

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



**MUDr. Petr Hlavatý**

Vliv mastných kyselin na lipidový metabolismus  
a redukci tělesné hmotnosti

Effect of fatty acids on lipid metabolism  
and weight reduction

Typ závěrečné práce

Disertační

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: Doc. MUDr. Marie Kunešová, CSc.

Praha, 2011

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30. 4. 2011

Petr Hlavatý

**Identifikační záznam:**

HLAVATÝ, Petr. *Vliv mastných kyselin na lipidový metabolismus a redukci tělesné hmotnosti.* [Effect of fatty acids on lipid metabolism and weight reduction]. Praha, 2011. 82 s., 5 příl. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Endokrinologický ústav. Vedoucí práce Kunešová, Marie.

**Poděkování:**

Doc. MUDr. Marii Kunešové, CSc. za pomoc a cenné rady při přípravě této disertační práce, celému oddělení obezitologie Endokrinologického ústavu a všem ostatním kolegům a spolupracovníkům, kteří se podíleli na provedení studií prezentovaných v této publikaci.

### **Tato disertační práce je založena na následujících publikacích**

- **Hlavatý P., Kunešová M., Gojová M., Tvrzická E., Vecka M., Roubal P., Hill M., Hlavatá K., Kalousková P., Hainer V., Žák A., Drbohlav J.** Change in fatty acid composition of serum lipids in obese females after short-term weight-reducing regimen with the addition of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids in comparison to controls. *Physiol Res.* 2008, 57 (Suppl 1), s. 57–65.
- **Kunešová M., Braunerová R., Hlavatý P., Tvrzická E., Staňková B., Škrha J., Hilgertová J., Hill M., Kopecký J., Wagenknecht M., Hainer V., Matoulek M., Pařízková J., Žák A., Svačina S.** The influence of n-3 polyunsaturated fatty acids and very low calorie diet during a short-term weight reducing regimen on weight loss and serum fatty acid composition in severely obese women. *Physiol Res.* 2006, 55, s. 63–72.
- **Kabrnová-Hlavatá K., Hainer V., Gojová M., Hlavatý P., Kopský V., Nedvídková J., Kunešová M., Pařízková J., Wagenknecht M., Hill M., Drbohlav J.** Calcium intake and the outcome of short-term weight management. *Physiol Res.* 2008, 57, s. 237–245.

**Dále jsou v disertační práci zahrnuty i výsledky ze dvou studií, jejichž výsledky byly prezentovány ve formě posterů na konferencích ECO 2005 (Atény), ICO 2006 (Sydney).**

- **Hlavatý P., Kunešová M., Vaňková M., Bendlová B., Braunerová R., Obenberger J., Hill M., Kabrnová K., Pařízková J., Hainer V., Wagenknecht M., Seidl Z.** TT variant of fatty-acid binding protein type 2 polymorphism tends to lower BMI in obese women, a pilot study. *Obes Rev.* 2005, 6 (Suppl 1), s. 177.
- **Hlavatý P., Vaňková M., Bendlová B., Braunerová R., Kabrnová K., Hainer V., Obenberger J., Hill M., Seidl Z., Kunešová M.** Association of the intestinal fatty acid-binding protein 2 polymorphism and distribution of abdominal adipose tissue in obese women. *Obes Rev.* 2006, 7 (Suppl 2).

## Obsah

1. Úvod do problematiky .....	9
2. Mastné kyseliny.....	11
2.1 Syntéza mastných kyselin.....	11
2.2 Nasycené mastné kyseliny (SFA) .....	12
2.2.1 Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA) .....	12
2.2.2 Mastné kyseliny se středním řetězcem (MCFA).....	13
2.2.3 Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (LCFA).....	13
2.3 Mononenasyčené mastné kyseliny (MUFA).....	14
2.4 Trans nenasycené mastné kyseliny (TFA).....	14
2.5 Konjugované mastné kyseliny .....	15
2.6 Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA).....	15
2.7 Biologické funkce mastných kyselin.....	17
2.7.1 Ovlivnění buněčné membrány.....	17
2.7.2 Ovlivnění genové exprese .....	17
2.7.3 Sterol regulatory element binding proteins (SREBP) .....	18
2.7.4 Liver X receptor (LXR).....	20
2.7.5 Carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) .....	21
2.7.6 Vliv PUFA na genovou expresi .....	22
2.7.7 Peroxisome proliferator activated receptors (PPAR) .....	23
2.7.8 Ovlivnění metabolismu lipidů a lipoproteinů .....	25
2.7.9 Ovlivnění inzulínové sekrece .....	28
2.8 Ovlivnění metabolického syndromu mastnými kyselinami.....	29
2.9 Vliv mastných kyselin na inzulínovou rezistenci .....	34
2.10 Vliv příjmu PUFA řady n-3 na obezitu .....	39
3. Cíle práce .....	42

4.	Výsledky předložených prací.....	43
4.1	Změny ve složení mastných kyselin sérových lipidů u obézních žen po krátkodobém redukčním programu s přidavkem PUFA řady n-3.....	43
4.2	Vliv n-3 polynenasycených mastných kyselin a velmi přísné nízkenergetické diety na snížení hmotnosti a složení mastných kyselin v séru u obézních žen.....	45
4.3	Vliv příjmu vápníku v krátkodobém redukčním režimu .....	48
4.4	TT varianta polymorfismu FABP2 (fatty acid binding protein) může vést k nižšímu BMI u obézních žen. Pilotní studie. ....	50
4.5	Asociace polymorfismu FABP2 (fatty acid binding protein) a distribuce tukové tkáně u obézních žen. ....	52
5.	Závěry .....	54
6.	Diskuse .....	55
7.	Citovaná literatura.....	59

## Seznam zkratek:

ABCA1	- ATP-binding cassette transporter-1
ACAT	- acyl-CoA cholesterol acyl transferáza
ACC	- acetyl-CoA karboxyláza
ACTH	- adrenokortikotropní hormon
ADP	- adenosin difosfát
ALA	- $\alpha$ -linolenová kyselina
AMP	- adenosinmonofosfát
AMPK	- AMP-aktivovaná proteinkináza
ANOVA	- analýza rozptylu (ANalysis Of VAriance)
ApoB	- apolipoprotein B
ATP	- adenosintrifosfát
BMI	- index tělesné hmotnosti (body mass index)
cAMP	- cyklický adenosinmonofosfát
CE	- estery cholesterolu
CETP	- cholesterol ester transfer protein
CLA	- konjugovaná kyselina linolová (conjugated linoleic acid)
CNS	- centrální nervová soustava
CoA	- koenzym A
CPT-1	- karnitinpalmitoyltransferáza I
CT	- počítačová tomografie (computed tomography)
DEXA	- duální rentgenová absorpciometrie (dual-energy X-ray absorptiometry)
DHA	- dokosahexaenová kyselina
DHEA	- dehydroepiandrosteron
DHEAS	- dehydroepiandrosteron sulfát
DNA	- deoxyribonukleová kyselina
EPA	- eikosapentaenová kyselina
ER	- endoplazmatické retikulum
FA	- mastná kyselina (fatty acid)
FABP	- fatty acid binding protein
FAS	- syntáza mastných kyselin (fatty acids syntáza)
FBP-1	- fruktóza-1,6-bisfosfatáza
FIAF	- fasting-induced adipocyte factor
FFM	- beztuková hmota (fat free mass)
GK	- glukokináza
GLUT	- glucose transporters
HDL	- lipoproteiny o vysoké hustotě (high density lipoproteins)
HMG-CoA	- 3-hydroxy-3-metylglutaryl-koenzym A
HNF-4	- hepatocyte nuclear factor-4
ChREBP	- carbohydrate response element-binding protein
IDL	- lipoproteiny o střední hustotě (intermediate density lipoproteins)
IGF-1	- insulin-like growth factor-1
ICHS	- ischemická choroba srdeční
INSIG	- insulin-induced gene
IRS	- insulin receptor substrate



LA	- kyselina linolová
LCFA	- mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (long-chain fatty acids)
LDL	- lipoproteiny o nízké hustotě (low density lipoproteins)
L-PK	- L-pyruvátkináza
LPL	- lipoproteinová lipáza
LXR	- liver X receptor
MCFA	- mastné kyseliny se středním řetězcem (medium-chain fatty acids)
mRNA	- mediátorová ribonukleová kyselina
MTP	- microsomal triglyceride transfer protein
MUFA	- mononenasyčené mastné kyseliny (monounsaturated fatty acids)
NADH	- nikotinamid adenin dinukleotid
NADPH	- nikotinamid adenin dinukleotid fosfát
oGTT	- orální glukózový toleranční test
PCR	- polymerázové řetězové reakce (polymerase chain reaction)
PEPCK	- fosfoenolpyruvát karboxyláza
PERPP	- post-ER presecretory proteolysis
PFK-1	- fosfofruktokináza 1
PKC	- proteinkináza C
PL	- fosfolipidy
PPAR	- peroxisome proliferator activated receptors
PUFA	- polynenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids)
RFLP	- polymorfismus délky restričních fragmentů (restriction fragment length polymorphism)
RXR	- retinoid X receptor
SAAT	- subkutání abdominální tuková tkáň
SCAP	- SREBP cleavage-activating protein
SCFA	- mastné kyseliny s krátkým řetězcem (short-chain fatty acids)
SFA	- nasycené mastné kyseliny (saturated fatty acids)
SHBG	- steroidní hormony vázající globulin (sex hormon binding globuline)
SREBP	- sterol regulatory element binding proteins
TAAT	- celková abdominální tuková tkáň
TFA	- trans mastné kyseliny (trans fatty acids)
TG	- triacylglyceroly
UCP	- uncoupling protein
VAAT	- viscerální abdominální tuková tkáň
VLCD	- velmi přísná nízkenergetická dieta (very low calorie diet)
VLDL	- lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (very low density lipoproteins)
WHO	- Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

## 1. Úvod do problematiky

Obezita se stala v současné době celosvětovou epidemií, která postihuje jak rozvinuté, tak rozvojové země. V Evropě dosahuje prevalence obezity 10–20 % u mužů a 15–25 % u žen. V České republice má přibližně 52 % dospělé populace hmotnost nad horní hranici normy dle indexu tělesné hmotnosti (BMI – Body Mass Index), 35 % je v pásmu nadváhy a 17 % již trpí obezitou.

