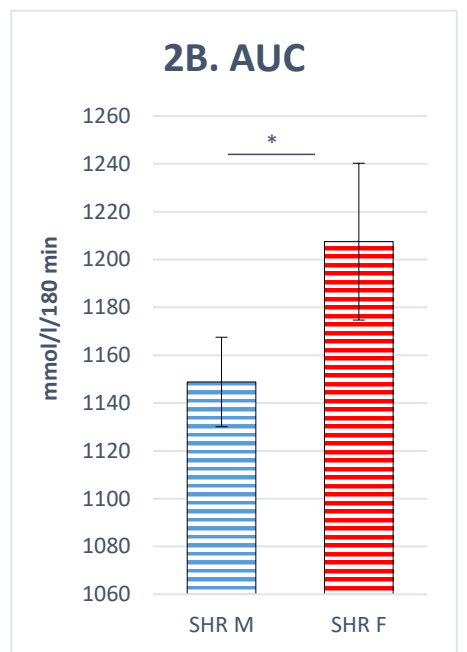
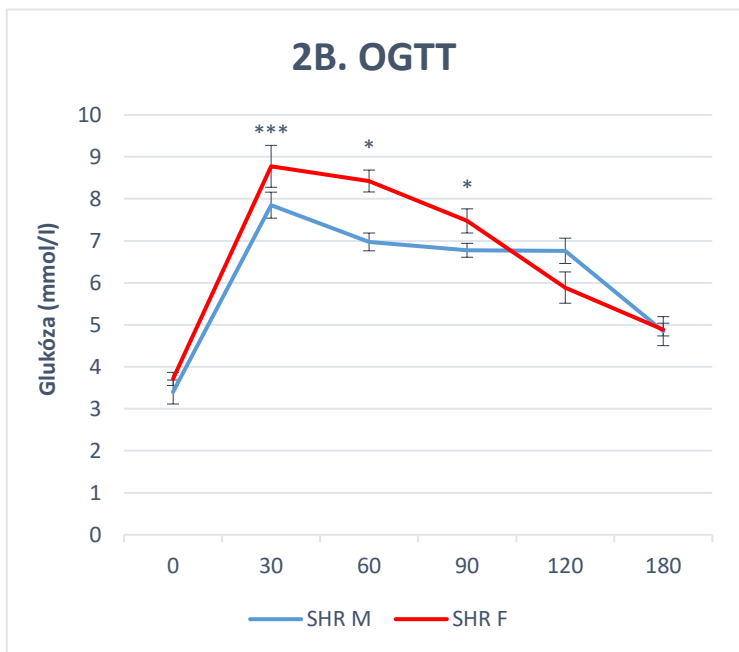
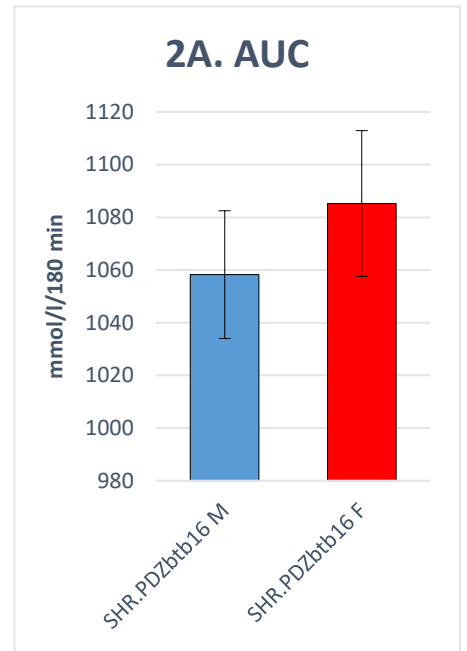
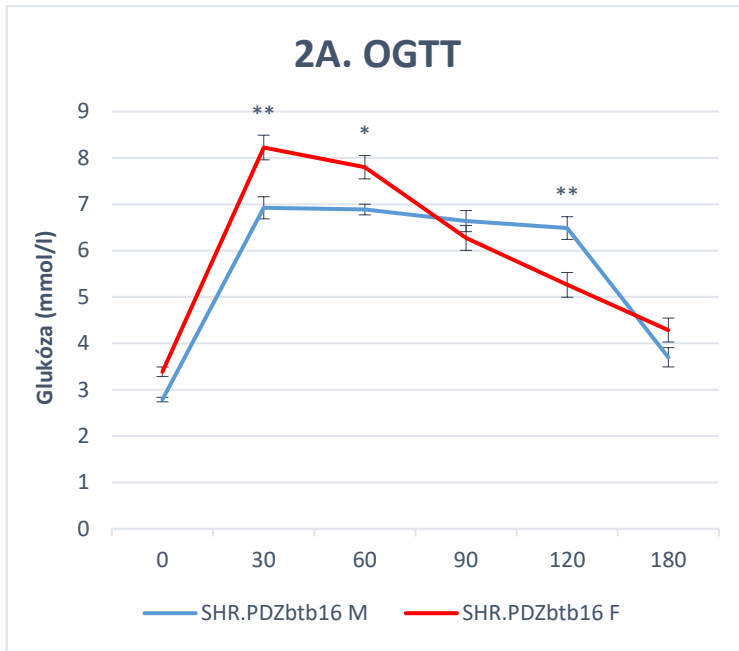
V rámci kmene SHR.PDZbtb16 nebyl mezi pohlavím detekován žádný signifikantní rozdíl v glykémii na lačno. Ve 30. a 60. minutě OGTT byla detekována vyšší glykémie u samic v porovnání se samci ($p=1,49 \times 10^{-3}$ a $p=0,01$), přičemž ve 120 minutě byla vyšší glykémie detekována u samců ($p=3,04 \times 10^{-3}$). Mezi pohlavími kmene SHR.PDZbtb16 současně nebyl detekován žádný významný rozdíl v hodnotě AUC (viz Graf 2A).

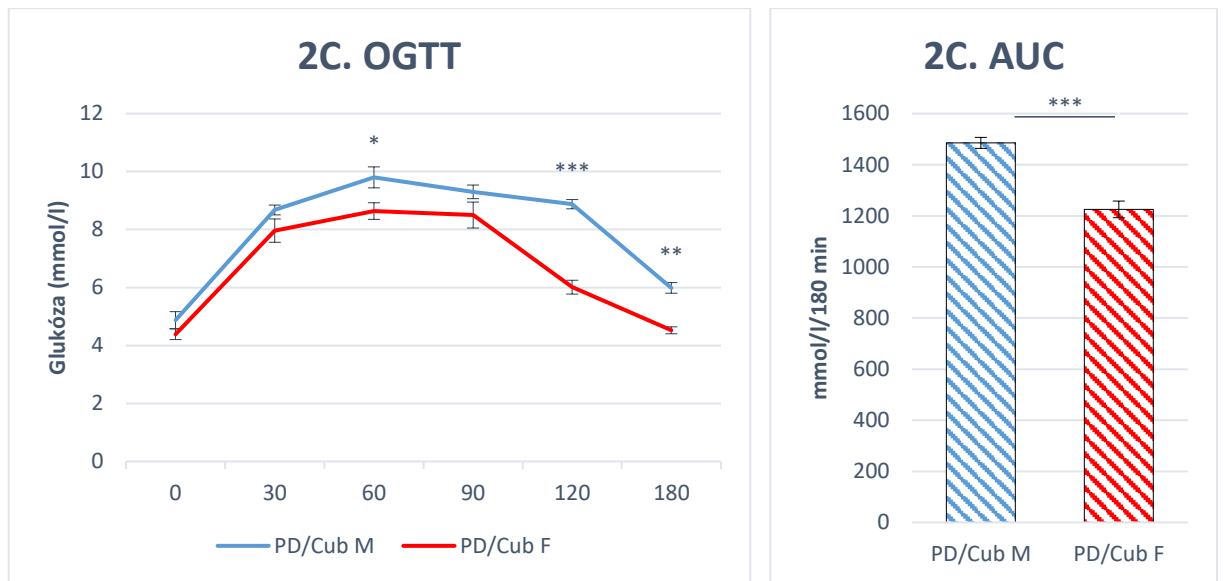
Vyšší glykémie ve 30., 60. a 90. minutě OGTT byla naměřena u samic kmene SHR oproti samcům stejného kmene ($p=6,41 \times 10^{-4}$, $p=0,01$ a $p=0,01$) a současně byla u samic tohoto kmene detekována také vyšší hodnota AUC ($p=0,02$) (viz Graf 2B).

U kmene PD/Cub byla vyšší glykémie pozorována u samců v 60., 120. a 180. minutě průběhu OGTT ($p=0,04$, $p=3,25 \times 10^{-6}$ a $p=2,67 \times 10^{-3}$) a u samců byla současně vypočtena také vyšší hodnota AUC ($p=7,44 \times 10^{-6}$) (viz Graf 2C).

V rámci samičího pohlaví byla významně vyšší hodnota AUC naměřena u kmene PC/Cub v porovnání s kmenem SHR.PDZbtb16 ($p=1,47 \times 10^{-3}$) a také kmenem SHR oproti kmenu SHR.PDZbtb16 ($p=9,32 \times 10^{-4}$). Samice kmene PD/Cub měly vyšší glykémii v porovnání se samicemi kmene SHR.PDZbtb16 na lačno a v 90. a 120. minutě OGTT ($p=1,64 \times 10^{-3}$; $p=1,51 \times 10^{-4}$ a $0,02$), zatímco samice kmene SHR měly oproti samicím kmene SHR.PDZbtb16 vyšší glykémie ve 30. a 90 minutě ($p=0,04$ a $p=0,01$) (viz Grafy 2A, 2B a 2C).

Vyšší hodnota AUC byla pozorována u samců kmene PD/Cub oproti kmenům SHR a SHR.PDZbtb16 ($p=1,33 \times 10^{-8}$ a $p=9,37 \times 10^{-11}$). Konkrétně měli samci kmene PD/Cub vyšší hodnoty glykémie oproti samcům kmene SHR.PDZbtb16 na lačno a ve 30., 60., 90., 120., a 180. minutě OGTT ($p=3,05 \times 10^{-8}$; $p=4,65 \times 10^{-4}$; $p=3,83 \times 10^{-7}$; $p=1,46 \times 10^{-5}$; $p=3,33 \times 10^{-5}$ a $p=9,14 \times 10^{-6}$) a oproti samcům kmene SHR na lačno a ve 30., 60., 90. a 120. minutě OGTT ($p=7,88 \times 10^{-7}$; $p=0,05$; $p=5,82 \times 10^{-7}$, $p=5,60 \times 10^{-6}$ a $p=1,45 \times 10^{-4}$) (viz Grafy 2A, 2B a 2C).





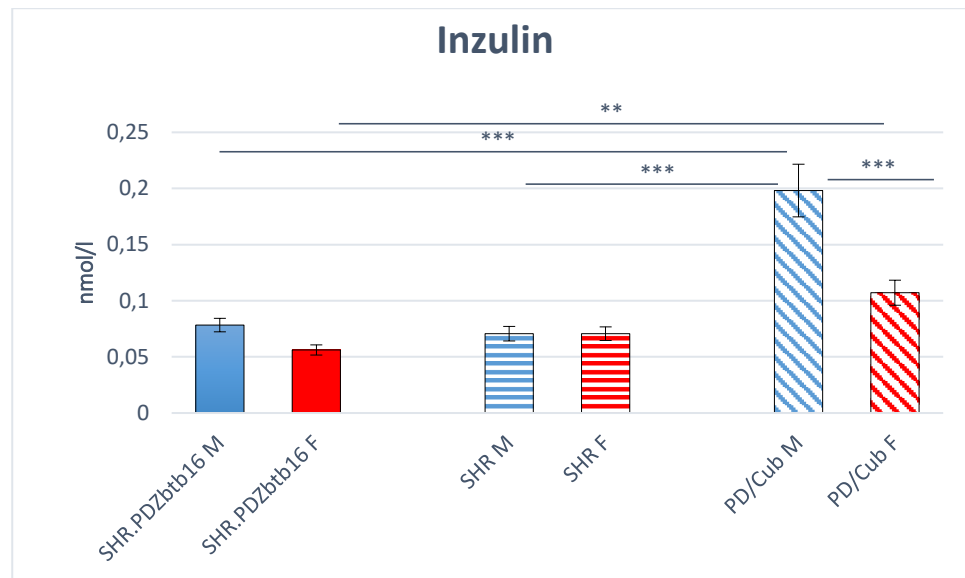
Graf 2. Orálního glukózového tolerančního test (OGTT) a AUC u potkanů krmených HFD. Krev pro stanovení glykémie byla odebrána z ocasní žíly potkana před (0) a po bolusovém podání 30% vodného roztoku glukózy (3g/kg tělesné hmotnosti potkana) ve 30., 60., 90., 120., a 180. minutě. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z osmi nezávislých měření ($n=8$ /pohlaví/kmen). Graf 2A – kmen SHR.PDZbtb16; Graf 2B – kmen SHR; Graf 2C – kmen PD/Cub; M, samci; F, samice; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Koncentrace inzulínu v séru byla signifikantně vyšší u samců kmene PD/Cub v porovnání se samicemi stejného kmene ($p=1,98 \times 10^{-5}$). Samci kmene PD/Cub měli výrazně vyšší hladinu inzulínu oproti samcům kmene SHR ($p=7,04 \times 10^{-8}$) a SHR.PDZbtb16 ($p=2,24 \times 10^{-7}$) a samice kmene PD/Cub měly sérovou koncentraci inzulínu vyšší než samice kmene SHR.PDZbtb16 ($p=0,01$) (viz Graf 3).