Obezita představuje závažný zdravotní a sociálně ekonomický problém, neboť je spojena s vyšší morbiditou a mortalitou. Významně zvyšuje riziko rozvoje diabetu 2. typu, hypertenze a dalších kardiovaskulárních chorob, dyslipidémie, degenerativních onemocnění pohybového ústrojí a některých nádorů. Významné jsou i psychosociální komplikace – společenská diskriminace, nízké sebevědomí, deprese a úzkosti. U obézních jedinců je častá zhoršená kvalita života a nižší průměrný věk.

Obezita je charakterizována množstvím tuku v organismu. Fyziologický podíl tuku u žen by měl být do 30 %, u mužů je horní hranicí normy 23–25 %. Na základě BMI je možné určit míru zdravotního rizika. Nejnižší riziko zdravotních komplikací je při BMI mezi 18,5–25. BMI v rozmezí 25–30 většinou také nepředstavuje vážnější zdravotní riziko, ale některé epidemiologické studie ukazují nárůst mortality již od hodnot BMI nad 27. Platí, že čím vyšší BMI, tím více stoupá riziko vzniku zdravotních komplikací a jejich závažnost.

Pro posouzení zdravotních rizik vyplývajících z obezity je nutné zohlednit i distribuci tuku. Podle distribuce tuku lze rozlišit dva typy obezity – gynoidní typ s akumulací podkožního tuku v oblasti hýždí a stehen a typ androidní s nahromaděním tuku zejména v oblasti břicha. U androidního typu obezity dochází často vedle množení podkožního tuku i k výraznému množení tuku viscerálního, které je spojeno s častějším výskytem zejména kardiovaskulárních a metabolických komplikací obezity.

Při vzniku obezity se uplatňuje celá řada faktorů. Od faktorů metabolických, často podmíněných geneticky, přes poruchy regulačních mechanismů na úrovni celého organismu až po vlivy psychologické a vlivy prostředí. Rizikem pro vznik obezity je nedostatečná pohybová aktivita, vysoký energetický příjem a nevhodná skladba stravy, s nadměrným množstvím tuků a jednoduchých sacharidů. Za rizikový je také považován

nedostatečný příjem komplexních sacharidů s nižším glykemickým indexem a nízká konzumace zeleniny a nízkotučných mléčných výrobků. Vedle celkového příjmu tuků se však ukazuje i významný vliv zastoupení jednotlivých mastných kyselin.

Tato disertační práce podává přehled o mastných kyselinách a jejich vlivu na lidský organismus, zejména s ohledem na regulaci genové exprese, ovlivnění lipidového metabolismu a redukci hmotnosti. Znalost této problematiky pomáhá k pochopení pozitivních účinků vyšší konzumace zejména polynenasycených mastných kyselin řady n-3. Tento literární přehled poskytuje východisko pro vlastní vědeckou práci v rámci postgraduálního studia.

## 2. Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (fatty acids, FA) jsou alifatické, obvykle nevětvené monokarboxylové kyseliny. Nejběžněji se v přírodě vyskytují FA o délce řetězce 4–22 uhlíků, nejčastěji s 16 a 18 uhlíky. Většinou mají sudý počet atomů uhlíku, což je dáno jejich syntézou, která zpravidla probíhá z dvouuhlíkatých jednotek. FA s lichým počtem uhlíků se nacházejí v lipidech některých mikroorganismů a tuku přežvýkavců. Pokud FA obsahuje dvojně vazby, jsou téměř vždy v konfiguraci *cis*. *Trans* konfigurace dvojně vazby je typická pro některé druhy bakterií. V organismu se FA vyskytují jako volné, nebo tvoří ve své esterifikované formě součást lipidů.

Vedle systematických názvů pro FA jsou běžněji používané triviální názvy a schematické vzorce. Vzorec obsahuje dvě čísla oddělená dvojtečkou, první vyjadřuje délku uhlíkového řetězce a druhé počet dvojných vazeb. Poloha dvojných vazeb je uváděna různými způsoby, explicitním definováním polohy a konfigurace, nebo relativně ve vztahu ke karboxylovému nebo metylovému konci řetězce. Systematické číslování ( $\Delta$ ) vychází od karboxylového konce, zatímco v biomedicině je rozšířenější číslování od metylové skupiny. Zápis pak je ve formě  $n-x$  nebo  $\omega x$ , kde  $x$  udává číslo uhlíku nejbližší metylovému konci. Pokud řetězec obsahuje více dvojných vazeb, předpokládá se konfigurace *cis* a přítomnost jedné metylové skupiny mezi dvojnými vazbami. Pro kyselinu olejovou je tedy zápis 18:1  $n-9$  (1, 2, 3).

### 2.1 Syntéza mastných kyselin

Syntéza FA probíhá v cytoplasmě buňky aktivitou enzymů acetyl-CoA-karboxylázy, která přeměňuje acetyl-CoA na malonyl-CoA, a účinkem multienzymového komplexu – syntázy mastných kyselin (FAS). Tento komplex katalyzuje vazbu malonyl-CoA na acetyl-CoA, a vede tak k prodlužování řetězce FA. Celý proces se opakuje sedmkrát až do vzniku kyseliny palmitové (16:0), která je aktivitou thioesterázy uvolněna z komplexu FAS. V mléčné žláze jsou přítomné i thioesterázy, které uvolňují od komplexu FAS i nově vzniklé FA o kratším řetězci. Satureované FA o delším řetězci jsou syntetizovány z kyseliny palmitové aktivitou elongázy mastných kyselin v endoplasmatickém retikulu buněk. Mononenasyčené FA (MUFA) vznikají vnesením dvojně vazby do řetězce satureované FA aktivitou desaturázy. Člověk a ostatní savci jsou schopni vnést dvojnou vazbu nejvýše na pozici  $\Delta^9$  FA za vzniku kyseliny palmitolejové (16:1  $n-7$ ) a kyseliny

olejové (18:1 n-9). Vznik dvojné vazby mezi pozicí  $\Delta^{10}$  a metylovým koncem řetězce již možný není, a proto jsou polynenasycené FA (PUFA) řady n-6 a n-3 pro člověka a ostatní savce esenciální (3, 4).

## **2.2 Nasycené mastné kyseliny (SFA)**

### **2.2.1 Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA)**

Tyto nasycené FA mají řetězec tvořený 1–4 atomy uhlíku. Vznikají bakteriální fermentací sacharidů, proteinů, peptidů a glykoproteinů v tlustém střevě (5, 6). Bakteriální fermentací sacharidů v proximální části tlustého střeva vznikají kyseliny octová, propionová a máselná (7). Ve střevě svým účinkem stimulují absorpci vody, chloridů a bikarbonátu, stimulují průtok krve sliznicí tlustého střeva a produkci hlenu (3, 8). SCFA mají i klíčovou úlohu při udržení správné funkce střevního epitelu. Kyselina máselná tvoří hlavní energetický substrát kolonocytů, má i vliv na jejich funkci a stimulační efekt na proliferaci buněk střevní sliznice (8, 9). Zároveň se ukazuje i její důležitá role v prevenci a léčbě ulcerózní kolitidy, Crohnovy choroby a kolorektálního karcinomu (10, 11, 12). Kyselina propionová tvoří substrát pro jaterní glukoneogenezi (13). Zároveň se udává její inhibiční vliv na syntézu cholesterolu v játrech. Efekt vlákniny na snížení hladiny cholesterolu může být tedy zprostředkován produkcí propionátu v tlustém střevě činností bakterií (14). Zvýšená produkce SCFA v tlustém střevě redukuje postprandiální vzestup hladiny volných FA a příznivě ovlivňuje hormony trávicího traktu regulující příjem potravy (15).

Podle některých hypotéz může být střevní mikroflóra jedním z faktorů přispívajícím k rozvoji obezity. Předpokládá se, že specifické složení střevní mikroflóry je zodpovědné za zvýšené ukládání energie (16). Možným vysvětlením jsou dva mechanismy. Zvýšení biologické dostupnosti příjmu energie tím, že mikroflóra mění nestravitelnou vlákninu na vstřebatelné živiny a regulace genové exprese. Konkrétně by střevní bakterie mohly snižovat expresi FIAF (fasting-induced adipocyte factor), proteinu, který inhibuje aktivitu lipoproteinové lipázy (LPL). Tato inhibice může vést ke snadnějšímu uvolňování volných FA z lipoproteinových částic. Volné FA jsou tím snáze dostupné pro tukovou tkáň a játra, které je mohou snadněji uložit (17). Změny ve střevní mikroflóře byly popsány také ve studiích u lidí. U obézních pacientů je narušen poměr mezi Firmicutes a

Bacteriodetes (18, 19), která byl následně snížen a téměř normalizován po té, co pacienti podstoupili redukční režim (19).

### **2.2.2 Mastné kyseliny se středním řetězcem (MCFA)**

Jedná se o FA s délkou řetězce 6–12 uhlíků. Jsou snadno absorbovány ve střevě a na rozdíl od FA s dlouhým řetězcem jsou přímo transportovány portálním řečištěm do jater (20). Většina je v játrech vycytána a jen velmi malé množství se krátce objevuje v periferní krvi (21). Tukové emulze s vyšším zastoupením MCFA jsou využívány v terapii malabsorpčních stavů, u osob v těžkých stavech a pro účely realimentace. Studie sledující krátkodobý efekt vyššího příjmu MCFA na úkor FA s dlouhým řetězcem (LCFA) ukázaly jak na zvířecích modelech (22) i u lidí (23, 24) efekt na zvýšení energetického výdeje. Zároveň může jejich vyšší příjem zabránit poklesu energetického výdeje během redukčního režimu (25). K redukci hmotnosti mohou pomoci i svým sytícím efektem, který vede k nižšímu energetickému příjmu (26). Dále některé studie popisují i zvýšení absorpce vápníku ve střevě (27), zejména u dětí (28). Vyšší příjem vápníku v rámci redukční diety je spojován s lepšími výsledky redukce (29).