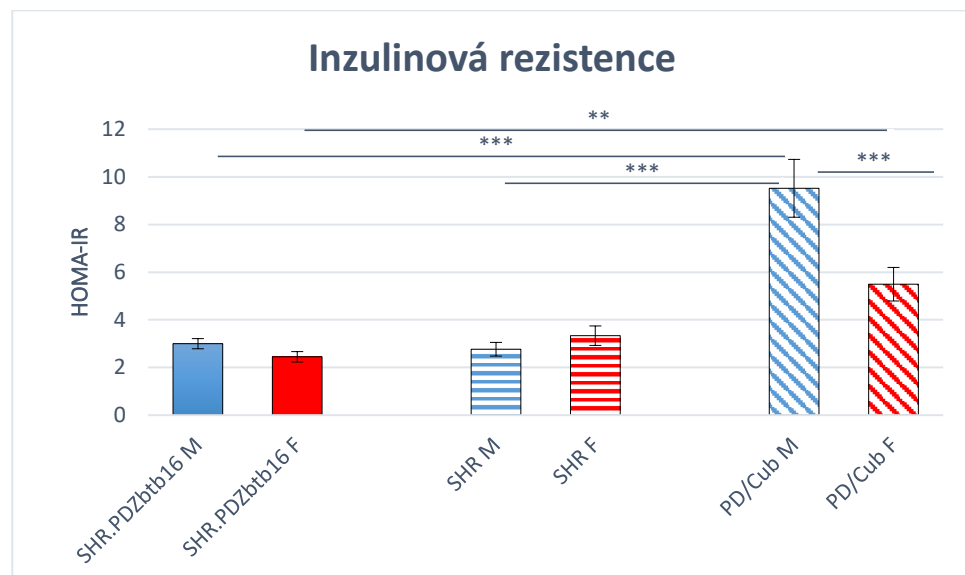
Za účelem zjištění inzulínové rezistence byl vypočten index HOMA-IR (Homeostatic model assessment for insulin resistance), který byl signifikantně vyšší u samců kmene PD/Cub oproti samicím stejného kmene ($p=1,9 \times 10^{-4}$). V rámci samičího pohlaví byl HOMA-IR vyšší u kmene PD/Cub v porovnání s kmenem SHR.PDZbtb16 ($p=2,13 \times 10^{-3}$), zatímco u samčího pohlaví byla inzulínová rezistence vyšší u kmene PD/Cub oproti kmenům SHR.PDZbtb16 ($p=8,05 \times 10^{-7}$) a SHR ($p=1,73 \times 10^{-7}$) (viz Graf 4).

Koncentrace TAG v séru se mezi pohlavími v rámci stejných kmenů potkanů nijak nelišila. Samice kmene PD/Cub měly nižší sérovou koncentraci TAG v porovnání se samicemi kmene SHR ($p=9,09 \times 10^{-4}$) a SHR.PDZbtb16 ($p=7,68 \times 10^{-4}$). Signifikantně nižší hladina TAG byla také detekována u samců kmene PD/Cub v porovnání se samci kmene SHR ($p=4,62 \times 10^{-3}$) a SHR.PDZbtb16 ($p=7,40 \times 10^{-3}$) (viz Graf 5).

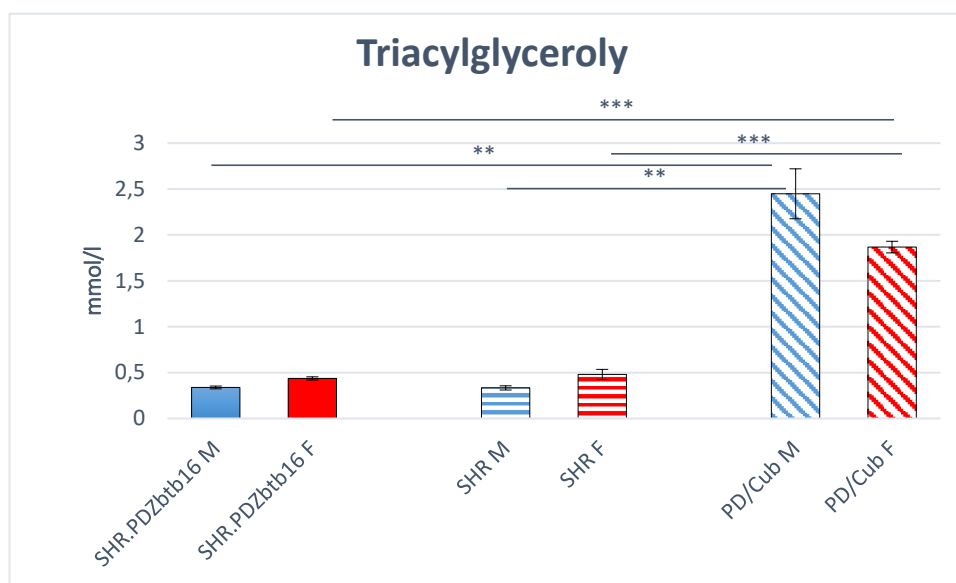
Koncentrace sérových FFA se mezi pohlavími v rámci stejných kmenů potkanů nijak nelišila. U samců kmene SHR.PDZbtb16 byla pozorována vyšší koncentrace FFA oproti samcům kmene SHR ($p=0,03$) a vyšší sérová hladina FFA byla také detekována u samic kmene PD/Cub v porovnání se samicemi kmene SHR ($p=0,03$) (viz Graf 6).



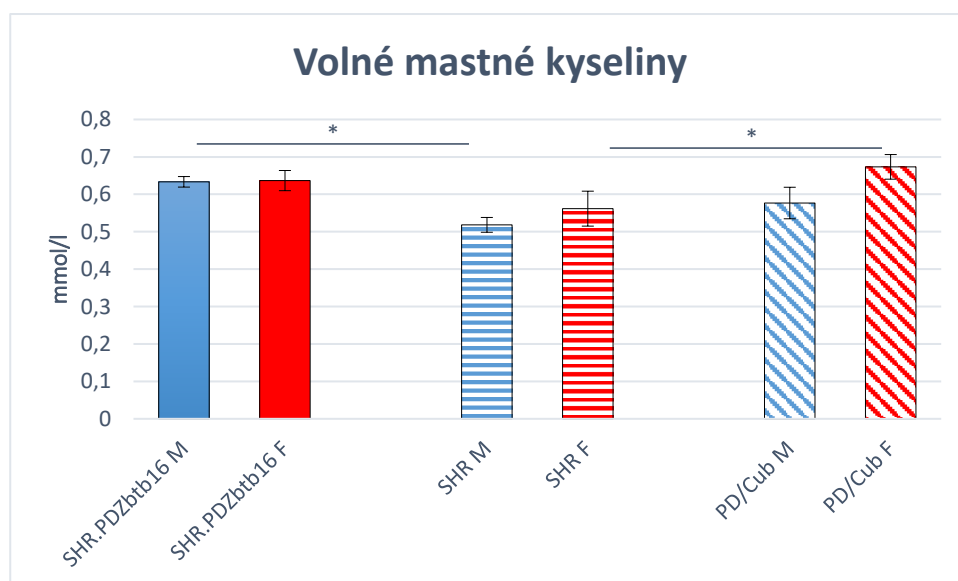
Graf 3. Koncentrace inzulinu v krvi potkanů krmených HFD. Krev na stanovení inzulinu byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z šesti nezávislých měření ($n=6$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.



Graf 4. Inzulinová rezistence (index HOMA-IR) u potkanů krmených HFD. Krev na stanovení inzulinu a glukózy v séru byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM ze šesti nezávislých měření ($n=6$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.



Graf 5. Koncentrace triacylglycerolů (TAG) v krvi potkanů krmených HFD. Krev na stanovení TAG byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z šesti nezávislých měření ($n=6$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

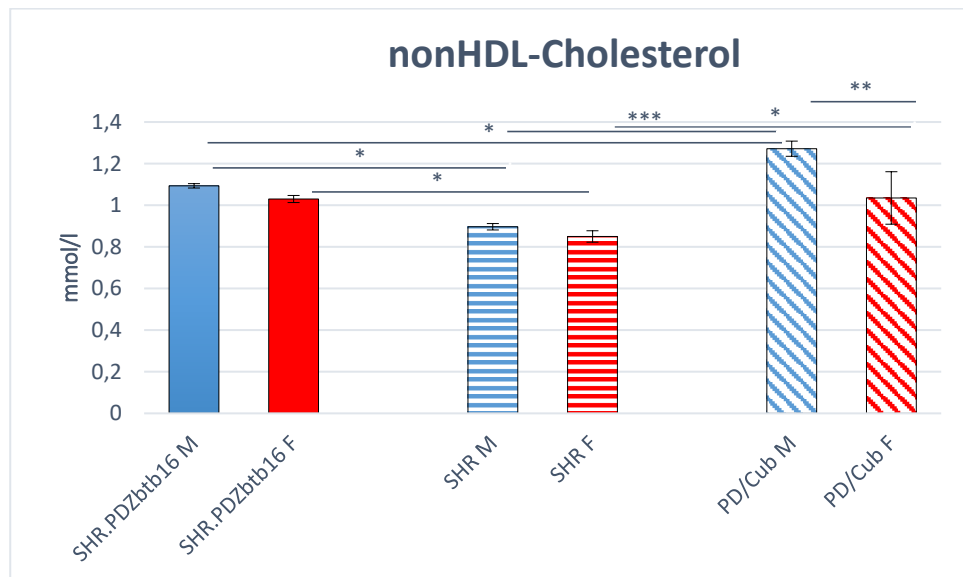


Graf 6. Koncentrace volných mastných kyselin (FFA) v krvi potkanů krmených HFD. Krev na stanovení FFA byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z šesti nezávislých měření ($n=6$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; * $p \leq 0,05$.

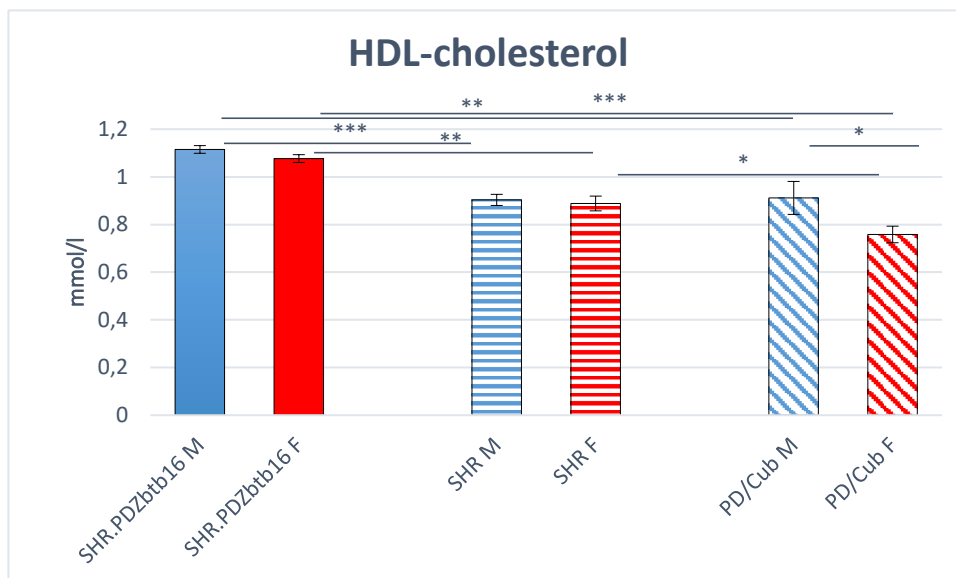
U samců kmene PD/Cub byla detekována signifikantně vyšší koncentrace nonHDL-cholesterolu v porovnání se samicemi stejného kmene ($p=0,01$). V rámci samičího pohlaví byla vyšší hladina pozorována u kmene PD/Cub oproti kmenu SHR ($p=0,04$) a u kmene

SHR.PDZbtb16 oproti kmenu SHR ($p=0,05$). Vyšší koncentrace nonHDL-cholesterolu byla také detekována u samců kmene PD/Cub oproti samcům kmene SHR.PDZbtb16 ($p=0,05$) a kmene SHR ($p=1,48 \times 10^{-4}$) a u samců kmene SHR.PDZbtb16 oproti samcům kmene SHR ($p=0,03$) (viz Graf 7).

Koncentrace HDL-cholesterolu byla mezi pohlavími v rámci jednotlivých potkaních kmenů signifikantně rozdílná pouze u kmene PD/Cub, přičemž nižší hladiny byly detekovány u samic oproti samcům ($p=0,01$). Samice kmene PD/Cub měly současně nižší hladinu HDL-cholesterolu v porovnání se samicemi kmene SHR ($p=0,03$) a SHR.PDZbtb16 ($p=4,04 \times 10^{-6}$). Výrazně nižší hladinu sérového HDL-cholesterolu měly současně také samice kmene SHR oproti samicím kmene SHR.PDZbtb16 ($p=2,34 \times 10^{-3}$). V rámci samčího pohlaví byla nižší hladina HDL-cholesterolu naměřena u kmene SHR a PD/Cub oproti kmenu SHR.PDZbtb16 ($p=7,81 \times 10^{-4}$ a $p=1,16 \times 10^{-3}$) (viz Graf 8).



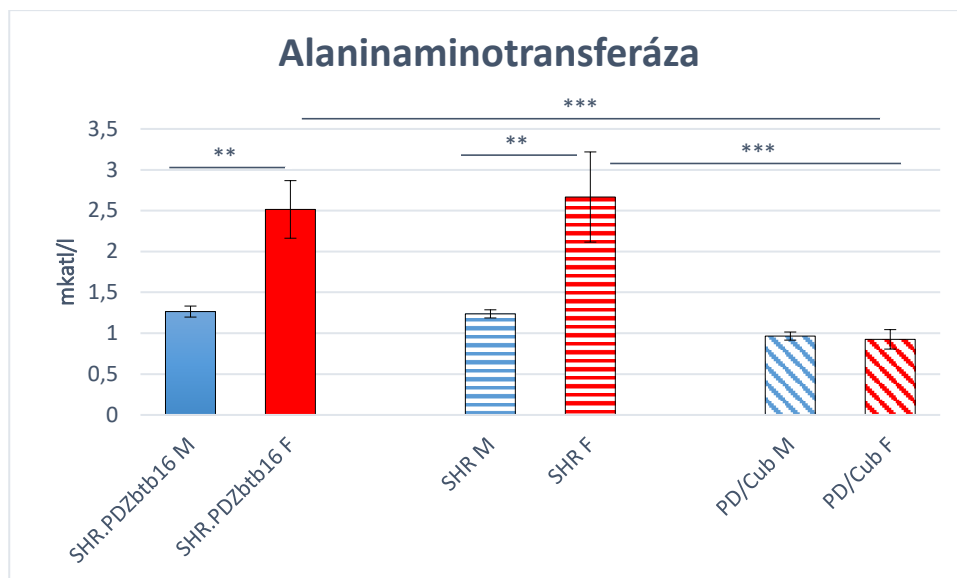
Graf 7. Koncentrace nonHDL-cholesterolu v krvi u potkanů krmených HFD. Krev na stanovení nonHDL-cholesterolu byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z šesti nezávislých měření ($n=6$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.



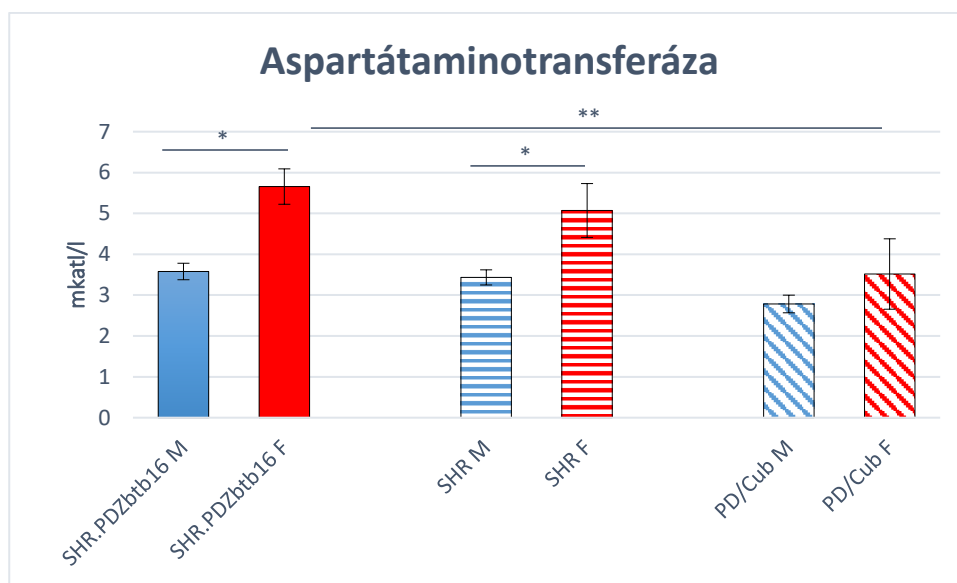
Graf 8. Koncentrace HDL-cholesterolu v krvi u potkanů krmených HFD. Krev na stanovení HDL-cholesterolu byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z šesti nezávislých měření ($n=6$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Vyšší koncentrace ALT byla v rámci kmene SHR.PDZbtb16 a SHR detekována u samic oproti samcům ($p=6,29 \times 10^{-3}$ a $p=2,13 \times 10^{-3}$). U samic kmene PD/Cub byla koncentrace ALT v séru nižší oproti samicím kmene SHR ($p=2,95 \times 10^{-4}$) a SHR.PDZbtb16 ($p=7,82 \times 10^{-4}$), zatímco u samčího pohlaví nebyly detekovány žádné signifikantní rozdíly mezi kmeny (viz Graf 9).

U samic kmene SHR.PDZbtb16 a SHR byla naměřena výrazně vyšší hladina AST v porovnání se samci v rámci stejných kmenů ($p=0,01$ a $p=0,04$). Vyšší koncentrace AST v séru byla také pozorována u samic kmene SHR.PDZbtb16 oproti samicím kmene PD/Cub ($p=0,01$), zatímco u samců žádný signifikantní rozdíl mezi jednotlivými kmeny nebyl detekován (viz Graf 10).



Graf 9. Koncentrace alaninaminotransferázy (ALT) v krvi potkanů krmených HFD. Krev na stanovení ALT byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z šesti nezávislých měření ($n=6$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.



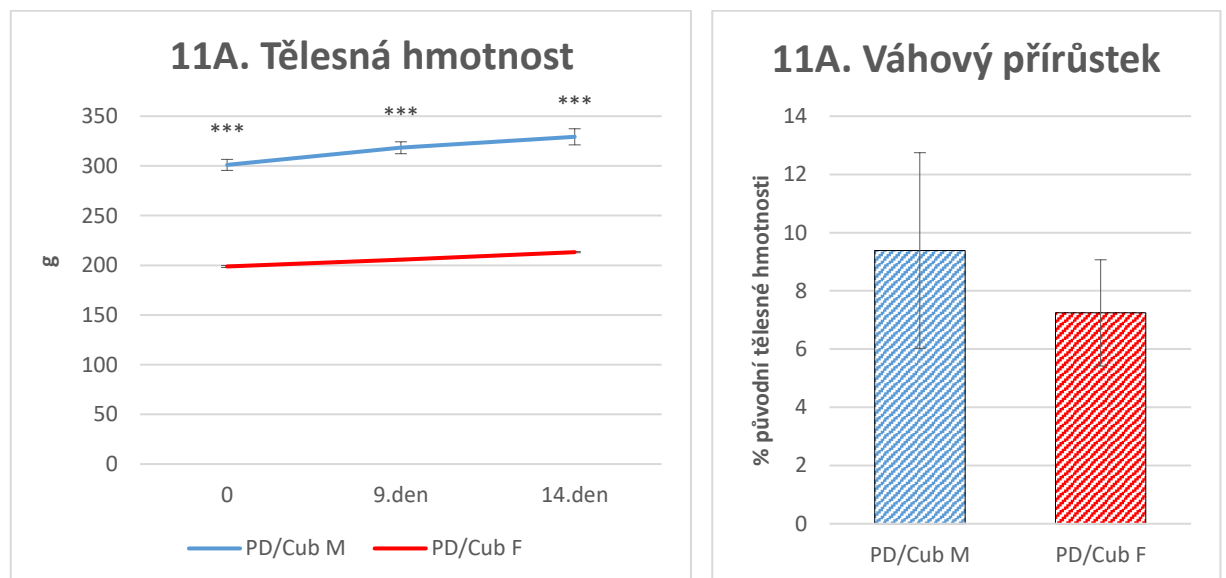
Graf 10 Koncentrace aspartátaminotransferázy (AST) v krvi potkanů krmených HFD. Krev na stanovení AST byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z šesti nezávislých měření ($n=6$ /pohlaví/kmen). M, samci; F, samice; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.

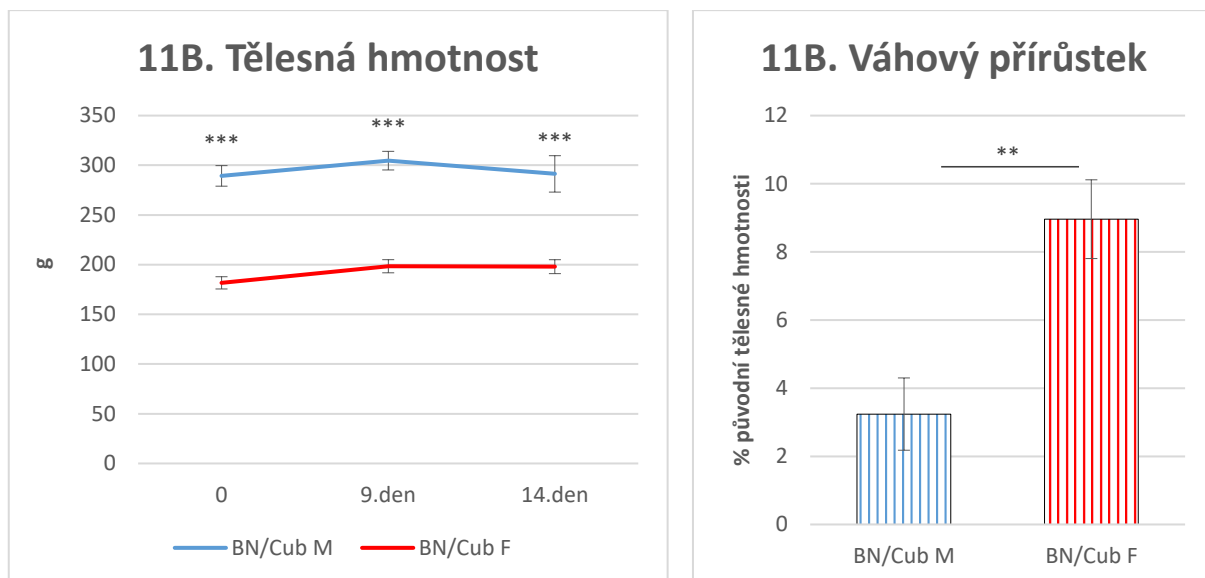
5.2 Vysokosacharózová dieta

5.2.1 Vliv vysokosacharózové diety na morfometrické parametry

Cílem stanovení morfometrických parametrů, konkrétně nárůstu tělesné hmotnosti a hmotnosti vybraných tělesných orgánů bylo posoudit vliv HSD na tyto parametry a zachycení případných rozdílů mezi pohlavími v rámci potkaních kmenů PD/Cub a BN/Cub.

Co se týká tělesné hmotnosti potkanů, hmotnost samic obou uvedených kmenů byla signifikantně nižší (v průměru o 105 g) než hmotnost samců v rámci příslušného kmene. Nárůst tělesné hmotnosti během podávání HSD byl u samic i samců testovaných kmenů rovnoměrný. V rámci kmene BN/Cub byl zaznamenán signifikantně větší váhový přírůstek u samic (9 % původní tělesné hmotnosti) oproti samcům (3,2 % původní tělesné hmotnosti) ($p=4,88 \times 10^{-3}$), zatímco u kmene PD/Cub žádný mezipohlavní rozdíl ve váhovém přírůstku detekován nebyl. Mezi potkaními samci kmenů PD/Cub a BN/Cub byl pozorován rozdíl v nárůstu tělesné hmotnosti během experimentu, přičemž u kmene PD/Cub byl váhový přírůstek vyšší (9,4 % původní tělesné hmotnosti) ($p=3,48 \times 10^{-3}$). U samic obou kmenů nebyl ve váhovém přírůstku během experimentu nalezen signifikantní rozdíl (viz Graf 11A a 11B).





Graf 11. Změny tělesné hmotnosti a váhový přírůstek potkanů krmených HSD. Průběh křivky znázorňuje změny tělesné hmotnosti potkanů od začátku podávání HSD (0) až do dne, kdy byli potkani vystaveni 12 hodinovému lačnění (14. den). Hodnoty uvedené v grafu představují průměr \pm SEM z nezávislých měření. Graf 11A – kmen PD/Cub; Graf 11B – kmen BN/Cub; M, samci; F, samice; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Za účelem porovnání hmotností vnitřních orgánů potkanů mezi samci a samicemi obou testovaných kmenů, byly absolutní hodnoty hmotností jednotlivých orgánů vztaženy na 100 g tělesné hmotnosti potkana.

Hmotnost jater byla signifikantně vyšší u samic v porovnání se samci, a to v rámci kmene PD/Cub ($p=1,82 \times 10^{-3}$) a BN/Cub ($p=5,19 \times 10^{-5}$). V rámci samičího pohlaví pak byla vyšší hmotnost jater detekována u kmene PD/Cub oproti kmeni BN/Cub ($p=2,03 \times 10^{-3}$). Vyšší hmotnost jater byla také naměřena u samců kmene PD/Cub oproti samcům kmene BN/Cub ($p=2,20 \times 10^{-4}$) (viz Tab.4).

Větší hmotnost ledvin byla pozorována u samic kmene PD/Cub ($p=0,05$) a BN/Cub ($p=0,03$) oproti samcům příslušných kmenů. V rámci samičího pohlaví byla vyšší hmotnost ledvin pozorována u kmene BN/Cub v porovnání s kmenem PD/Cub ($p=9,06 \times 10^{-4}$). Dále pak byla vyšší hmotnost ledvin pozorována u samců kmene BN/Cub v porovnání se samci kmene PD/Cub ($p=8,06 \times 10^{-3}$) (viz Tab. 4).

Hmotnost epididymální respektive periovariální tukové tkáně byla vyšší u samců kmene BN/Cub ($p=0,01$) oproti samicím stejného kmene. V rámci samičího pohlaví byla vyšší hmotnost periovariální tuku pozorována u kmene PD/Cub v porovnání s kmenem BN/Cub

($p=1,22 \times 10^{-4}$). Dále pak byla vyšší hmotnost epididymální tukové tkáně pozorována u samců kmene PD/Cub v porovnání se samci kmene BN/cub ($p=7,04 \times 10^{-3}$) (viz Tab. 4).