Kyselina laurová (12:0) stojí se svým řetězcem o délce 12 uhlíků na rozhraní mezi MCFA a LCFA. Její vstřebání probíhá částečně ve formě volné FA portálním řečištěm a částečně je inkorporována do chylomiker. Svým účinkem na metabolismus cholesterolu vede ke zvýšení LDL cholesterolu, ne však tak výrazně, jako LCFA (30).

### **2.2.3 Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (LCFA)**

Zahrnují FA s řetězcem o délce 14 a více uhlíků, jedná se zejména o kyselinu myristovou (14:0), palmitovou (16:0) a stearovou (18:0). Jsou zastoupeny především v živočišných tkáních, kde obvykle tvoří 30–40 % celkového množství FA. Z rostlinných zdrojů jsou významněji obsaženy v kokosovém a palmojádrovém oleji (31). Studie ukazují, že vysoký příjem LCFA (více než 15 % z celkového příjmu energie) je asociován se vzestupem hladiny cholesterolu v krvi, a zvýšeným rizikem mortality na kardiovaskulární onemocnění (32, 33). Pravidelná nadměrná konzumace těchto kyselin, zejména kyseliny palmitové a myristové, vede ke zvýšení hladiny celkového a LDL cholesterolu. Mírné zvýšení může být i ve frakci HDL a VLDL. Efekt LCFA na vzestupu LDL cholesterolu je zprostředkován jejich vlivem na snížení exprese LDL receptoru a

jeho aktivity ovlivněním fluidity buněčných membrán (34, 35). Konzumace kyseliny stearové s řetězcem o délce 18 uhlíků na rozdíl od ostatních nasycených LCFA nevede k vzestupu hladiny triacylglycerolů (TG), celkového cholesterolu a LDL cholesterolu v séru (36). Některé studie uvádějí jen velmi malý vzestup LDL cholesterolu a minimální pokles HDL cholesterolu (37). Efekt kyseliny stearové lze považovat ve vztahu k ovlivnění hladiny cholesterolu za neutrální a s výjimkou vlivu na HDL cholesterol velmi podobný kyselině olejové. Toto může být vysvětleno velmi rychlou přeměnou kyseliny stearové pomocí  $\Delta^9$  desaturázy právě na kyselinu olejovou (38). V některých studiích byl pozorován významnější trombogenní účinek kyseliny stearové. K aktivaci koagulačního systému dochází za situace, kdy volné FA nejsou v cirkulaci vázány na albumin nebo jiné vazebné proteiny. Vazba kyseliny stearové na albumin je v porovnání s ostatními FA slabší. Výsledky studií, které sledovaly tuto problematiku, jsou však nejednotné (39).

### **2.3 Mononenasycené mastné kyseliny (MUFA)**

Jsou charakterizovány přítomností jedné dvojně vazby. Nejvýznamnější MUFA s *cis* konfigurací dvojně vazby jsou kyselina olejová (18:1 n-9), palmitolejová (16:1 n-7) a vakcenová (18:1 n-7). Hlavními zdroji MUFA jsou rostlinné oleje – např. olivový, řepkový a další. Studie ukazují pozitivní vliv vyššího příjmu MUFA na vzestup hladiny HDL cholesterolu a pokles TG v plasmě (40). Byl pozorován i efekt na zlepšení inzulínové senzitivity (41), výsledky studií však nejsou konzistentní (42). Některé studie popisují i vliv vyššího příjmu MUFA na redukci kardiovaskulárních rizik - pokles krevního tlaku (43), antiagregační účinky a ovlivnění koagulačních faktorů (44) a účinky antiaterogenní a protizánětlivé (45).

### **2.4 Trans nenasycené mastné kyseliny (TFA)**

*Trans* izomery vznikají hydrogenací nenasycených FA působením bakterií v zažívacím traktu přežvýkavců nebo v procesu ztužování tuků. Hlavními představiteli TFA jsou kyselina elaidová (*t* 18:1 n-9) (zastoupená zejména ve ztužených tucích) a transvakcenová (*t* 18:1 n-7) (obsažená v mléce a tuku přežvýkavců). Nejvýznamnějším zdrojem TFA v potravě jsou ztužené tuky, u kterých byla ke ztužení použita metoda hydrogenace. U kvalitních ztužených tuků se při výrobě používá metoda interesterifikace, při které TFA nevznikají. TFA se svými zdravotními riziky podobají

LCFA. Vyšší konzumace TFA výrazně zvyšuje riziko ischemické choroby srdeční, diabetu 2. typu, některých nádorů a alergií (46). TFA významně zvyšují hladinu celkového cholesterolu, LDL cholesterolu, lipoproteinu (a) a TG (47, 48). Efekt na ovlivnění hladiny HDL cholesterolu se v různých studiích liší. Zdá se, že ztužené tuky hladinu HDL cholesterolu snižují, zatímco TFA ze živočišných zdrojů hladinu zvyšují (49). Mechanismus účinku TFA na ovlivnění hladiny cholesterolu není zcela jasný. Pravděpodobně se jedná o ovlivnění aktivity Acyl-CoA cholesterol acyl transferázy (ACAT) a ovlivnění syntézy apolipoproteinu B<sub>100</sub> (ApoB<sub>100</sub>) (50). Nedávná studie sledovala i vliv příjmu TFA na inzulínovou senzitivitu. U zvířat vedly TFA k porušení fluidity buněčných membrán a citlivosti k inzulínu, ale také k downregulaci PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator activated receptors) v tukové tkáni. Studie u lidí však podobný výsledek nepotvrdila, takže efekt TFA na inzulínovou senzitivitu není zcela jasný (51, 52). TFA mohou také mít prostřednictvím ovlivnění syntézy eikosanoidů vliv na trombogenezi (53). Příjem TFA je také asociován s biomarkery systémového zánětu a endoteliální dysfunkce (54, 55).

## 2.5 Konjugované mastné kyseliny

Nejčastěji se vyskytující konjugovanou FA je skupina pozičních a geometrických izomerů konjugovaných derivátů kyseliny linolové (CLA). Je produkována podobně jako TFA v zažívacím traktu přežvýkavců bakteriemi, které izomerizují linolovou kyselinu (LA) na CLA. Navíc jsou přežvýkavci schopni i endogenní syntézy CLA cestou  $\Delta^9$ -desaturace kyseliny trans-vakcenové (56). Hlavními zdroji CLA jsou mléko a mléčné produkty a hovězí maso (57). Ve studiích na zvířatech byl pozorován antiobezitický, antiaterogenní a antidiabetický efekt. Výsledky studií sledujících efekt podávání CLA u lidí jsou však nejednoznačné (58).

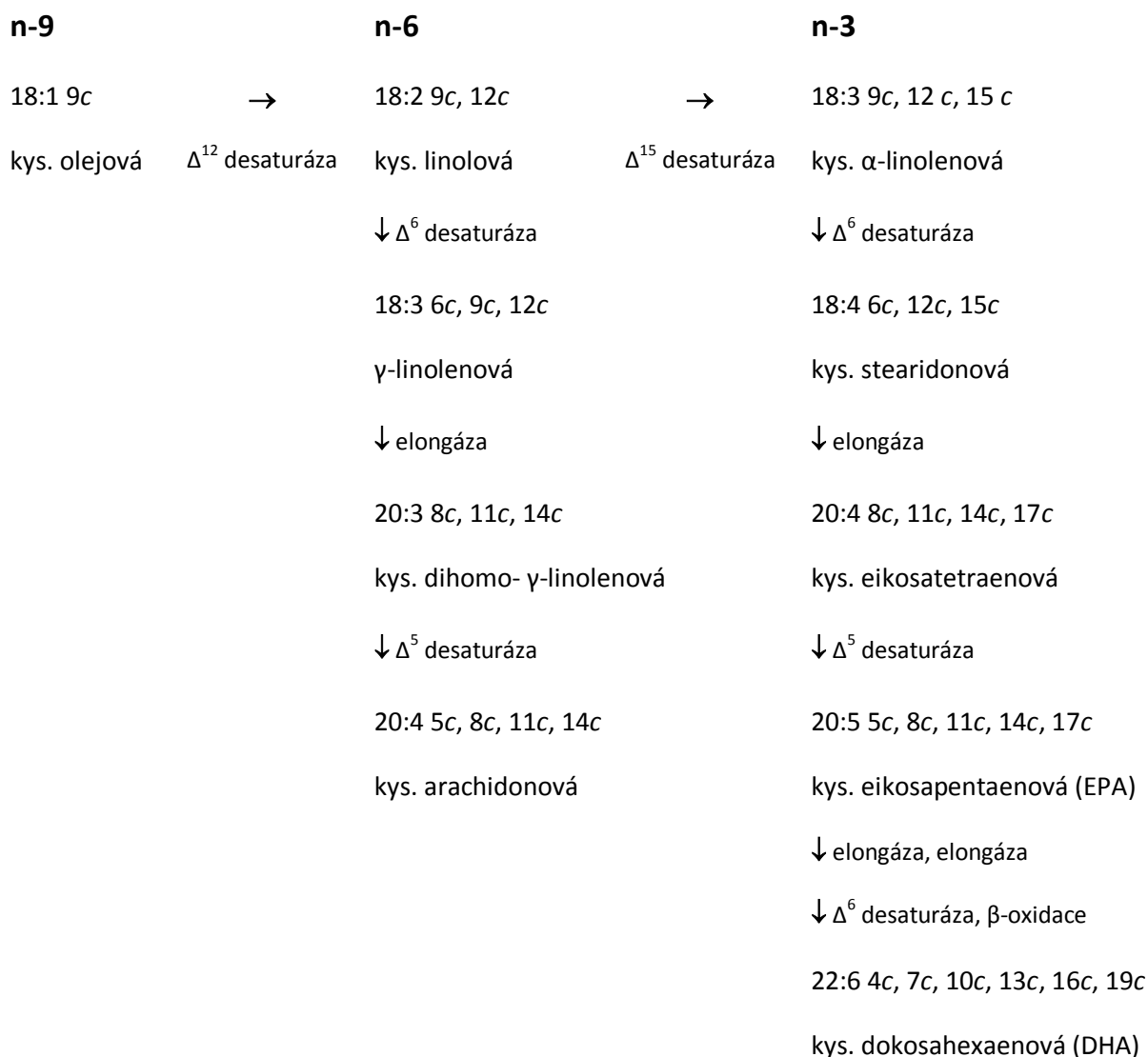
## 2.6 Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA)