Tab. 4 Hmotnost vnitřních orgánů potkanů krmených HSD. Hodnoty uvedené v tabulce jsou vztaženy na 100 g tělesné hmotnosti potkana a představují vždy průměr \pm SEM z nezávislých měření. M, samci; F, samice; EDT, epididymální tuk; POT periovariální tuk

Orgány	Játra	Ledviny	Tuková tkáň
BN/Cub F	3,2 \pm 0,053	0,61 \pm 0,011	0,46 \pm 0,025
BN/Cub M	2,48 \pm 0,068	0,56 \pm 0,011	0,86 \pm 0,106
PD/Cub F	3,53 \pm 0,099	0,53 \pm 0,013	1,08 \pm 0,12
PD/Cub M	3,11 \pm 0,051	0,48 \pm 0,015	1,32 \pm 0,046
p ANOVA (kmen)	2,26 $\times 10^{-5}$	1,87 $\times 10^{-4}$	5,14 $\times 10^{-5}$
p ANOVA (pohlaví)	8,63 $\times 10^{-6}$	6,23 $\times 10^{-3}$	4,35 $\times 10^{-3}$
p ANOVA (kmen x pohlaví)	0,15	0,86	0,44

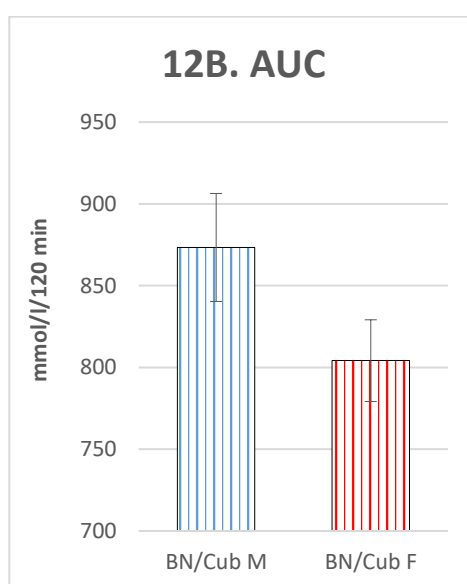
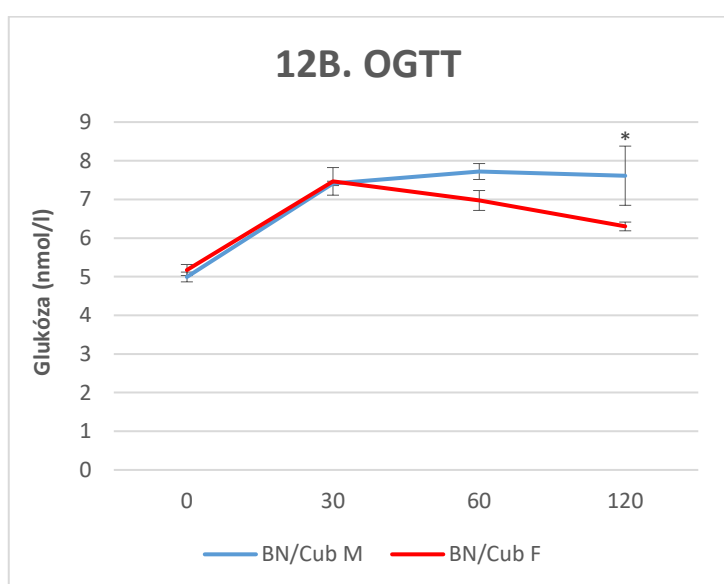
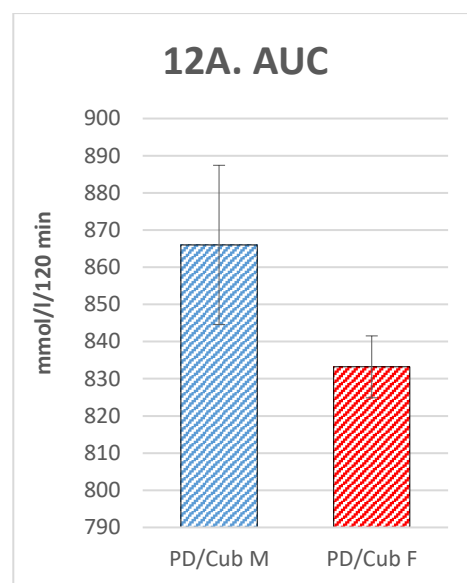
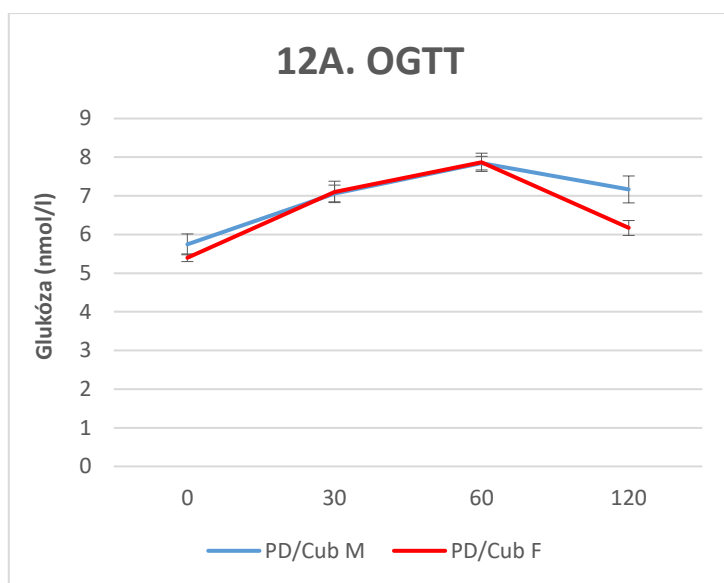
5.2.2 Vliv vysokosacharóзовé diety na metabolické parametry

Měření metabolických parametrů u potkanů krmených HSD za účelem stanovení glukózové tolerance a inzulínové rezistence zahrnovalo stanovení glykémie během OGTT a výpočet AUC, stanovení inzulínémie a výpočet indexu inzulínové rezistence HOMA-IR. Za účelem stanovení lipidového profilu byly měřeny hodnoty TAG a současně byla měřena také rychlost glykogeneze ve svalové tkáni a lipogeneze v tukové tkáni.

V rámci kmene PD/Cub nebyl mezi pohlavími detekován žádný signifikantní rozdíl v glykémii na lačno, ani po celou dobu OGTT a současně nebyl zaznamenán ani žádný významný rozdíl v hodnotě AUC (viz Graf 12A).

V rámci kmene BN/Cub nebyl mezi pohlavími detekován žádný signifikantní rozdíl v glykémii na lačno. Statisticky významný rozdíl byl nalezen pouze v hodnotách glykémie ve 120. minutě OGTT, přičemž vyšší hodnoty byly naměřeny u samců ($p=0,041$) oproti samicím. Mezi pohlavími kmene BN/Cub nebyl detekován žádný významný rozdíl v hodnotě AUC (viz Graf 12B).

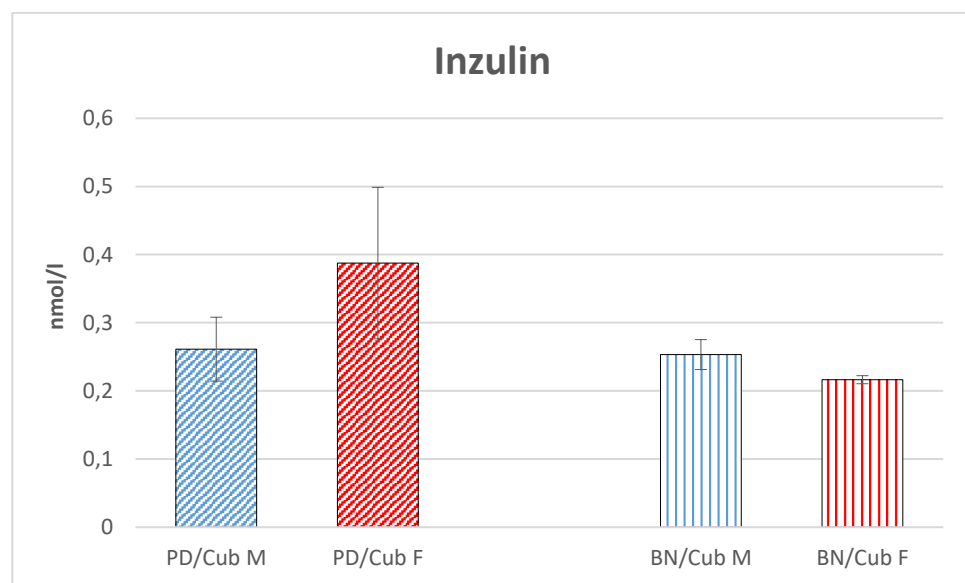
V rámci samičího pohlaví nebyl mezi oběma testovanými kmeny potkanů detekován signifikantní rozdíl v glykémii na lačno. Rozdíl v hodnotách glykémie byl nalezen pouze v 60. minutě OGTT, přičemž u samic kmene PD/Cub byla hodnota glykémie vyšší oproti samicím kmene BN/Cub ($p=0,049$). Mezi samci obou kmenů byl nalezen signifikantní rozdíl v glykémii na lačno, přičemž vyšší hodnoty byly detekovány u kmene PD/Cub ($p=0,035$). V rámci pohlaví nebyl mezi oběma kmeny potkanů nalezen žádný významný rozdíl v hodnotě AUC (viz Grafy 12A a12B).



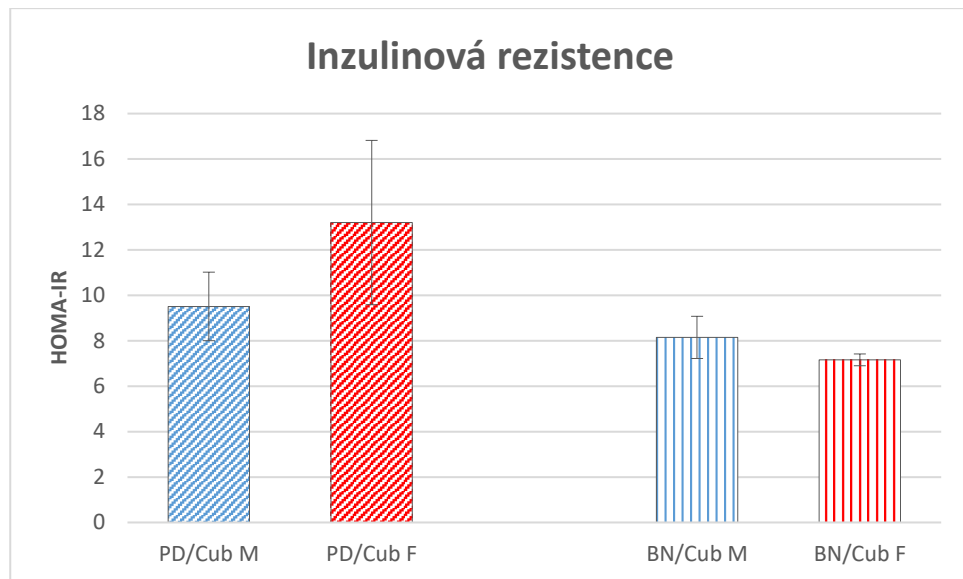
Graf 2. Orálního glukózový toleranční test (OGTT) a AUC u potkanů krmených HSD. Krev pro stanovení glykémie byla odebrána z ocasní žíly potkana před (0) a po bolusovém podání 30% vodného roztoku glukózy (3g/kg tělesné hmotnosti potkana) ve 30., 60. a 120. minutě. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z nezávislých měření. Graf 12A – kmen PD/Cub; Graf 12B – kmen BN/Cub; M, samci; F, samice; * $p \leq 0,05$.

V koncentraci sérového inzulínu, jakožto ani v míře inzulínové rezistence nebyl mezi pohlavími v rámci jednoho kmene ani mezi kmeny v rámci jednoho pohlaví nalezen žádný signifikantní rozdíl (viz Graf 13 a 14).

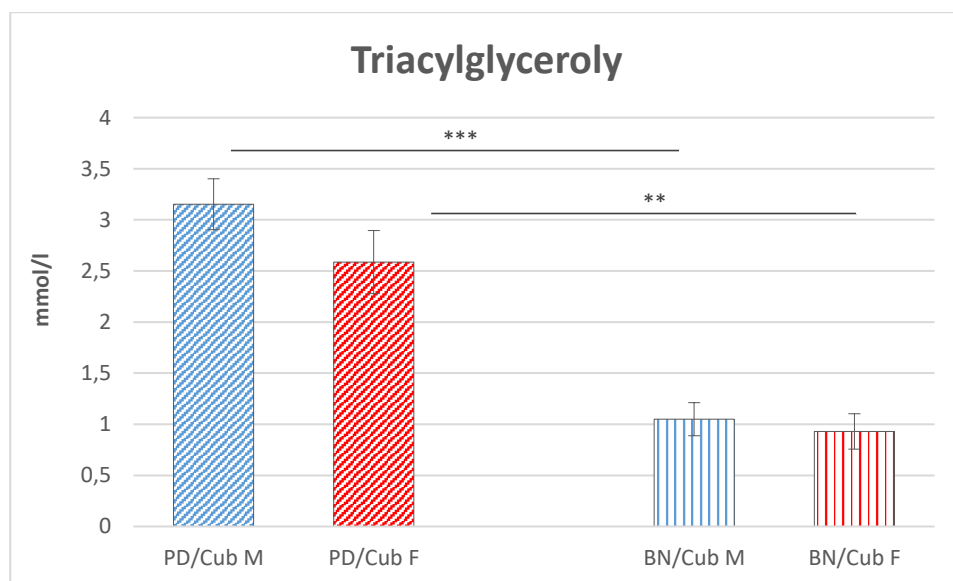
Koncentrace TAG v séru se mezi pohlavími v rámci jednotlivých kmenů potkanů nijak nelišila. Samice kmene PD/Cub měly vyšší sérovou koncentraci TAG v porovnání se samicemi kmene BN/Cub ($p=1,60 \times 10^{-3}$) a signifikantně vyšší hladina TAG byla také detekována u samců kmene PD/Cub v porovnání se samci kmene BN/Cub ($p=4,16 \times 10^{-4}$) (viz Graf 15).



Graf 13. Koncentrace inzulínu v krvi potkanů krmených HSD. Krev na stanovení inzulínu byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z nezávislých měření. M, samci; F, samice



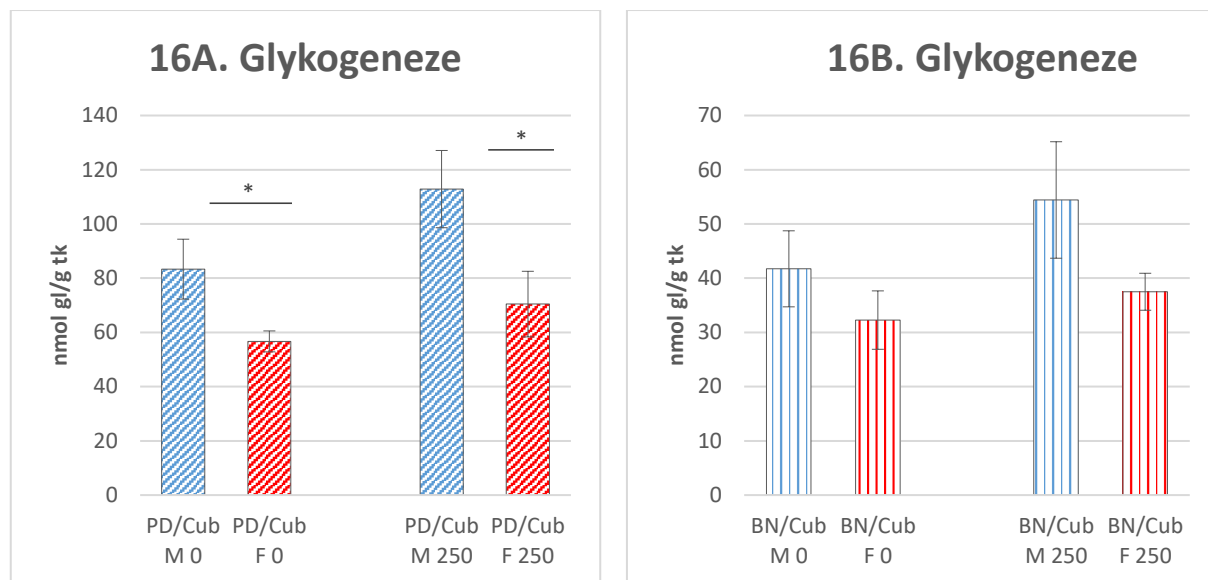
Graf 14. Inzulinová rezistence (index HOMA-IR) u potkanů krměných HSD. Krev na stanovení inzulínu v séru byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z nezávislých měření. M, samci; F, samice



Graf 15. Koncentrace triacylglycerolů (TAG) v krvi potkanů krměných HSD. Krev na stanovení TAG byla odebrána z ocasní žíly potkana. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z nezávislých měření. M, samci; F, samice; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

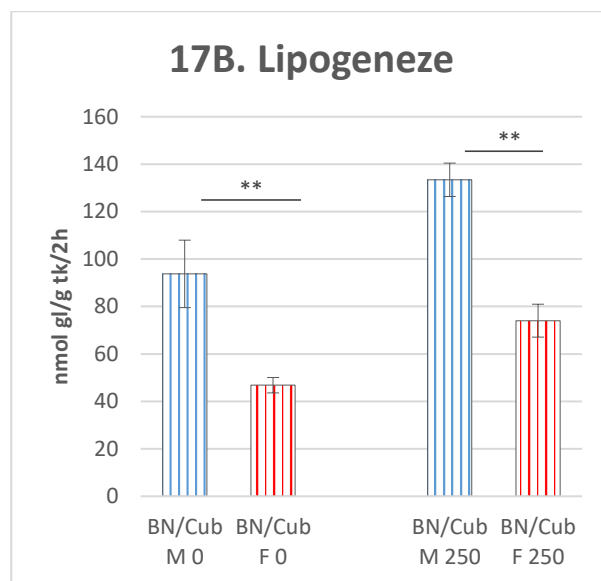
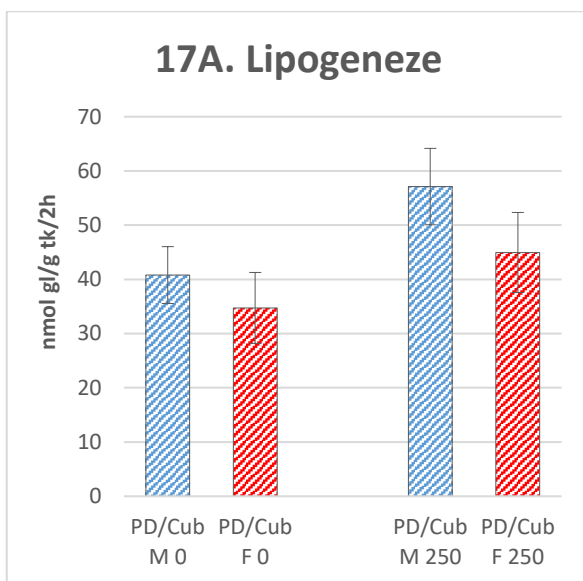
Bazální i inzulinem stimulovaná glykogeneze byla signifikantně vyšší u samců kmene PD/Cub oproti samicím stejného kmene ($p=0,03$; $p=0,02$), zatímco mezi pohlavími kmene BN/Cub žádný statisticky významný rozdíl zaznamenán nebyl. Statisticky významné rozdíly v bazální i inzulinem stimulované glykogenezi byly dále detekovány u samic kmene PD/Cub oproti samicím kmene BN/Cub ($p=0,02$; $p=0,05$) a také u samců kmene PD/Cub oproti samcům

kmene BN/Cub ($p=6,24 \times 10^{-3}$; $p=7,77 \times 10^{-3}$), přičemž ve všech případech byly vyšší hodnoty u kmene PD/Cub (Viz Graf 16A a 16B). U samců kmene PD/Cub narostla glykogeneze po přidání inzulínu do média o 40,9 % oproti samicím, u kterých došlo k nárůstu pouze o 22,1 %. U samců kmene BN/Cub narostla glykogeneze po přidání inzulínu do média o 30,1 % oproti samicím, u kterých došlo k nárůstu o 35,7 %.



Graf 16. Bazální glykogeneze (0) a inzulínem stimulovaná glykogeneze (250) u potkanů krmených HSD. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z nezávislých měření. M, samci; F, samice; A-kmen PD/Cub, B-kmen BN/Cub; gl: glukóza; g tk: gram tukové tkáně; * $p \leq 0,05$.

V rámci kmene PD/Cub nebyl detekován žádný mezipohlavní rozdíl v bazální ani v inzulínem stimulované lipogenezi v tukovém tělese. V rámci kmene BN/Cub byl nalezen rozdíl mezi pohlavími v bazální i inzulínem stimulované lipogenezi v tukovém tělese, přičemž v obou případech byly hodnoty vyšší u samců oproti samicím ($p=1,52 \times 10^{-3}$; $p=6,88 \times 10^{-3}$). Statisticky významné rozdíly v inzulínem stimulované lipogenezi v tukovém tělese byly dále detekovány u samic kmene BN/Cub oproti samicím kmene PD/Cub ($p=0,03$) a také u samců kmene BN/Cub oproti samcům kmene PD/Cub ($p=1,01 \times 10^{-3}$), přičemž hodnoty ve obou případech byly vyšší u kmene BN/Cub (viz Graf 17A a 17B). U samců kmene PD/Cub narostla lipogeneze po přidání inzulínu do média o 40,5 % oproti samicím, u kterých došlo k nárůstu o 34,8 %. U samců kmene BN/Cub narostla lipogeneze po přidání inzulínu do média o 40,5 % oproti samicím, u kterých došlo k nárůstu o 57,9 %.



Graf 17. Bazální lipogeneze (0) a lipogeneze stimulovaná inzulinem (250) u potkanů krmených HSD. Hodnoty uvedené v grafu představují vždy průměr \pm SEM z nezávislých měření. M, samci; F, samice; A-kmen PD/Cub, B-kmen BN/Cub; gl: glukóza; g tk: gram tukové tkáně; ** $p \leq 0,01$.

6 Diskuze

Tato diplomová práce se zabývala identifikací vlivu dvou odlišných typů diet, konkrétně diety s navýšeným množstvím tuků nebo sacharidů na morfometrické a metabolické parametry asociované s MS v závislosti na pohlaví jedince. Jako modelový organismus byly použity čtyři různé geneticky definované kmeny laboratorního potkana, jež jsou geneticky predisponovány k některým patologiím podmiňujícím MS a jsou dlouhodobě chovány na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK v Praze (UBLG). Nalezení případných rozdílů mezi samčím a samičím pohlavím v patogenezi MS v závislosti na dietě by mohlo vést k personalizovanější, a tudíž i úspěšnější prevenci MS, případně i jeho terapii, což by pomohlo snížit prevalenci tohoto vysoce kardiometabolicky rizikového stavu. V neposlední řadě mohou podobné studie vést k identifikaci kandidátních genů pro patogenezi MS v rámci pohlavně specifické genomické architektury MS.

Tato práce je inovativní zejména z důvodu zahrnutí obou pohlaví v experimentu, neboť v rámci zvířecích preklinických studií bývá vždy preferenčně využíváno samčí pohlaví, a to kvůli obecnému předpokladu zvýšené variability fenotypických parametrů u samic rozvíjejících se na podkladě estrálního cyklu. V jedné z recentních rozsáhlých studií (142 fenotypů u 50 inbredních kmenů potkana) však bylo prokázáno, že kolísání hladin pohlavních hormonů v závislosti na fázi estrálního cyklu metabolické parametry u samic výrazně neovlivňuje a v rámci experimentu tak není třeba navyšovat počet samic (Dayton et al. 2016). Tato práce byla vypracována v rámci rozsáhlejších studií sledujících nutrigenetické a nutrigenomické aspekty komplexních chorob, kterými se laboratoř Experimentální genetiky UBLG pod vedením prof. Šedy dlouhodobě zabývá.

6.1 Vliv diety s navýšeným množstvím tuku na patogenezi MS

Podávání vysokotukové diety bylo po dlouhou dobu považováno za příčinu rozvoje obezity, která je jednou z hlavních patofyziologií podmiňujících MS, ale také dyslipidemie či diabetu 2. typu. V posledních letech se však ukazuje, že spíše než absolutní množství tuků ve stravě, ovlivňuje zdravotní stav spíše příjem tuků z hlediska složení mastných kyselin, případně potraviny, kde jsou tuky kombinovány s jednoduchými sacharidy, jako je tomu například v celé

řadě průmyslově zpracovaných potravin (Cascio et al. 2012; DiFeliceantonio et al. 2018; Poti et al. 2017).

6.1.1 Morfometrické parametry

Počáteční tělesná hmotnost a hmotnost v průběhu experimentu byla v případě samic signifikantně nižší než hmotnost samců příslušných kmenů, a to u všech testovaných kmenů.

Zatímco žádný mezipohlavní rozdíl ve váhovém přírůstku nebyl detekován u kmenů SHR.PDZbtb16 a SHR, v rámci kmene PD/Cub došlo k většímu nárůstu tělesné váhy u samců v porovnání se samicemi (8,4 % vs. 4,3 % původní tělesné hmotnosti). Současně byl váhový přírůstek samic kmene PD/Cub signifikantně nižší než u samic zbývajících kmenů a v rámci samčího pohlaví byl nárůst tělesné hmotnosti mezi různými kmeny potkana přibližně stejný. Menší váhový přírůstek u samic kmene PD/Cub při srovnatelném příjmu potravy s ostatními kmeny svědčí o pohlavně specifickém genetickém nastavení metabolických drah u této skupiny, které by mohlo být předmětem následného zkoumání.

U samic všech testovaných kmenů byla detekována významně vyšší hmotnost srdce, jater a nadledvin v porovnání se samci příslušných kmenů, zatímco u samců kmene SHR a SHR.PDZbtb16 byla naměřena větší hmotnost ledvin v porovnání se samicemi stejných kmenů. Větší velikost jater u samic může být spojena s jejich hypertrofií v důsledku jejich zhoršené funkce, na kterou poukazuje také zvýšení sérových hodnot AST a ALT, jež jsme v rámci této práce detekovali právě u samic oproti samcům u kmenů SHR.PDZbtb16 a SHR. Vyšší hmotnosti srdce byly detekovány převážně u kmenů SHR a SHR.PDZbtb16 oproti kmenu PD/Cub, neboť spontánní hypertenze u těchto kmenů je pravděpodobně spojena s hypertrofií levé komory (Álvarez et al. 2008).

U samic kmene SHR.PDZbtb16 byla pozorována vyšší hmotnost hnědého tuku oproti samcům stejného kmene. Hnědý tuk je z důvodu vysoké metabolické aktivity považován za protektivní z hlediska rozvoje obezity, respektive MS, neboť zvyšuje klidový energetický výdej.

Naopak větší množství retroperitoneálního tuku bylo detekováno u samců oproti samicím kmenů SHR a PD/Cub. Retroperitoneální tuk, respektive tuk viscerální tuk, je spojen s výrazně vyšším kardiometabolickým rizikem. Naše výsledky korespondují s predilekčním ukládáním tuků v oblasti břicha právě u samčího pohlaví z důvodu snížené koncentrace estrogenů v krvi (Brow & Clegg 2010). Největší množství retroperitoneálního tuku bylo detekováno v rámci

kmene PD/Cub oproti ostatním kmenům, což lze vysvětlit specifickým genovým pozadím tohoto kmene.