Tyto FA se vyznačují přítomností dvou a více dvojných vazeb ve svém řetězci. Člověk je schopen syntetizovat pouze PUFA řady n-9. Rostliny mají navíc schopnost vytvářet dvojně vazby i na pozici  $\Delta^{12}$  a  $\Delta^{15}$  kyseliny olejové, a tím vytvářet FA řady n-6 a n-3. Protože není člověk schopen tyto FA sám vytvářet, jsou pro něj a ostatní savce esenciální. Ryby a rybí olej tvoří bohatý zdroj PUFA řady n-3, zejména kyseliny eikosapentaenové (EPA) a dokosahexaenové kyseliny (DHA), které se nacházejí v



tučných rybách a vodních řasách. Kyselina  $\alpha$ -linolenová (18:3 n-3, ALA) patří mezi PUFA řady n-3, jejím zdrojem jsou semena a oleje, zelená listová zelenina, sója, fazole a ořechy. Kyselina linolová (18:2 n-6), PUFA řady n-6, je přítomna v obilí, mase a semenech většiny rostlin.

**Obrázek 1: Rozdělení a syntéza jednotlivých PUFA**



Esenciální FA a jejich metabolity ovlivňují hladiny lipoproteinů, fluiditu membrán, funkci řady enzymů a receptorů, jsou prekurzory prostaglandinů a eikosanoidů. Jsou důležité pro správnou funkci centrální nervové soustavy (CNS), sítnice, jater, ledvin, nadledvin a pohlavních žláz. Mezi pozitivní efekty PUFA řady n-3 patří snížení TG v krvi, pokles krevního tlaku, protizánětlivé působení, ovlivnění autonomních funkcí, vazodilatační

efekt, snížení agregace krevních destiček, stabilizace plátů a antiarytmické působení (59). V souhrnu se tedy jedná o protektivní účinky na kardiovaskulární systém.

Obsah EPA a DHA, je nejvyšší u mořských živočichů, kteří mají výrazně efektivnější přeměnu ALA na její metabolity. Přítomnost více dvojných vazeb v PUFA je ovšem spojena s jejich větší náchylností k lipoperoxidaci. Nestabilita PUFA vůči vysokým teplotám během přípravy pokrmů vede k jejich hydrogenaci se vznikem cyklických a TFA (60).

## **2.7 Biologické funkce mastných kyselin**

### **2.7.1 Ovlivnění buněčné membrány**

Fluidita buněčné membrány je závislá na jejím lipidovém složení. Zvýšené zastoupení SFA a cholesterolu vede k větší rigiditě buněčné membrány, zatímco větší zastoupení PUFA zvyšuje její fluiditu (61). Tento efekt PUFA ovlivňuje i aktivitu řady receptorů a jejich afinitu k substrátu, ale i intracelulární regulaci transkripce genů (62). Fluidita membrány se ukazuje i jako významný faktor v citlivosti buněk k inzulínu. Mírné zvýšení fluidity membrány vedlo ke zvýšenému transportu glukózy. Naopak, pokud došlo ke snížení fluidity, došlo k poklesu inzulínových receptorů na membráně buňky a inzulínem stimulovaný transport glukózy se snížil (63, 64).

### **2.7.2 Ovlivnění genové exprese**

Typ a množství přijímaných FA potravou má vliv i na lipidový metabolismus a expresi řady genů v jaterních buňkách (65). Jedná se zejména o řízení procesů glykolýzy, syntézy FA *de novo*, elongaci, desaturaci a oxidaci FA (60, 66). Tento vliv je výrazný zejména u PUFA řady n-6 i n-3, a z nich zejména DHA a EPA, efekt ALA na genovou expresi v játrech je slabý (67). Cílem pro účinek FA jsou jaderné receptory: PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\delta$ , PPAR- $\gamma$ , SREBP-1c (sterol regulatory element binding proteins), LXR (liver X receptor), RXR (retinoid X receptor), ChREBP (carbohydrate response element-binding protein). Ovlivnění těchto receptorů FA je způsobeno dvěma hlavními mechanismy. Volné FA se váží na specifické jaderné receptory a fungují jako hydrofobní hormony. Takto dochází k regulaci PPAR ( $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ), RXR $\alpha$  a LXR $\alpha$ . Druhým mechanismem je ovlivnění množství jaderných receptorů např. změnou úrovně transkripce a posttranslačních úprav receptoru (SREBP-1c, ChREBP) (65, 67, 68).

### 2.7.3 Sterol regulatory element binding proteins (SREBP)

SREBP tvoří rodinu proteinů ovlivňujících syntézu lipidů. Podílejí se na aktivaci exprese více než 30 genů zahrnutých v procesu syntézy a vychytávání cholesterolu, FA, TG a fosfolipidů a produkci NADPH nutného pro jejich syntézu (69). SREBP je syntetizován v endoplazmatickém retikulu (ER) a ve své neaktivní formě lokalizován na membráně ER. Existují tři isoformy: SREBP-1a, SREBP-1c a SREBP-2. Gen pro SREBP-2 je lokalizován na chromosomu 22q13. SREBP-1a a SREBP-1c jsou kódovány jedním genem lokalizovaným na chromosomu 17p11.2. Obě formy SREBP-1 se odlišují rozdílným místem začátku transkripce (70, 71). SREBP-2 se uplatňuje v řízení syntézy cholesterolu ovlivněním aktivity klíčových enzymů. Jedná se o 3-hydroxy-3-metylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) syntázu, HMG-CoA reduktázu, farnesyl difosfát syntázu a squalen syntázu (68, 69). SREBP-1a ovlivňuje syntézu jak FA tak i cholesterolu. Je pravděpodobně trvale v malém množství produkován v játrech a buňkách dalších tkání (72). Ve vysoké míře je exprimován v rostoucích buňkách, podílí se na řízení buněčného cyklu a může mít i vliv na proliferaci nádorových buněk (73, 74). Jeho správná funkce, spolu s SREBP-2, je také nutná pro normální embryogenezi (69). SREBP-1c se významně podílí na regulaci syntézy FA *de novo*. Ovlivňuje produkci enzymů ATP citrát lyázy, acetyl-CoA karboxylázy a FAS. Dále ovlivňuje i gen kódující elongázu FA, která katalyzuje prodloužení řetězců FA s 12, 14 a 16 uhlíky (75) a glycerol-3-fosfát acyltransferázu, který kóduje syntézu TG a fosfolipidů (76).

Regulace aktivity SREBP se děje na úrovni transkripce genu a posttranskripčních úprav proteinu. Posttranskripční regulace je zodpovědná za zprostředkování vlastního účinku SREBP. V klidovém stavu je SREBP vázán na stěnu ER. Pro jeho aktivaci je nutná spolupráce dalších dvou proteinů, SCAP (SREBP cleavage-activating protein) a INSIG (insulin-induced gene). V organismu se INSIG vyskytuje ve dvou formách (INSIG1 a INSIG2), kódovaných dvěma rozdílnými geny. INSIG je ukotven do membrány ER a v klidovém stavu udržuje komplex SREBP/SCAP v ER (77, 78). SCAP funguje jako senzor reagující na hladinu cholesterolu v ER. Při poklesu hladiny cholesterolu dojde ke konformační změně SCAP a uvolnění komplexu SREBP/SCAP od proteinu INSIG a jeho translokaci do Golgiho systému. Aktivitou proteázy S1P a S2P dojde k uvolnění SREBP od membrány a ke zprostředkování jeho vlastního účinku v buněčném jádře. Účinkem SREBP v jádře dochází jednak ke zvýšení produkce enzymů nutných pro syntézu

cholesterolu a FA, ale také ke zvýšení transkripce INSIG1 mRNA (mediátorové ribonukleové kyselině) a k obnovení stabilního komplexu INSIG1/SREBP/SCAP (69, 79). Pokles hladiny cholesterolu v ER je spouštěcím faktorem pro aktivaci dvou isoform, SREBP-2 a SREBP-1a (77). Aktivace třetí isoformy, SREBP-1c je regulována inzulínem, glukagonem a LXR $\alpha$  (69).

Produkce INSIG1 mRNA je regulována aktivitou SREBP v buněčném jádře. Při poklesu intracelulární hladiny cholesterolu dojde k rychlé aktivaci SREBP, který svým účinkem v buněčném jádře zvýší produkci INSIG1 mRNA. Tím je zajištěna citlivost buňky k inhibici tvorby cholesterolu, pokud jeho hladina stoupne (80). V mechanismu regulace exprese se výrazně odlišují obě formy INSIG. Zatímco produkce INSIG1 je řízena prostřednictvím SREBP a hladinou cholesterolu, INSIG2 je exprimován v nízké, ale významné hladině bez ohledu na působení SREBP. Pokud je aktivita SREBP v buněčném jádře nízká, je INSIG2 jedinou formou INSIG přítomnou v buňce (81). Produkce INSIG1 mRNA je výrazně indukována inzulínem prostřednictvím SREBP-1c. Naopak produkce mRNA kódující INSIG2 protein v játrech je působením inzulínu potlačena (82).

Aktivita SREBP-1c není ovlivněna, na rozdíl od ostatních forem, hladinou cholesterolu, ale zejména hladinou inzulínu. V buněčné kultuře krysích hepatocytů vedl účinek inzulínu k rychlému vzestupu hladiny SREBP-1c. Mechanismus tohoto účinku však není zcela zřejmý. Pravděpodobně se na něm podílí i urychlení posttranslačních úprav SREBP-1c. Dalším možným mechanismem vedoucím k aktivaci SREBP1c je downregulace INSIG2 mRNA účinkem inzulínu (83). Touto downregulací je oslabena vazba komplexu SCAP/SREBP-1c v ER a usnadněna jeho migrace do Golgiho systému (84). Ovlivněním aktivity SREBP-1c inzulínem může být tedy vysvětlen jeho stimulační účinek na FAS v játrech. Naopak účinek glukagonu zprostředkovaný zvýšením hladiny cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) vede k poklesu hladiny SREBP-1c mRNA. Studie Shimomury et al. ukazuje, že glukagon blokuje efekt inzulínu na transkripci SREBP1c (85). In vivo je celkové množství SREBP-1c v játrech a tukové tkáni nízké během hladovění, což je dáno nízkou hladinou inzulínu a vyšší hladinou glukagonu, naopak postprandiálně hladina SREBP-1c stoupá (86). SREBP-1c se také pravděpodobně významně uplatňuje v řízení jaterního metabolismu glukózy s účinkem obdobným jako inzulín. Při nedostatku inzulínu u diabetu 1. typu, nebo v případě diabetu 2. typu v důsledku inzulínové rezistence je nízká exprese a aktivita glukokinázy (GK) v játrech,

kteřá tak nejsou schopna glukózu metabolizovat (87). Naopak exprese fosfoenolpyruvát karboxylázy (PEPCK) je zvýšena, což vede k vzestupu produkce glukózy a zhoršení diabetu (88). Ve studii Bécarda et al. vedla stimulace exprese SREBP-1c v játrech myší s diabetem k indukci GK a expresi lipogenních genů. Naopak snížením exprese PEPCK došlo k výraznému poklesu hyperglykémie (89).

#### **2.7.4 Liver X receptor (LXR)**

LXR je jaderný receptor patřící do skupiny transkripčních faktorů. LXR se podílí na regulaci metabolismu cholesterolu, řídí expresi klíčových genů odpovědných za zvýšený transport a katabolismus cholesterolu. Jsou známy dva typy LXR. LXR $\alpha$  je vysoce exprimován v játrech, tenkém střevě, ledvinách a tukové tkáni. LXR $\beta$  je exprimován prakticky ve všech tkáních (90). Ligandy pro LXR jsou přirozeně se vyskytující oxysteroly, intermediální produkty syntézy cholesterolu (91, 92). Nejvýznamnějšími ligandy jsou v játrech 24(S), 25-epoxycholesterol, v nadledvinách 22(R)-hydroxycholesterol a 24(S)-hydroxycholesterol v mozku. Byly popsány i některé nesteroidní ligandy LXR. Ve studiích u myší byla potvrzena funkce LXR $\alpha$  jako významného senzoru reagujícího na příjem cholesterolu ve stravě a aktivátoru tvorby žlučových kyselin (93). Oxysteroly odvozené z cholesterolu aktivují LXR a spouští expresi SREBP-1c genu. LXR dále zvyšuje aktivitu cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylázy v játrech (94) a stimuluje expresi transportéru ABCA1 (ATP-binding cassette transporter-1) v enterocytech (95). Tím se podílí na regulaci intracelulární hladiny volného cholesterolu prostřednictvím zvýšeného vylučování cholesterolu z organismu ve formě žlučových kyselin, efluxem z buněk a zvýšením esterifikace cholesterolu (91). Aktivace SREBP-1c prostřednictvím LXR vede v případě vysoké hladiny sterolů v buňkách k indukci syntézy kyseliny olejové. Ta je preferovanou FA pro tvorbu esterů cholesterolu, které jsou nutné pro další transport nebo skladování cholesterolu (91). Dalším cílovým genem ovlivněným aktivitou SREBP-1c je stearoyl CoA desaturáza-1 (96). Tento enzym je zodpovědný za  $\Delta$ 9-cis desaturaci stearoyl-CoA a palmitoyl-CoA za vzniku oleoyl-CoA a palmitoleoyl-CoA. Oleoyl-CoA je preferovaným substrátem pro esterifikaci cholesterolu účinkem acyl-CoA cholesterolacyltransferázy. Aktivace LXR vyšší hladinou cholesterolu tedy také nepřímou zvyšuje esterifikaci volného cholesterolu, a tím chrání buňku před jeho škodlivým působením. Navíc zvýšení syntézy FA udržuje vhodný poměr mezi cholesterolem a ostatními lipidy k zajištění integrity buněčné membrány (91).

LXR zprostředkovaná regulace exprese SREBP-1c může být také jedním z mechanismů, kterým nenasycené FA snižují transkripci SREBP-1c a tím syntézu FA *de novo*. U hlodavců krmených dietou obohacenou o PUFA došlo k redukci exprese SREBP-1c mRNA a byla u nich nalezena nízká úroveň lipogeneze v játrech (97, 98). Nenasycené FA kompetitivně blokují aktivaci exprese SREBP1c svým antagonistickým účinkem na endogenní ligandy LXR (99). Dále se zdá, že nenasycené FA také zvyšují rychlost degradace SREBP-1 mRNA. Tento efekt PUFA je výraznější u SREBP-1c než u SREBP-1a (100).

### 2.7.5 Carbohydrate response element-binding protein (ChREBP)

Aktivita SREBP-1c a LXR však není plně zodpovědná za stimulaci exprese lipogenních genů v závislosti na příjmu sacharidů. Delece SREBP-1c genu u myší vedla pouze k asi 50 % redukci aktivity FAS (101). Zároveň samotné ovlivnění exprese SREBP1c nevysvětluje zprostředkování účinku inzulínu a glukózy na expresi genů zapojených do procesu glykolýzy a lipogeneze (78). Pouze GK, první enzym v procesu glykolýzy, je řízena jen prostřednictvím SREBP-1c (102), zatímco lipogenní geny, FAS a acetyl-CoA karboxyláza (ACC), vyžadují aktivitu jak SREBP-1c, tak ChREBP (78, 103). ChREBP hraje klíčovou roli ve zprostředkování účinku glukózy na glykolytické a lipogenní geny, zejména L-pyruvát kinázu (L-PK) a FAS (104). ChREBP je přítomný ve všech tkáních, ale v nadbytku je v lipogenních orgánech – játrech, tukové tkáni, tenkém střevu a svalech (105). Jeho stimulace glukózou probíhá ve dvou krocích. ChREBP je přítomen v neaktivní formě P1, P3-ChREBP v cytoplasmě buněk. Prvním krokem je glukózou aktivovaná defosforylace ChREBP v místě P1 a tím umožnění jeho přesunu do buněčného jádra. V buněčném jádře proběhne druhá defosforylace v místě P3 a tím je umožněna jeho vazba na deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) a aktivace transkripce glykolytických a lipogenních genů (106). Proces defosforylace ChREBP je indukovaný glukózou, která je cestou pentózofosfátové dráhy přeměněna na xylulózu-5-fosfát. Ta následně aktivuje proteinfosfatázu 2A $\delta$ , která je zodpovědná za vlastní defosforylaci ChREBP (107). Během lačnění dochází k poklesu plasmatické hladiny glukózy a k vzestupu hladiny glukagonu a adrenalinu v plasmě. Glukagon i adrenalin zvyšují intracelulární hladinu cAMP, a tím aktivují cAMP dependentní protein kinázu. Fosforylace ChREBP v místě serinového zbytku 196 vede k zabránění translokace ChREBP z cytoplasmy do jádra, fosforylace threoninového zbytku 666 blokuje vazbu ChREBP na DNA. Obdobně i

zvýšená intracelulární koncentrace AMP inhibuje aktivitu ChREBP prostřednictvím působení AMP aktivované protein kinázy (106). Vedle tohoto mechanismu ovlivnění ChREBP cestou jeho fosforylace a defosforylace může být ChREBP aktivován i prostřednictvím části své molekuly přímo citlivé na hladinu glukózy (108).

### **2.7.6 Vliv PUFA na genovou expresi**

Hladovění, diabetes nebo vyšší příjem PUFA snižuje množství SREBP-1c v játrech. Naopak vyšší příjem sacharidů nebo podání inzulínu množství SREBP-1c zvyšuje (100, 86, 109). Změny v množství SREBP-1c mRNA v játrech, a zejména preproteinu SREBP-1c spojené s příjmem sacharidů, diabetem, hladověním nebo podáním inzulínu odráží úroveň transkripce SREBP-1c genu (109, 110). Příjem PUFA řady n-6 a n-3 v dietě snižuje hladinu TG v krvi a velikost lipidových kapének ve svazech, zlepšuje inzulínovou senzitivitu a zvyšuje využití glukózy v mimojaterních tkáních (111, 112, 113). Mechanismus účinku PUFA je dvojitý. Prvním mechanismem je indukce transkripce genů, které jsou důležité pro oxidaci lipidů. Jedná se zejména o karnitin palmitoyltransferázu (114) a acyl-CoA oxidázu (115). Tento účinek PUFA je zprostředkován zejména prostřednictvím aktivace PPAR- $\alpha$  (116). Druhým mechanismem je inhibice exprese genů, které kódují proteiny nutné pro syntézu lipidů - FAS a ACC. Tato inhibice je způsobena koordinovaným inhibičním účinkem PUFA na transkripci lipogenních genů v játrech prostřednictvím inhibice aktivity SREBP-1 (67, 97).