6.1.2 Metabolické parametry

Zhoršená glukózová tolerance při OGTT byla pozorována u samců kmene PD/Cub oproti samicím stejného kmene. Tyto výsledky mohou naznačit lepší reakci samičího organismu při zvýšených koncentracích glukózy v krvi oproti samcům. Tuto domněnku podporují i vypočtené hodnoty AUC, které byly u samic výrazně nižší. Současně také byla u samců tohoto kmene neměřena i vyšší hladina sérového inzulínu a výraznější inzulinová rezistence. Obě pohlaví kmene PD/Cub vykazovala vyšší hladinu inzulínu a vyšší inzulinovou rezistenci oproti ostatním kmenům v rámci stejného pohlaví. Zatímco samci se lišili od obou kmenů, samice se lišili pouze od kmene SHR.PDZbtb16. Z výše uvedeného lze tedy shrnout, že mezipohlavní rozdíly v glukózovém metabolismu jsou patrné především u kmene PD/Cub, přičemž horší glukózová tolerance a inzulinová rezistence je přítomna u samců. Inzulinová rezistence se většinou rozvíjí na podkladě obezity centrálního typu a v této studii bylo zjištěno, že je u samců kmene PD přítomno větší množství retroperitoneálního tuku. Vyšší inzulinová senzitivita u samičího pohlaví v porovnání se samci byla také dokumentována v řadě studií, včetně studií lidských (Karakelides et al. 2010). Některé studie poukazují na to, že vyšší hladiny sérových estrogenů a progesteronu mohou inzulinovou senzitivitu také snižovat (Livingstone & Collison 2002), čímž lze vysvětlit horší glukózovou toleranci u samic kmene SHR v porovnání se samci stejného kmene.

Koncentrace sérových TAG a FFA se mezi jednotlivými pohlavími v rámci kmenů nijak nelišila. Nejnižší hladiny TAG byly detekovány u kmene PD/Cub, zatímco v rámci testovaných kmenů měli nejvyšší hladinu nonHDL-cholesterolu a tato hladina byla současně vyšší u samců oproti samicím, což odpovídá fyziologickým rozdílům mezi pohlavími v těchto hodnotách. Naopak samice kmene PD/Cub měli nižší hladinu HDL. To může být vysvětleno vyšší citlivostí žen oproti mužům na nepříznivé účinky obezity, tento rozdíl je nejvíce patrný právě v hladinách HDL (Knopp et al. 2005).

6.2 Vliv diety s navýšeným množstvím sacharidů na patogenezi MS

6.2.1 Morfometrické parametry

Podávání HSD potkanům je v řadě studií doprovázena nárůstem tělesné hmotnosti (Aslam & Madhu 2017), nicméně v některých studiích podávání HSD k nárůstu tělesné hmotnosti nevedlo (Sakamoto et al. 2012). V této práci byl větší nárůst tělesné hmotnosti při podávání HSD zaznamenán u samic kmene BN/Cub oproti samcům. Překvapivé je tak pozorování, že právě u samců kmene BN/Cub došlo během podávání HSD k významnému nárůstu množství epididymálního tukového tělesa oproti samicím stejného kmene. Podobné výsledky, kdy došlo k nárůstu množství celkového intraperitoneálního tuku, především pak epididymálního tuku, nikoliv však k nárůstu celkové tělesné hmotnosti potkaních samců při podávání HSD po dobu 20 týdnů, bylo dokumentováno i ve studii Cao et al. (2012). U kmene PD/Cub žádný signifikantní váhový přírůstek mezi pohlavími detekován nebyl. Tento rozdíl mezi oběma kmeny lze vysvětlit rozdílným genetickým pozadím použitých potkaních kmenů.

Vyšší hmotnost jater a ledvin byla pozorována u samic obou testovaných kmenů v porovnání se samci. Vyšší hmotnost jater u samic může být spojena s jejich hypertrofií v důsledku jejich výrazněji zhoršené funkce, a tudíž i vyšší citlivostí hepatocytů k HSD. Předpokládáme, že játra samic neměla větší relativní hmotnost na počátku experimentu oproti samcům. Naopak studie ukazují, že u samců bývá hmotnost jater vyšší a tyto odlišné výsledky ja tak třeba dále ověřit (DeLand & North 1968; Kratzer et al. 2003).

6.2.2 Metabolické parametry

Podávání HSD je většinou spojeno se zhoršením glukozové tolerance a inzulínové rezistence (Bourgoin et al. 2008; Cao et al. 2012; Sumiyoshi et al. 2006). Ačkoli u potkaních kmenů BN/Cub a PD/Cub byl tento efekt, výraznější u PD/Cub, dříve popsán (Šedová et al. 2000), v rámci této diplomové práce jsme mezi zvířaty krměnými HSD nepozorovali žádný signifikantní rozdíl v glukózové toleranci a inzulínové rezistenci mezi pohlavími. Dá se tedy předpokládat, že nutrigenomický profil samic a samců v rámci jednotlivých inbredních kmenů není dostatečně výrazně odlišný na to, aby se při krátkodobém podávání HSD případně projevil.

Současně nebyly detekovány ani mezipohlavní rozdíly v hladině TAG a jelikož hladina TAG pravděpodobně koreluje s výskytem inzulínové rezistence způsobené podáváním

HSD (Pagliassotti et al. 1996), výsledky se shodují s výše zmíněným faktem, že nebyl detekován ani rozdíl v inzulínové rezistenci.

U samců kmene PD/Cub narostla glykogenezé po přidání inzulínu do média více než u samic. A naopak u samců kmene BN/Cub narostla méně oproti samicím. Srovnatelné výsledky byly pozorovány u lipogenezé. Tento nárůst vypovídá o schopnosti tkáně reagovat na inzulín a výsledky u kmene BN/Cub se shodují s literaturou. Studie provázena na potkanech potvrdila, že u samic, které byly krmeny HSD, nedocházelo ke zhoršení reakce tkání na inzulín, avšak u samců, krmených stejnou dietou ke zhoršení došlo. Autoři předpokládali protektivní účinek estrogenu a/nebo progesteronu, nebo nepřítomnost mužských androgenů vůči snížené reakci tkání na inzulín při HSD (Horton et al. 1999). Tyto výsledky jednoznačně ukazují kmenovou (genetickou) specifitu nutrigenetických interakcí, kdy u modelu polygeně predisponovaného k rozvoji inzulínové rezistence (PD/Cub) může dojít ke specifické, idiosynkratické reakci. Toto zjištění, podobně jako dříve ustavená „dietně modulovaná farmakogenetická interakce“, pak při případné extrapolaci například pro lidský organismus ukazuje důležitost jedinečné reakce na identický vnější stimul a svědčí proti generalizovaným doporučeným postupům a interpretacím (Šeda et al. 2008).

6.3 HFD vs. HSD

Zdá se, že u kmene PD/Cub má HFD negativnější vliv na glukózovou toleranci, hodnoty AUC u nich byly výrazně vyšší než u potkanů stejného kmene krmených HSD. Současně HFD vede ke většímu zvýšení množství epididymálního tukového tělesa, což potvrzuje i jiná studie, ve které autoři dospěli k podobným výsledkům (Kim et al. 1999). Rozdíl byl pouze v hodnotách inzulínové rezistence, zatímco v naší studii měly samice krmené HSD nejvyšší hodnoty inzulínové rezistence, ve výše zmíněné studii samice krmené HSD nevykazovaly zhoršenou inzulínovou senzitivitu, a naopak samci krmení HSD a samice i samci krmení HFD měli zhoršenou inzulínovou senzitivu. Tento rozdíl může být dán rozdílnou genetickou specifitou použitých potkanů a / nebo různou délkou experimentu. Tuto hypotézu potvrzují pilotní data z jiné, dosud nepublikované studie, kde se ukazuje, že u kmene PD/Cub je zásadním způsobem změněna exprese členů metabolických drah beta-oxidace mastných kyselin a rodiny acyl-CoA syntetáz (Šeda et al. nepublikovaná data). V naší práci může být rozdíl v inzulínové rezistenci mezi dietami dán případně i odlišnou dobou odběru krve pro stanovení glukózy a inzulínu, to však nevysvětluje mezipohlavní rozdíly u potkanů krmených HSD v rámci kmene. Zdá se, že HSD má u tohoto kmene negativnější vliv na hladinu sérového inzulínu a TAG. To

je v souladu s literaturou, kdy v zásadě existuje konsensus, že HSD vede u většiny experimentálních modelů ke zvýšení koncentrace TAG v séru, zvýšené produkci VLDL a snížené oxidaci cukrů a tuků. Pro HFD jsou data silně závislá na použitém experimentálním kmeni, stejně jako v této diplomové práci (Cahova et al. 2012).

7 Závěr

- Byl potvrzen rozdílný vliv diety (HFD × HSD) na MS. Je pravděpodobné, že se na vzniku konkrétních komponent MS podílejí tyto diety odlišným mechanismem.
- Byla potvrzena genetická determinace některých komponent MS.
- Nebyla potvrzena souvislost mezi pohlavím a rozdílnou prevalencí MS. U některých parametrů sice byly nalezeny mezipohlavní rozdíly, avšak tyto rozdíly nebyly v rámci testovaných kmenů ani podávaných diet jednotné. Pohlaví a jeho vliv na patogenezi MS má pravděpodobně aditivní charakter s dalšími faktory, jako je konkrétní genotyp a podávaná dieta, případně jejich nutrigenetická interakce.
- Identifikovali jsme několik rozdílů v projevech MS v závislosti na rozdílné dietě, pohlaví nebo genetické determinaci. Je proto důležité zdůraznit, že v léčebné praxi by mělo docházet k vysoce individualizované terapii všech komponent MS.
- V rámci pokračování tohoto projektu bude dále provedena analýza transkriptomu v jaterní tkáni, retroperitoneálním a hnědém tukovém tělese s cílem identifikovat případné mezipohlavní rozdíly v genové expresi indukované dietou s navýšeným množstvím tuků nebo sacharidů.

8 Literatura

Aitman TJ, et al. 1999. Identification of Cd36 (Fat) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats. *Nature Genetics* **21**: 76-83.

Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WPT, Loria CM, Smith SC. 2009. Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, **120**: 1640-1645.

Alberti KGMM, Zimmet PZ. 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine* **15**: 539-553.

Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. 2006. Metabolic syndrome - a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association* **23**: 469-480.

Alexander CM., Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM. 2003. NCEP-Defined Metabolic Syndrome, Diabetes, and Prevalence of Coronary Heart Disease Among NHANES III Participants Age 50 Years and Older. *Diabetes* **52**: 1210-1214.

Alexander J. 1988. Sex differences and cross-immunity in DBA/2 mice infected with *L. mexicana* and *L. major*. *Parasitology* **96**: 297-302.

AlSaraj F, McDermott JH, Cawood T, McAteer S, Ali M, Tormey W, Cockburn BN, Sreenan S. 2009. Prevalence of the metabolic syndrome in patients diabetes mellitus. *Irish Journal of Medical Science* **178**: 309-313.

Álvarez MC, Caldiz C, Fantinelli JC, Garciarena CD, Console GM, De Cingolani GEC, Mosca SM. 2008. Is Cardiac Hypertrophy in Spontaneously Hypertensive Rats the Cause or the Consequence of Oxidative Stress? *Hypertension Research* **31**: 1465-1476.

- Aslam M, Madhu SV. 2017. Development of metabolic syndrome in high-sucrose diet fed rats is not associated with decrease in adiponectin levels. *Endocrine* **58**: 59-65.
- Atanur SS, et al. 2010. The genome sequence of the spontaneously hypertensive rat: Analysis and functional significance. *Genome Research* **20**: 791-803.
- Bahceci M, Gokalp D, Bahceci S, Tuzcu A, Atmaca S, Arikan S. 2007. The correlation between adiposity and adiponectin, tumor necrosis factor α , interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels. „Is adipocyte size associated with inflammation in adults?” *Journal of Endocrinological Investigation* **30**: 210-214.
- Beaglehole R, Trost DC, Tamir I, Kwiterovich PO, Glueck CJ, Insull W, Christensen B. 1980. Plasma high density lipoprotein cholesterol in children and young adults. *Circulation* **62**: 83.
- Bendlová B, Vaňková M, Hill M, Vacínová G, Lukášová P, Vejražková D, Šedová L, Šeda O, Včelák J. 2017. ZBTB16 gene variability influences obesity-related parameters and serum lipid levels in Czech adults. *Physiological Research* **66**: 425-431.
- Bergman RN, Ader M. 2000. Free Fatty Acids and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **11**: 351-356.
- Bers D. 2002. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* **415**: 198-205.
- Bourgoin F, Bachelard H, Badeau M, Mélançon S, Pitre M, Larivière R, Nadeau A. 2008. Endothelial and vascular dysfunctions and insulin resistance in rats fed a high-fat, high-sucrose diet. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **295**: 1044-1055.
- Brown LM, Clegg DJ. 2010. Central effects of estradiol in the regulation of food intake, body weight, and adiposity. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **122**: 65-73.
- Bureau A, Croteau J, Couture C, Vohl MC, Bouchard C, Pérusse L. 2015. Estimating genetic effect sizes under joint disease-endophenotype models in presence of gene-environment interactions. *Frontiers in Genetics* **6**: 248-258
- Busserolles J, Mazur A, Gueux E, Rock E, Rayssiguier Y. 2002a. Metabolic syndrome in the rat: females are protected against the pro-oxidant effect of a high sucrose diet. *Experimental Biology and Medicine* **227**: 837-842.