Přestože SREBP-1c je místem hlavního účinku PUFA v játrech, nelze jejich účinkem na supresi SREBP-1c vysvětlit inhibici glykolýzy. Ta je způsobena inhibicí L-PK, která však není cílovým genem pro SREBP-1c. Ukazuje se, že část účinku PUFA na metabolismus sacharidů a lipidů by mohl být zprostředkován snížením exprese ChREBP genu a urychlením rozpadu ChREBP mRNA, tedy podobným způsobem jako u SREBP-1c. Kromě snížení množství ChREBP se PUFA uplatňují i v omezení translokace ChREBP z cytoplasmy do buněčného jádra. Navíc účinek PUFA na SREBP-1c vede k poklesu aktivity GK, klíčového enzymu glykolýzy. PUFA snižují i aktivitu glukóza-6-fosfát dehydrogenázy (117) důležité pro funkci pentózafosfátové dráhy. Snížením aktivity těchto dvou klíčových enzymů pro tvorbu xylulózy-5-fosfátu dochází k inhibici translokace ChREBP z cytoplasmy do jádra buňky. Tento efekt nebyl pozorován v případě vyššího příjmu SFA nebo MUFA (118). Společná inhibice SREBP-1c a ChREBP

navozená příjmem PUFA v dietě tedy poskytuje vysvětlení pro přesmyk lipidového metabolismu v játrech ze syntézy a skladování lipidů k jejich oxidaci.

### **2.7.7 Peroxisome proliferator activated receptors (PPAR)**

Jak již bylo zmíněno výše, na účinku PUFA na ovlivnění oxidace FA se podílí zejména jejich vliv na PPAR- $\alpha$  v játrech. PPAR patří mezi jaderné receptory. Jsou známy tři isoformy, PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\beta$  (také označovaný jako PPAR- $\delta$ ) a PPAR- $\gamma$ . Tyto jaderné receptory vykazují rozdílnou tkáňovou distribuci a funkci. PPAR- $\alpha$  je predominantní isoformou v játrech a je spojen s regulací lipidového metabolismu. Ovlivňuje expresi řady genů, které hrají klíčovou úlohu ve vychytávání, aktivaci, oxidaci a esterifikaci FA. PPAR- $\gamma$  je převážně exprimován v tukové tkáni, kde podporuje ukládání tuků. Zároveň má i vliv na vývoj, proliferaci a diferenciaci adipocytů a indukuje adipogenezi (119). Přestože je za normálních okolností jeho hladina v játrech nízká, hraje klíčovou úlohu v rozvoji jaterní steatózy (120). Nedávno byl popsán i jeho vliv na diferenciaci osteoklastů a zvýšenou kostní resorpci (121). Třetí isoforma - PPAR- $\beta/\delta$  se vyskytuje ve všech tkáních a zasahuje do řady procesů zahrnujících regulaci energetické homeostázy, termogeneze, proliferaci keratocytů a sehrává úlohu i v procesu hojení ran (122). V lipidovém metabolismu se uplatňuje jejich vliv na  $\beta$ -oxidaci FA ve svalech, reverzní transport cholesterolu, klonální expanzi preadipocytů a lipoproteinovou homeostázu (123, 124, 125).

Aktivace PPAR- $\alpha$  je spojena se zvýšením transkripce velkého množství genů, kódujících proteiny spojené s oxidací FA a lipoproteinovým metabolismem. Patří mezi ně řada enzymů účastnících se oxidace FA, například acyl-CoA syntetáza, acyl-CoA oxidáza, enoyl-CoA hydratáza a acetyl-CoA-acetyltransferáza (126, 127, 128). PPAR- $\alpha$  je také důležitý v mitochondriálním metabolismu FA ovlivněním genu pro karnitin palmitoyl transferázu 1, která katalyzuje vstup FA s dlouhým řetězcem do mitochondrií. Další cílové geny PPAR- $\alpha$  kódují LPL a apolipoproteiny AI, AII a CIII (129). PPAR- $\alpha$  vykazují vysokou afinitu k thioesterům CoA s LCFA o délce řetězce 20-24 uhlíků. Tyto thioestery spolu s větvenými FA jsou mnohem silnějšími ligandy PPAR- $\alpha$  než samotné volné FA. Acyl-CoA syntetáza stimulovaná působením PPAR- $\alpha$  zprostředkovává aktivaci volných LCFA na acyl-CoA, které jsou jednak ligandem pro vlastní PPAR- $\alpha$  a zároveň jsou substrátem pro následnou  $\beta$  oxidaci FA (130). LCFA-CoA a nenasycené volné LCFA tvoří



endogenní ligandy, které se s velkou afinitou váží na PPAR- $\alpha$  (131). Všechny tři subtypy PPAR jsou schopné vázat jak n-3 tak n-6 PUFA, ale zdá se, že největší afinitu mají PPAR- $\alpha$ , následované PPAR- $\gamma$  a PPAR- $\beta$  (132). Navíc se ukazuje, že i široké spektrum eikosanoidů odvozených od n-3 a n-6 PUFA má afinitu dokonce vyšší, než jejich původní PUFA (132). Jako endogenní ligand PPAR- $\alpha$  byl v nedávné době popsán 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycerol-3-fosfatidylcholin. Tento účinek byl ale pozorován pouze v přítomnosti funkční FAS v buňce. Zdá se tedy, že k produkci endogenních ligandů PPAR- $\alpha$  je potřebná FAS, jejíž funkce je však ovlivnitelná potravou (133). Dalším známým přirozeným ligandem PPAR- $\alpha$  je kyselina fytanová. Jedná se o SFA s větveným řetězcem přítomnou ve vysoké koncentraci v mléčných produktech a v tuku přežvýkavců. Má agonistické účinky jak na PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , tak i na RXR (134).

Exprese PPAR- $\alpha$  je také ovlivněna působením glukokortikoidů. Během hladovění, stejně tak jako v ostatních stresových situacích, indukuje adrenokortikotropní hormon (ACTH) uvolnění glukokortikoidů z nadledvin, které stimulují expresi PPAR- $\alpha$  v játrech. Navíc exprese PPAR- $\alpha$  v játrech vykazuje diurnální rytmus, který odpovídá změnám hladiny cirkulujícího kortikosteronu. Tento efekt glukokortikoidů se zdá být omezen jen na jaterní tkáň. V CNS, kde jsou také přítomny PPAR- $\alpha$ , nebyl tento účinek pozorován (135). Navíc může vliv glukokortikoidů na expresi PPAR- $\alpha$  hrát důležitou úlohu i v jejich protizánětlivém účinku (136).

Pro vlastní účinek PPAR je nutná jejich heterodimerizace s RXR. Tento PPAR/RXR heterodimer se utváří bez přítomnosti ligandu. Po aktivaci navázáním ligandu se celý komplex PPAR/RXR váže na specifické sekvence DNA, označované jako PPRE (peroxisome proliferator responsive elements). Vazba na PPRE v promotorech genů regulovaných PPAR zprostředkovává signál, který vede k zahájení transkripce těchto genů a tím k aktivaci jejich produktů (122).

Ukazuje se, že PPAR- $\alpha$  hraje klíčovou úlohu v adaptivní odpovědi na lačnění ovlivněním exprese cílových genů. V období lačnění je exprese PPAR- $\alpha$  v játrech značně zvýšená působením zvýšené hladiny FA uvolněných z tukové tkáně, které v játrech fungují jako ligandy PPAR- $\alpha$  (137). Dále se na aktivaci PPAR- $\alpha$  podílí i působení glukokortikoidů (135). Nutriční stav však výrazně neovlivňuje expresi LXR $\alpha$  v játrech. Proto tedy ligandy LXR mohou aktivovat LXR $\alpha$  v játrech a ovlivnit působení PPAR- $\alpha$ /RXR vedoucí ke snížené expresi cílových genů. Vzájemné ovlivňování mezi LXR, PPAR a RXR může být

klíčové pro vzájemnou regulaci účinku LXR a PPAR a tím i nutriční regulace exprese genů. PPAR- $\alpha$  je zapojený v procesu degradace FA a adaptace organismu na nedostatek energie. Zatímco SREBP-1c, jehož exprese je ovlivněna LXR, je zapojen do syntézy FA a jejich ukládání v období nadbytku energie. Tyto protichůdné mechanismy jsou společně regulovány v závislosti na nutričním stavu (138). PUFA mohou přispívat k této reciproční energetické regulaci PPAR- $\alpha$  a SREBP-1c prostřednictvím aktivování PPAR- $\alpha$ , a přímou inhibicí SREBP-1c (139). Zdá se ale, že hlavní účinek vyššího příjmu PUFA je zprostředkován přes inhibici SREBP1c a méně přes aktivaci PPAR- $\alpha$  (140). Zároveň však již samotná zvýšená aktivita PPAR- $\alpha$  suprimuje LXR zprostředkovanou expresi SREBP-1c genu (141).

Gen kódující LPL patří mezi cílové geny PPAR- $\alpha$ . Zvýšením jeho exprese dochází k většímu uvolňování FA z lipoproteinových částic a vychytávání FA buňkami (142). Tento proces je navíc usnadněn stimulací genů, které kódují transportní protein pro FA, translokázu mastných kyselin a jaterní formu FABP (fatty acid binding protein) (143, 144).

### **2.7.8 Ovlivnění metabolismu lipidů a lipoproteinů**

Zvýšená konzumace stravy s vysokým obsahem sacharidů a tuků je jedním z nejvýznamnějších rizikových faktorů pro rozvoj metabolického syndromu. Nadbytečné sacharidy rychle zvyšují hladinu glukózy v séru a stimulují lipogenezi v játrech i v tukové tkáni. Nadbytek tuků vede k jejich akumulaci v těle a přispívá k rozvoji inzulínové rezistence a metabolického syndromu. Příjem PUFA inhibuje lipogenezi v játrech supresí řady jaterních enzymů, podílejících se na glukózovém metabolismu a syntéze FA. Jedná se např. o GK, pyruvát kinázu, glukóza-6-fosfát dehydrogenázu, citrát lyázu, ACC, FAS, stearoyl-CoA desaturázu a  $\Delta$ -6 a  $\Delta$ -5 desaturázu (144, 145).