- Busserolles J, Rock E, Gueux E, Mazur A, Grolier P, Rayssiguier Y. 2002b. Short-term consumption of a high sucrose diet has a pro-oxidant effect in rats. *The British Journal of Nutrition* **87**: 337-342.
- Cahova M, Dankova H, Palenickova E, Papackova Z, Kazdova L. 2012. The Opposite Effects of High-Sucrose and High-Fat Diet on Fatty Acid Oxidation and Very Low Density Lipoprotein Secretion in Rat Model of Metabolic Syndrome. *Journal of Nutrition and Metabolism* **17**: 1-11.
- Cameron AJ, Boyko EJ, Sicree RA, Zimmet PZ, Söderberg S, Alberti K, George MM, Tuomilehto J, Chitson P, Shaw JE. 2008. Central obesity as a precursor to the metabolic syndrome in the AusDiab study and Mauritius. *Obesity* **16**: 2707-2716.
- Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. 2004. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* **33**: 351-375.
- Cannon CP. 2008. Mixed Dyslipidemia, Metabolic Syndrome, Diabetes Mellitus, and Cardiovascular Disease: Clinical Implications. *The American Journal of Cardiology* **102**: 5-9.
- Cao L, Liu X, Cao H, Lv Q, Tong N. 2012. Modified High-Sucrose Diet-Induced Abdominally Obese and Normal-Weight Rats Developed High Plasma Free Fatty Acid and Insulin Resistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **8**: 346-374.
- Cascio G, Schiera G, Di Liegro I. 2012. Dietary Fatty Acids in Metabolic Syndrome, Diabetes and Cardiovascular Diseases. *Current Diabetes Reviews* **8**: 2-17.
- CIA (Central Intelligence Agency). 2017. *The World Factbook*. Available from <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/fields/351.html#XX> (accessed November 2018).
- Cífková R. 2003. Epidemiologie metabolického syndromu ve světě a v České republice. Ústní sdělení na Symposiu o syndromu inzulínové rezistence, Praha 26. - 27. února.
- Coatmellec-Taglioni G., Ribière C. 2003. Factors that influence the risk of hypertension in obese individuals. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* **12**: 305-308.
- Consitt LA, Bell JA, Hudson JA. 2009. Intramuscular Lipid Metabolism, Insulin Action and Obesity. *IUBMB Life* **61**: 47-55.

- da Silva AA, do Carmo J, Dubinion J, Hall JE. 2009. The role of the sympathetic nervous system in obesity-related hypertension. *Current Hypertension Reports* **11**: 206-211.
- Damcott CM, Toni IP, Laurie JR, Sandra HO, Haiqing S, Kristi DS, Braxton DM, Alan RS. 2006. Polymorphisms in the Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Gene Are Associated With Type 2 Diabetes in the Amish: Replication and Evidence for a Role in Both Insulin Secretion and Insulin Resistance Diabetes **55**: 2654-2659.
- Dayton A, Exner EC, Bukowy JD, Stodola TJ, Kurth T, Skelton M, Greene AS, Cowley AW. 2016. Breaking the Cycle: Estrous Variation Does Not Require Increased Sample Size in the Study of Female Rats. *Hypertension* **68**: 1139-1144.
- Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamäki J, Mykkänen L, Kuusisto J, Laakso M, Fujimoto W, Auwerx J. 1998. A Pro12Ala substitution in PPAR γ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nature Genetics* **20**: 284-287.
- DeFronzo RA. 2009. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. **58**: 773-795.
- DeLand FH, North WA. 1968. Relationship Between Liver Size and Body Size. *Radiology* **91**: 1195-1198.
- Després J. 2006. Is visceral obesity the cause of the metabolic syndrome? *Annals of Medicine* **38**: 52-63.
- Després JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C. 1990. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* **10**: 497-511.
- DiFeliceantonio AG, Coppin G, Rigoux L, Thanarajah SE, Dagher A, Tittgemeyer M, Small DM. 2018. Supra-Additive Effects of Combining Fat and Carbohydrate on Food Reward. *Cell Metabolism* **28**: 33-44.
- Doll S, Paccaud F, Bovet P, Burnier M, Wietlisbach V. 2002. Body mass index, abdominal adiposity and blood pressure: consistency of their association across developing and developed countries. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity* **26**: 48-57.

- Duvall WL. 2003. Cardiovascular disease in women. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, **70**: 293-305.
- Elam MB, Umshot ES, Andersen RN, Heimberg M. 1986. Differential effects of high and low dose testosterone (T) on triglyceride (TG) synthesis by the rat hepatocyte. Program of the 68th Annual Meeting of The Endocrine Society, Anaheim, CA, 287. Citováno v: Mooradian, A. D., Morley, J. E., Korenman, S. G., (1987). *Biological Actions of Androgens*. *Endocrine Reviews* **8**: 1-28.
- Ervin RB. 2009. Prevalence of Metabolic Syndrome Among Adults 20 Years of Age and Over, by Sex, Age, Race and Ethnicity, and Body Mass Index: United States, 2003–2006. *National health statistics reports* **13**: 1-7.
- Eshtiaghi R, Esteghamati A, Nakhjavani M. 2010. Menopause is an independent predictor of metabolic syndrome in Iranian women. *Maturitas* **65**: 262-266.
- Esposito K, Chiodini P, Colao A, Lenzi A, Giugliano D. 2012. Metabolic Syndrome and Risk of Cancer: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* **35**: 2402-2411.
- Flegr J. 2005. *Evoluční biologie*. Academia. Praha.
- Ford ES, Giles WH, Dietz WH. 2002. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *The Journal of the American Medical Association* **287**: 356-359.
- Fox CS, Larson MG, Leip EP, Meigs JB, Wilson PW, Levy D. 2005. Glycemic status and development of kidney disease: the Framingham Heart Study. *Diabetes Care*. **28**: 2436-2440.
- Furuhashi M, Hotamisligil GS. 2008. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nature Reviews. Drug Discovery* **7**: 489.
- Gibbs RA, et al. 2004. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*, **428**: 493-521
- Goday A, Bellido D, Sajoux I, Crujeiras AB, Burguera B, García-Luna PP, Oleaga A, Moreno B, Casanueva FF. 2016. Short-term safety, tolerability and efficacy of a very low-calorie-

ketogenic diet interventional weight loss program versus hypocaloric diet in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nutrition & Diabetes* **6**: (e230) DOI:10.1038/nutd.2016.36.

Gould DC, Kirby RS, Amoroso P. 2007. Hypoandrogen-metabolic syndrome: a potentially common and underdiagnosed condition in men. *International journal of clinical practice* **61**: 341-344.

Gutman RA, Basilico MZ, Bernal CA, Chicco A, Lombardo YB. 1987. Long-term hypertriglyceridemia and glucose intolerance in rats fed chronically an isocaloric sucrose-rich diet. *Metabolism - Clinical and Experimental* **36**: 1013-1020.

Heine PA, Taylor JA, Iwamoto GA, Lubahn DB, Cooke PS. 2000. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor- α knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **97**: 12729-12734.

Heiss G, Johnson NJ, Reiland S, Davis C, Tyroler HA. 1980. The epidemiology of plasma high density lipoprotein cholesterol levels. *Circulation* **62**: 116.

Hirshman MF, Goodyear LJ, Wardzala LJ, Horton ED, Horton ES. 1990. Identification of an intracellular pool of glucose transporters from basal and insulin-stimulated rat skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry* **265**: 987-991.

Horton TJ, Gayles EC, Prach PA, Koppenhafer TA, Pagliassotti MJ. 1997. Female rats do not develop sucrose-induced insulin resistance. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **272**: 1571-1576.

Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. 1995. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor α in human obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation* **95**: 2409-2415.

Chahnazarian A. 1988. Determination of the sex ratio at birth: review of recent literature. *Social Biology* **35**: 214-235.

Chicco A, D'Alessandro ME, Karabatas L, Pastorale C, Basabe JC, Lombardo YB. 2003. Muscle Lipid Metabolism and Insulin Secretion Are Altered in Insulin-Resistant Rats Fed a High Sucrose Diet. *The Journal of Nutrition* **133**: 127-133.

- Chu SH, Sutherland K, Beck J, Kowalski J, Goldspink P, Schwertz D. 2005. Sex differences in expression of calcium-handling proteins and beta-adrenergic receptors in rat heart ventricle. *Life Sciences* **76**: 2735-2749.
- Ignarro LJ. 1999. Nitric Oxide: A Unique Endogenous Signaling Molecule in Vascular Biology (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition* **38**: 1882-1892.
- Ilanne-Parikka P, et al. 2004. Prevalence of the Metabolic Syndrome and Its Components: Findings from a Finnish general population sample and the Diabetes Prevention Study cohort. *Diabetes Care* **27**: 2135-2140.
- Ishimoto, T, et al. 2012. Opposing effects of fructokinase C and A isoforms on fructose-induced metabolic syndrome in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**: 4320-4325
- Ishimoto, T, et al. 2013. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. *Hepatology* **58**: 1632-1643.
- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen MR, Groop L. 2001. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* **24**: 683-689.
- James PA, et al. 2014. Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults: Report From the Panel Members Appointed to the Eighth Joint National Committee. *The Journal of the American Medical Association* **311**: 507-520.
- Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Boyce B, Broxmeyer H, Manolagas SC. 1992. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* **257**: 88-91.
- Kábelová A, Krupková M, Kazdová L, Šedová L, Křenová D, Liška F, Křen V, Šeda O, 2017. The Effect of Zbtb16 Gene on Insulin Sensitivity and Lipid Levels Revealed by a Single-Gene Congenic Rat Model. *Atherosclerosis* **263**: 277-278.
- Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. 2005. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* **365**: 217-223.

- Kellokumpu-Lehtinen P., Pelliniemi LJ. 1984. Sex ratio of human conceptuses. *Obstetric and Gynecology* **64**: 220-222.
- Karakelides H, Irving BA, Short KR, O'Brien P, Nair KS. 2010. Age, Obesity, and Sex Effects on Insulin Sensitivity and Skeletal Muscle Mitochondrial Function. *Diabetes* **59**: 89-97.
- Kim C, Halter JB. 2014. Endogenous Sex Hormones, Metabolic Syndrome, and Diabetes in Men and Women. *Current Cardiology Reports* **16**: 467.
- Kim J-Y, Nolte LA, Hansen PA, Han D-H, Kawanaka K, Holloszy JO. 1999. Insulin resistance of muscle glucose transport in male and female rats fed a high-sucrose diet. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **276**: 665-672.
- Klip A, Ramlal T, Bilan PJ, Cartee GD, Gulve EA, Holloszy JO. 1990. Recruitment of GLUT-4 glucose transporters by insulin in diabetic rat skeletal muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **172**: 728-736.
- Knopp RH, Paramsothy P, Retzlaff BM, Fish B, Walden C, Dowdy A, Tsunehara C, Aikawa K, Cheung MC. 2005. Gender differences in lipoprotein metabolism and dietary response: Basis in hormonal differences and implications for cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports* **7**: 472-479.
- Kratzer W, Fritz V, Mason RA, Haenle MM, Kaechele V. 2003. Factors Affecting Liver Size. *Journal of Ultrasound in Medicine* **22**: 1155-1161.
- Krege JH, John SWM, Langenbach LL, Hodgin JB, Hagaman JR, Bachman ES, Jennette JC, O'Brien DA, Smithies O. 1995. Male–female differences in fertility and blood pressure in ACE-deficient mice. *Nature* **375**: 146-148.
- Kren V. 1975. Genetics of the Polydactyly-Luxate Syndrome in the Norway Rat, *Rattus Norvegicus*. *Acta Universitatis Carolinae. Medica. Monographia* **68**: 1-103.
- Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, Shulman GI, Roden M. 1999. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* **42**: 113-116.

- Kwitek AE et al. 2006. BN phenome: detailed characterization of the cardiovascular, renal, and pulmonary systems of the sequenced rat. *Physiological Genomics* **25** :303-313.
- Kylin E. 1923. Studien ueber das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämiesyndrom. *Zentralblatt fuer Innere Medizin* **44**: 105-127. Citováno v: Kaur J. 2014. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiology Research and Practice*.
- Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K, Nyysönen K, Tuomainen TP, Valkonen VP, Salonen R, Salonen JT. 2004. Testosterone and Sex Hormone-Binding Globulin Predict the Metabolic Syndrome and Diabetes in Middle-Aged Men. *Diabetes Care* **27**: 1036-1041.
- Lebovitz HE, Banerji MA. 2005. Point: visceral adiposity is causally related to insulin resistance. *Diabetes Care* **28**: 2322-2325.
- Lee YS, et al. 2011. Inflammation Is Necessary for Long-Term but Not Short-Term High-Fat Diet Induced Insulin Resistance. *Diabetes* **60**: 2474-2483.
- Lindberg U-B, Crona N, Silfverstolpe G, Björntorp P, Rebuffé-Scrive M. 1990. Regional Adipose Tissue Metabolism in Postmenopausal Women After Treatment with Exogenous Sex Steroids. *Hormone and Metabolic Research* **22**: 345-351.
- Lin HF, Boden-Albala B, Juo SH, Park N, Rundek T, Sacco RL. 2005. Heritabilities of the metabolic syndrome and its components in the Northern Manhattan Family Study. *Diabetologia* **48**: 2006-2012.
- Lin S, Thomas TC, Storlien LH, Huang XF. 2000. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *International Journal of Obesity* **24**: 639-646.
- Lizcano JM, Alessi DR. 2002. The insulin signalling pathway. *Current Biology* **12**: 236-238.
- Liška F, et al. 2017. Downregulation of Plzf Gene Ameliorates Metabolic and Cardiac Traits in the Spontaneously Hypertensive Rat. *Hypertension* **69**: 1084-1091.
- Livingstone C, Collison M. 2002. Sex steroids and insulin resistance. *Clinical Science* **102**: 151-166.