V komplexním přehledu studií udává Harris efekt PUFA řady n-3 na snížení hladiny TG v séru o 25-30 %, mírné zvýšení LDL cholesterolu o 5-10 % a neutrální účinek na hladinu HDL cholesterolu (146). I nízký příjem PUFA řady n-3 vede k významnému snížení hladiny TG (147). Jejich dlouhodobé podávání navíc snižuje i postprandiální hypertriacylglycerolémii (148). TG jsou syntetizovány v játrech jako reakce na zvýšený vstup glukózy a nesterifikovaných FA do hepatocytů (137, 149). Syntéza TG *de novo* je regulována ovlivněním transkripce genů lipogenních enzymů prostřednictvím SREBP-1c

(149). Glukóza stimuluje SREBP-1c nepřímo tím, že poskytuje substrát pro tvorbu TG, a tím, že zvyšuje uvolňování inzulínu. Z glukózy v procesu glykolýzy vzniká pyruvát, který je následně přeměněn v Krebsově cyklu na citrát. V konečném důsledku je vytvořen acetyl-CoA, primární substrát pro syntézu FA. Zvýšená hladina glukózy v krvi jednak poskytuje dostatek substrátu pro glykolýzu a zároveň vede k vzestupu produkce inzulínu a supresi produkce glukagonu. Hyperinzulinémie stimuluje transkripci SREBP-1c a tím podporuje lipogenezi *de novo*, která je pozitivně ovlivněna i nízkou hladinou glukagonu (150).

PUFA, zejména řady n-3, mají schopnost ovlivňovat jaderné receptory, které regulují hladinu TG, zejména LXR, SREBP-1c a PPAR- $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$  (151). Přestože jsou PUFA řady n-3 silnějšími aktivátory PPAR- $\alpha$  než PUFA řady n-6, nedosahují síly eikosanoidů vzniklých z těchto PUFA anebo oxidovaných FA, které vykazují afinitu k PPAR- $\alpha$  o 1-2 řády vyšší (132). Účinek PUFA na snížení hladiny TG je dán koordinovaným účinkem na: 1) potlačení lipogeneze v játrech prostřednictvím inhibice SREBP-1c; 2) zvýšení oxidace FA v játrech a kosterních svalech aktivací PPAR; 3) zvýšenou přeměnou glukózy na glykogen inhibicí účinku HNF-4 $\alpha$  (hepatocyte nuclear factor-4). Výsledkem těchto mechanismů je snížení tvorby TG a ukládání FA ve prospěch jejich oxidace. Účinek PUFA řady n-3 na snížení množství TG je výraznější než u PUFA řady n-6 (149, 152).

PUFA, na rozdíl od MUFA nebo SFA, snižují produkci SREBP-1c o 60–90 % (152, 153). Tento účinek je dán kompetitivní inhibicí oxysterolů vázajících se na LXR, což vede ke snížení transkripce genu SREBP-1c. Ukazuje se ale, že PUFA mohou inhibovat SREBP-1c i nezávisle na LXR (154). Inhibiční účinky PUFA na HNF-4 $\alpha$  mohou také vysvětlit některé jejich účinky na snížení hladiny TG. Inhibicí HNF-4 $\alpha$  účinkem PUFA ovlivňují i metabolismus sacharidů prostřednictvím snížení aktivity L-pyruvát kinázy a glukóza-6 fosfatázy (149). Tím dojde ke snížení množství pyruvátu a tedy následně citrátu pro tvorbu TG. HNF-4 patří do skupiny steroidních/thyroidálních jaderných receptorů. Je exprimován v játrech, tenkém střevu, ledvinách a v  $\beta$  buňkách pankreatu (155, 156). HNF-4 se váže na specifický úsek DNA a reguluje expresi řady genů podílejících se na metabolismu glukózy, FA a cholesterolu (157, 158). HNF-4 hraje také úlohu v diferenciaci adipocytů (158). Snížení jaterní syntézy TG inhibičním působením n-3 PUFA na SREBP-1c vede v konečném důsledku k výraznému snížení sekrece VLDL.

PUFA řady n-3 však mohou snížit sekreci VLDL i dalším mechanismem. Některé studie naznačují, že se PUFA mohou podílet na zvýšené degradaci ApoB<sub>100</sub> před jejich uvolněním z hepatocytu cestou PERPP (post-ER presecretory proteolysis). ApoB<sub>100</sub> je proteinovou součástí VLDL, LDL, lipoproteinu (a), tedy hlavních aterogenních lipoproteinů uvolňovaných z jater (159). Tvorba VLDL částic se skládá ze dvou kroků. V prvním dochází v ER k přenosu TG aktivitou MTP (microsomal triglyceride transfer protein) na apolipoprotein B (ApoB) v průběhu jeho translace. V druhém kroku dochází ke spojení ApoB s kapénkami TG za vzniku zralé částice VLDL, které jsou následně uvolněny z buňky (160). PUFA řady n-3 (DHA, EPA) stimulují cestou PERPP degradaci ApoB<sub>100</sub>. Tímto dochází ke snížení sekrece lipoproteinů z jaterních buněk (159). Sekrece ApoB<sub>100</sub> na základě působení PERPP může být ovlivněna i jinými metabolickými faktory, jako je zvýšená hladina inzulínu (161), inzulínová rezistence (162) a nedostatek cholinu (163). PUFA řady n-3, ale i n-6 sekreci ApoB<sub>100</sub> snižuje, naopak SFA jejich sekreci zvyšuje a to prostřednictvím ovlivnění aktivity PERPP (164) (165). PUFA podléhají v buňce snadno oxidaci za tvorbu peroxidu vodíku a dalších degradačních produktů (166), zvyšují oxidační stres a dochází k aktivaci některých obranných mechanismů (167). PUFA řady n-3 obsažené v rybím tuku (EPA, DHA) jsou po vstřebání dopraveny do jater (168), kde mohou být snadno oxidovány a tvoří lipoperoxidy a další degradační produkty (169), u kterých se předpokládá škodlivý vliv na tkáň. Játra jsou tedy primárním cílovým orgánem pro působení oxidačního stresu při příjmu PUFA. PUFA jsou aktivátory PPAR- $\alpha$ , a tím i acyl-CoA oxidázy, jejíž aktivitou dochází k vzestupu hladiny peroxidů v buňce (170). Disproporcí mezi zvýšenou tvorbou peroxidů a aktivitou enzymů účastnících se degradace peroxidů (katalázy, glutathionperoxidázy) dochází k navození oxidačního stresu v játrech. Tato zvýšená úroveň lipoperoxidace a oxidační stres aktivuje PERPP, která nakonec vede ke zvýšené degradaci ApoB<sub>100</sub>. Naopak zvýšené podávání antioxidantů, vitamínu E, C a  $\beta$ -karotenu, vede ke zvýšení hladiny TG, ApoB a LDL cholesterolu, spolu s malým snížením HDL cholesterolu (171).

Rybí tuk bohatý na PUFA řady n-3 snižuje riziko kardiovaskulárních chorob svým účinkem na snížení koncentrace TG v krvi (172). Tento příznivý efekt je dán především vlivem na inhibici lipogeneze supresí SREBP-1 a stimulací oxidace FA aktivací PPAR- $\alpha$  v játrech. U krys vede suplementace n-3 PUFA k signifikantnímu snížení množství tukové tkáně a redukci hladiny TG. Zároveň se zvyšuje i úroveň hormonu stimulované lipolýzy (173). U lidí se zdá účinek PUFA řady n-3 na degradaci ApoB<sub>100</sub> v játrech a produkci

VLDL méně významný. Klinické studie prokázaly pouze mírné snížení hladin ApoB<sub>100</sub> v souvislosti s vysokým příjmem PUFA řady n-3 (174, 175). Snížení sekrece VLDL má efekt i na hladinu chylomikronů a postprandiální lipidémii snížením kompetice mezi VLDL a chylomikrony při jejich hydrolýze. PUFA řady n-3 také zmenšují velikost chylomikronových částic a usnadňují jejich clearance (148).

### 2.7.9 Ovlivnění inzulínové sekrece

Pro správnou funkci  $\beta$ -buněk je důležitá řada faktorů, jako je poměr ATP/ADP, IRS-2/Akt inzulínová signalizace a granuphilin. Funkce těchto faktorů je narušená působením palmitátu a zlepšená po přidání EPA (176). Tento proces byl zprostředkován vlivem SREBP-1c a UCP-2 (uncoupling protein). Současné studie ukazují, že aktivace SREBP-1c v  $\beta$ -buňkách vede k rozvoji porušené glukózové tolerance v důsledku zhoršené sekrece inzulínu (177, 178). Zdá se, že k vlastnímu poškození sekrece inzulínu dochází lipotoxickým působením vyšších hladin FA a TG (179). Právě pro obezitu typická zvýšená hladina volných FA může vést k aktivaci UCP-2, a ty tedy mohou hrát důležitou úlohu v rozvoji dysfunkce  $\beta$ -buněk (180). Zvýšené hladiny volných FA a TG jsou považovány za jeden z faktorů vedoucí k lipotoxickému poškození  $\beta$ -buněk (181, 182). Ukazuje se však, že i bez zvýšené hladiny volných FA může vést vystupňovaná lipogeneze způsobená aktivací SREBP-1c k poškození sekrece inzulínu a rozvoji diabetu (176, 183).