- Lovejoy JC, Sainsbury A. 2009. Sex differences in obesity and the regulation of energy homeostasis. *Obesity Reviews* **10**: 154-167.
- Ludwig DS. 2016. Lowering the Bar on the Low-Fat Diet. *The Journal of the American Medical Association* **316**: 2087-2088.
- Lusis AJ. 2000. Atherosclerosis. *Nature* **407**: 233-241.
- Mallat Z, Fornes P, Costagliola R, Esposito B, Belmin J, Lecomte D, Tedgui A. 2001. Age and gender effects on cardiomyocyte apoptosis in the normal human heart. *The Journals of Gerontology: Series A* **56**: 719-723.
- Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, Forlani G, Melchionda N. 1999. Association of Nonalcoholic Fatty Liver Disease with Insulin Resistance. *The American Journal of Medicine* **107**: 450-455.
- McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PWF, Jacques PF. 2004. Carbohydrate Nutrition, Insulin Resistance, and the Prevalence of the Metabolic Syndrome in the Framingham Offspring Cohort. *Diabetes Care* **27**: 538-546.
- Mendrick, et al. 2018. Metabolic Syndrome and Associated Diseases: From the Bench to the Clinic. *Toxicological Sciences* **162**: 36-42
- Mesarwi O, Polak J, Jun J, Polotsky VY. 2013. Sleep disorders and the development of insulin resistance and obesity. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* **42**: 617-634.
- Misra A, Khurana, L. 2008. Obesity and the Metabolic Syndrome in Developing Countries. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **93**: 9–30
- Mock BA, Nancy CA. 1998. Hormonal modulation of sex differences in resistance to *Leishmania major* systemic infections. *Infection Immunology* **56**: 3316-3319.
- Morrison JA, deGroot I, Edwards BK, Kelly KA, Rauh JL, Mellies M, Glueck CJ. 1977. Plasma cholesterol and triglyceride levels in 6775 school children ages 6-17. *Metabolism* **26**: 1199.

- Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, Rinfret S, Schiffrin EL, Eisenberg MJ. 2010. The Metabolic Syndrome and Cardiovascular Risk. *Journal of the American College of Cardiology* **56**: 1113-1132.
- Muniyappa R, Quon MJ. 2007. Insulin Action and Insulin Resistance in Vascular Endothelium. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* **10**: 523-530.
- Murphy E. 2011. Estrogen Signaling and Cardiovascular Disease. *Circulation Research* **109**: 687-696.
- Neel JV. 1962. Diabetes Mellitus: A “Thrifty” Genotype Rendered Detrimental by “Progress”? *American Journal of Human Genetics* **14**: 353-62.
- Nettleton JA, Jebb S, Risérus U, Koletzko B, Fleming J. 2014. Role of Dietary Fats in the Prevention and Treatment of the Metabolic Syndrome. *Annals of Nutrition and Metabolism* **64**: 167-178.
- Node K, Kitakaze M, Kosaka H, Minamino T, Funaya H, Hori M. 1997. Amelioration of ischemia and reperfusion-induced myocardial injury by 17 β -estradiol: role of nitric oxide and calcium activated potassium channels. *Circulation* **96**: 1953-1963.
- Ober C, Loisel DA, Gilad Y. 2008. Sex-specific genetic architecture of human disease. *Nature Reviews Genetics* **9**: 911-922.
- Ogbera AO. 2010. Prevalence and gender distribution of the metabolic syndrome. *Diabetology & Metabolic Syndrome* **2**: 1.
- Okamoto K, Aoki K. 1963. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Circulation Journal* **27**: 282-293.
- Olivetti G, Giordano G, Corradi D, Melissari M, Lagrasta C, Gambert SR, Anversa P. 1995. Gender differences and aging: Effects on the human heart. *Journal of the American College of Cardiology* **26**: 1068-1079.
- Ošťádal B, Netuka I, Malý J, Bešík J, Ošťádalová I. 2009. Gender differences in cardiac ischemic injury and protection – experimental aspects. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)* **234**: 1011-1019.

- Pagliassotti MJ, Prach PA, Koppenhafer TA, Pan DA. 1996. Changes in insulin action, triglycerides, and lipid composition during sucrose feeding in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **271**: 1319-1326.
- Player MS, Peterson LE. 2011. Anxiety Disorders, Hypertension, and Cardiovascular Risk: A Review. *The International Journal of Psychiatry in Medicine* **41**: 365-377.
- Poti JM, Braga B, Qin B. 2017. Ultra-processed Food Intake and Obesity: What Really Matters for Health-Processing or Nutrient Content? *Current Obesity Reports* **6**: 420-431.
- Porte D, Baskin DG, Schwartz MW. 2005. Insulin Signaling in the Central Nervous System: A Critical Role in Metabolic Homeostasis and Disease From *C. elegans* to Humans. *Diabetes* **54**: 1264-1276.
- Pravenec M, Kren V, Landa V, Mlejnek P, Šimáková M, Zidek V. 2014. Recent Progress in the Genetics of Spontaneously Hypertensive Rats. *Physiological Research* **63**: 8.
- Qatanani M, Lazar MA. 2007. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes & Development* **21**: 1443-1455.
- Qi L, Kang K, Zhang C, Dam RM van, Kraft P, Hunter D, Lee C.-H., Hu FB. (2008). Fat Mass–and Obesity-Associated (FTO) Gene Variant Is Associated With Obesity: Longitudinal Analyses in Two Cohort Studies and Functional Test. *Diabetes* **57**: 3145-3151.
- Reaven GM. 1991. Insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia: Role in hypertension, dyslipidemia, and coronary heart disease. *American Heart Journal* **121**: 1283-1288.
- Reiner Ž, et al. 2011. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal* **32**: 1769-1818.
- Rich-Edwards JW, Manson JE, Hennekens CH, Buring JE. 1995. The primary prevention of coronary heart disease in women. *The New England Journal of Medicine* **332**: 1758-1766.

Roepstorff C, Helge JW, Vistisen B, Kiens B. 2004. Studies of plasma membrane fatty acid-binding protein and other lipid-binding proteins in human skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society* **63**: 239-244.

Roger VL, et al. 2011. Heart disease and stroke statistics - 2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* **123**: 18-209.

Roos R. 1999. Atherosclerosis RR. An inflammatory disease. *The New England Journal of Medicine* **340**: 115-126.

Sakamoto E, et al. 2012. Ingestion of a moderate high-sucrose diet results in glucose intolerance with reduced liver glucokinase activity and impaired glucagon-like peptide-1 secretion. *Journal of Diabetes Investigation* **3**: 432-440.

Schroeder EB, Chambless LE, Liao D, Prineas RJ, Evans GW, Rosamond WD, Heiss G. 2005. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care* **28**: 668-674.

Simonis M, et al. 2012. Genetic basis of transcriptome differences between the founder strains of the rat HXB/BXH recombinant inbred panel. *Genome Biology* **13**: 31.

Stančáková A, Laakso M. 2014. Genetics of metabolic syndrome. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* **15**: 243-252.

Stern MP, Williams K, Haffner SM. 2002. Identification of persons at high risk for type 2 diabetes mellitus: do we need the oral glucose tolerance test? *Annals of Internal Medicine* **136**: 575-581.

Stöger R. 2008. The thrifty epigenotype: An acquired and heritable predisposition for obesity and diabetes? *BioEssays* **30**: 156-166.

Sumiyoshi M, Sakanaka M, Kimura Y. 2006. Chronic Intake of High-Fat and High-Sucrose Diets Differentially Affects Glucose Intolerance in Mice. *The Journal of Nutrition* **136**: 582-587.

Sutendra G, Michelakis ED. 2013. Pulmonary Arterial Hypertension: Challenges in Translational Research and a Vision for Change. *Science Translational Medicine* **5**: 1-15.

- Šeda O, et al. 2005. Dynamic genetic architecture of metabolic syndrome attributes in the rat. *Physiological Genomics* **21**: 243-252.
- Šeda O, Šedová L, Oliyarnyk O, Kazdová L, Křenová D, Corbeil G, Hamet P, Tremblay J, Křen V. 2008. Pharmacogenomics of Metabolic Effects of Rosiglitazone. *Pharmacogenomics* **9**: 141-155.
- Šeda O, Šedová L, Včelák J, Vaňkova M, Liška F, Bendlová B. 2017. ZBTB16 and metabolic syndrome: a network perspective. *Physiological Research* **66**: 357-365.
- Šedová L, Kazdová L, Šeda O, Křenová D, Křen V. 2000. Rat inbred PD/cub strain as a model of dyslipidemia and insulin resistance. *Folia Biologica* **46**: 99-106.
- Šedová L, Liška F, Křenová D, Kazdová L, Tremblay J, Krupková M, Corbeil G, Hamet P, Křen V, Šeda O. 2012. CD36-deficient congenic strains show improved glucose tolerance and distinct shifts in metabolic and transcriptomic profiles. *Heredity* **109**: 63-70.
- Šedová L, Šeda O, Kazdová L, Chylíková B, Hamet P, Tremblay J, Křen V, Křenová D. 2007. Sucrose feeding during pregnancy and lactation elicits distinct metabolic response in offspring of an inbred genetic model of metabolic syndrome. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **292**: 1318-1324.
- Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. 2012. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *The Lancet* **379**: 2279-2290.
- Timpson NJ, Greenwood CMT, Soranzo N, Lawson DJ, Richards JB. 2018. Genetic architecture: the shape of the genetic contribution to human traits and disease. *Nature Reviews Genetics* **19**: 110-124.
- Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JGA, Thomazy VA, Evans RM. 1998. PPAR γ Promotes Monocyte/Macrophage Differentiation and Uptake of Oxidized LDL. *Cell* **93**: 241-252.
- Vaccarino V, Krumholz HM, Berkman LF, Horwitz RI. 1995. Sex differences in mortality after myocardial infarction. Is there evidence for an increased risk for women? *Circulation* **91**: 1861-1871.

- Vrána A, Kazdová L, Dobešová Z, Kuneš J, Křen V, Bílá V, Štolba P, Klimeš I. 1993. Triglyceridemia, glucoregulation, and blood pressure in various rat strains. Effects of dietary carbohydrates. *Annals of the New York Academy of Sciences* **683**: 57-68.
- Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation* **112**: 1796-1808.
- Wensveen FM, Valentić S, Šestan M, Wensveen TT, Polić B. 2015. The ‘Big Bang’ in Obese Fat: Events Initiating Obesity-Induced Adipose Tissue Inflammation. *European Journal of Immunology* **45**: 2446-2456.
- Willett WC, Green A, Stampfer MJ, Speizer FE, Colditz GA., Rosner B, Monson RR, Stason W, Hennekens CH. 1987. Relative and absolute excess risks of coronary heart disease among women who smoke cigarettes. *The New England Journal of Medicine* **317**: 1303-1309.
- World Health Organization. 2006. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. Geneva: World Health Organization 1-50. Available from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43588> (accessed March 2019).
- Ziaei S, Hajar M. 2013. Correlation between Hormonal Statuses and Metabolic Syndrome in Postmenopausal Women. *Journal of Family & Reproductive Health* **7**: 63-66.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

ACE angiotenzin konvertující enzym

ALT alaninaminotranferáza

AST aspartátaminotranferáza

AUC plocha pod křivkou (area under the curve)

BMI body mass index

CD36 Cluster of Differentiation 36

CMP cévní mozková příhoda

CoA koenzym A

EGIR Evropská skupina pro studium inzulinové rezistence (European Group for the Study of Insuline Resistance)

ELISA enzyme-linked immuno sorbent assay

eNOS endoteliální NO syntáza

FABPs proteiny vázající mastné kyseliny (fatty acid binding proteins)

FFA volné mastné kyseliny (free fatty acid)

FTO Fat Mass and Obesity-associated

GI glykemický index

GLUT4 Glucose Transporter 4

HAM syndrom hypoandrogenního metabolismu

HDL lipoprotein s vysokou hustotou (high-density lipoprotein)

HFD vysokotuková dieta (high-fat diet)

HOMA-IR homeostatický model pro hodnocení inzulinové rezistence (Homeostatic model assessment for insulin resistance)

HSD vysokosacharózová dieta (high-sucrose diet)

IDF Mezinárodní organizace pro léčbu diabetu (International Diabetes Federation)

IFG glykémie na lačno (Impaired Fasting Glucose)

ICHS ischemická choroba srdeční

IL-1 interleukin-1

IL-6 interlukin-6

KVO kardiovaskulární onemocnění

LCFA-CoA komplex mastné kyseliny s dlouhým řetězcem a CoA (long-chain fatty acyl-CoA)

LDL lipoprotein o nízké hustotě (low-density lipoprotein)
LFD nízkotuková dieta (low-fat diet)
MK mastné kyseliny
mRNA mediátorová (informační) ribonukleová kyselina
MS metabolický syndrom
NCEP ATP III Národní vzdělávací program pro cholesterol - třetí panel pro léčbu dospělých
(National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III)
NO oxid dusnatý
NSX $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ výměník
OGTT orální glukózový toleranční test
PAI-1 Plasminogen Activator Inhibitor 1
PAK proteinkináza A
PD/Cub polydaktylní kmen potkana
PKC proteinkináza C
Plzf promyelocytic leukemia zinc finger
PPAR γ receptory aktivované peroxizomovými proliferátory (peroxisome proliferator-activated receptor- γ)
RAAS renin-angiotenzin-aldosteronový systém
RyR ryanodinový receptor
SERCA 2 Ca^{2+} ATP-ázová pumpa ve stěně sarkoplazmatického retikula
SHR spontánně hypertenzní kmen potkana (spontaneously hypertensive rat)
SHR.PDZbtb16 spontánně hypertenzní polydaktylní s mutací genu Zbtb16 kmen potkana
SNP jednonukleotidový polymorfismus (single nucleotide polymorphism)
SNS sympatický nervový systém
SR sarkoplazmatické retikulum
TAG triacylglycerol
TCF7L2 Transcription Factor 7-like 2
TG triglycerid
TLR4 Toll-like receptor 4
TNF α tumor nekrotizující faktor α (tumor necrosis factor- α)
T2D diabetes mellitus 2.typu
VLDL lipoprotein o velmi nízké hustotě (very low-density lipoprotein)
WHO Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)
Zbtb16 Zinc Finger and BTB domain containing 16

β -AR beta-adrenergí receptor