Sekrece inzulínu je také negativně ovlivněna aktivitou UCP-2 (181, 184). UCP-2 je exprimován v různé intenzitě v řadě tkání včetně  $\beta$ -buněk pankreatu. Zvýšená glykémie vede v  $\beta$ -buňkách pankreatu ke zvýšení poměru ATP/ADP, což způsobí uzavření ATP-senzitivních draslíkových kanálů. Následná depolarizace membrány a vstup  $\text{Ca}^{2+}$  iontů do buňky stimuluje uvolnění inzulínu (185, 186). Vzestup poměru mezi ATP a ADP může také navodit sekreci inzulínu mechanismem nezávislým na změně membránového potenciálu (187). Aktivita UCP-2 vede k úniku protonů přes vnitřní mitochondriální membránu, což má negativní vliv na tvorbu ATP v  $\beta$ -buňkách, a tedy i na sekreci inzulínu. Nižší produkce ATP v  $\beta$ -buňkách pankreatu navozená aktivitou UCP-2 snižuje poměr mezi ATP a ADP a tlumí glukózou navozenou sekreci inzulínu (184).

Kyselina palmitová vede k upregulaci UCP-2 v  $\beta$ -buňkách s následným snížením intracelulární koncentrace ATP (176). Aktivita UCP-2 je také zvyšována působením

SREBP, které se může přímo vázat na UCP-2 a aktivovat ho (188). SREBP-1c se také podílí na porušené sekreci inzulínu z  $\beta$ -buněk inhibicí inzulínové signalizace zprostředkované IRS-2 (insulin receptor substrate) (189). Další faktor ovlivněný aktivitou SREBP je granufilin, který tvoří součást sekrečních granul v  $\beta$ -buňkách (190).

Je prokázáno, že dlouhodobé vystavení  $\beta$ -buněk pankreatu vyšším hladinám kyseliny palmitové a dalších LCFA působí lipotoxicky a vede k jejich poškození (191, 192). EPA a další PUFA řady n-3 tedy mohou svým účinkem na aktivitu SREBP-1c, UCP-2 a inzulínovou signalizaci přispět k ochraně  $\beta$ -buněk pankreatu před lipotoxicitou (176).

## **2.8 Ovlivnění metabolického syndromu mastnými kyselinami**

Metabolický syndrom je podle nové definice National Cholesterol Education Program - Adult Panel Treatment III z roku 2005 definován přítomností abdominální obezity (obvod pasu více než 94 cm u mužů a 80 cm u žen) a minimálně dvěma ze čtyř následujících parametrů: hypertriacylglycerolémie ( $> 1,7$  mmol / l), nízká hladina HDL cholesterolu ( $< 0,9$  mmol / l u mužů a  $< 1,1$  mmol / l u žen), zvýšený krevní tlak (130/85 mm Hg) a hladina glukózy v plazmě vyšší než 5,6 mmol / l nebo glykémie ve 120. minutě oGTT 7,8 – 11,8 mmol/l (193).

Tento soubor rizikových faktorů může být významným prediktorem kardiovaskulárních rizik (193). Ostatní klasické kardiovaskulární rizikové faktory, jako je hladina celkového cholesterolu a LDL cholesterolu v plazmě, nejsou zahrnuty mezi složky metabolického syndromu. Řada složek metabolického syndromu může být zlepšena dietními opatřeními, včetně zvýšeného příjmu PUFA řady n-3. Nejčastěji je popisován pozitivní efekt zvýšeného příjmu PUFA řady n-3 na významné snížení plazmatických hladiny TG a volných FA nalačno a postprandiálně (194). Tento účinek byl pozorován jak u samotné EPA a DHA, tak i při suplementaci rybím olejem (195).

Mechanismy, které jsou zodpovědné za vznik metabolického syndromu, nejsou zcela známé. Vždy se však jedná o kombinaci genetických faktorů spolu s faktory zevního prostředí. Není stále zřejmé, zda je vyvolávající příčinou rozvoje metabolického syndromu inzulínová rezistence, která nakonec vede k poruše metabolismu glukózy a dyslipidémii, nebo zda naopak změna v hladinách lipidů vyvolá rezistenci vůči působení inzulínu s následnou poruchou metabolismu glukózy (196).

Metabolický syndrom je často spojen s narušením řady fyziologických pochodů a to v různém pořadí a v různé míře závažnosti. Jedná se o poruchy glukózového metabolismu, poruchy utilizace a tvorby lipidů, zvýšený tonus sympatiku a hypertenzi, ektopické ukládání tuku do jater a svalů, prokoagulační a prozánětlivý stav.

Metabolismus cholesterolu je ovlivňován tělesnou hmotností, jak ukázala studie u osob s diabetem 2. typu (197). U této skupiny vedlo zvýšení indexu tělesné hmotnosti doprovázené často vyššími sérovými hladinami glukózy nebo inzulínu ke zvýšení úrovně syntézy cholesterolu a jeho obratu. Toto zvýšení bylo spojeno s kompenzačními mechanismy, jako je zvýšená tvorba žlučových kyselin, eliminace cholesterolu do žluče a jeho menší absorpce ve střevě (197).

Vysoká lipolytická aktivita ve viscerální tukové tkáni zvyšuje dostupnost volných FA pro játra, zvýšená hladina inzulínu při hyperglykémii stimuluje lipogenezi a vysokou aktivitu LPL v tukové tkáni. Narušená oxidace FA v játrech je spojena s jejich větší reesterifikací na TG. Toto, dohromady spolu se zvýšenou syntézou apoB<sub>100</sub> a cholesterolu, vede ke zvýšené tvorbě a sekreci VLDL a k vysoké míře jejich konverze na LDL a IDL (112). Zvýšená koncentrace na TG bohatých lipoproteinových částic stimuluje aktivitu CETP (cholesterol ester transfer protein), který zprostředkuje výměnu TG za estery cholesterolu, což nakonec vede ke vzniku malých denzních LDL částic (198).

Zvýšený příjem PUFA řady n-3 pozitivně upravuje řadu nežádoucích změn v lipidovém metabolismu vznikajících v souvislosti s metabolickým syndromem (112). Zvýšený příjem EPA a DHA jak samotných, tak i ve vzájemné kombinaci v rybím tuku, výrazně snižuje hladiny TG a volných FA v séru jak nalačno, tak postprandiálně (195, 199). Suprese lipogenních genů a indukce genů zapojených do oxidace FA navozená působením PUFA řady n-3 snižuje produkci VLDL v játrech a uvolňování volných FA z tukové tkáně (200, 116). Regulace genové exprese je zprostředkována především přes SREBP-1 a PPAR (201).

PUFA řady n-3 ovlivňují genovou transkripci HNF-4 $\alpha$ , LXR, PPAR a SREBP-1, který je hlavním genetickým vypínačem ovládajícím lipogenezi. Svým působením na každý z těchto receptorů jsou schopné plynule regulovat hladinu TG (152, 67). Výsledným efektem působení PUFA řady n-3 na metabolismus TG je redukce hladiny TG v důsledku poklesu sekrece VLDL částic z jater a zvýšení degradace ApoB v játrech (150).

Ve studii Parka a Harrise srovnávali u 33 zdravých osob vliv suplementace světlicovým olejem (zdroj PUFA řady n-6), EPA nebo DHA v dávce 4 g / den po dobu 4 týdnů. Obě PUFA řady n-3 vedly, na rozdíl od světlicového oleje, ke stejnému poklesu postprandilání hladiny TG a apolipoproteinu B<sub>48</sub> (ApoB<sub>48</sub>) a ApoB<sub>100</sub>. Pouze suplementace PUFA vedla ke zkrácení biologického poločasu chylomiker a zvýšení heparinem neindukované aktivity LPL. Efekt PUFA řady n-3 na snížení postprandiální hladiny TG v plazmě je zprostředkován zvýšenou clearance chylomiker v důsledku zvýšené aktivity LPL (148).

Změny indukované PUFA řady n-3 mohou mít i efekt na snížení ektopického ukládání tuku a s ním související lipotoxické poškození orgánů (202). Dalšími prokázanými výhodami PUFA řady n-3 je snížení prozánětlivého stavu, snížení aktivace krevních destiček, mírné snížení krevního tlaku, zlepšení endoteliální funkce a zvýšení buněčné antioxidační kapacity (203).

U části pacientů se smíšenou hyperlipidémií může přidání PUFA řady n-3 mít aditivní účinek s hypolipidemickou léčbou. Ve studii Chana et al., která sledovala změny v hladině ApoB u obézních osob s inzulinovou rezistencí při užívání PUFA řady n-3, atorvastatinu v dávce 40 mg a nebo jejich vzájemné kombinace, vedlo užívání kombinace atorvastatinu s PUFA řady n-3 k vzestupu jaterní clearance ApoB lipoproteinů a k poklesu sekrece VLDL-ApoB z jater (204).

Výsledky studií poskytují přesvědčivý důkaz o tom, že EPA a DHA jsou stejně účinné při snižování hladiny sérových TG, ale pouze DHA je schopna zvýšit hladinu HDL cholesterolu a velikost LDL částic (112).

Epidemiologické studie zaměřené na příjem PUFA přinášejí rozporuplné výsledky. Některé studie uvádějí snížení celkového cholesterolu a LDL cholesterolu jen u žen (205), jiné pouze u mužů (206). Naopak, výsledky experimentálních studií se suplementací rybím olejem nezjistily žádnou změnu celkového cholesterolu (207, 208), nebo mírný vzestup LDL cholesterolu s poklesem hladiny celkového cholesterolu (209). Vzestup hladiny LDL cholesterolu by mohl být vysvětlen spíše prospěšným zvětšením LDL částic, než zvýšením jejich počtu. Toto je jedna z možných antiaterogenních vlastností PUFA řady n-3 (210).



V některých studiích, ve kterých byl pozorován vzestup hladiny LDL cholesterolu, bylo popsáno i zvýšení množství ApoB, tedy hlavního apoproteinu v LDL částicích v krvi (211, 212). Pokud byl pozorován pokles hladiny LDL cholesterolu, došlo zároveň i k poklesu ApoB (213, 200).

Účinky PUFA řady n-3 na hladinu TG byly opakovaně zkoumány a byla prokázána negativní korelace mezi příjmem rybího oleje nebo suplement s obsahem PUFA řady n-3 s plazmatickou hladinou TG (214, 215). V šestiměsíční randomizované studii vedl příjem 1,7 g kombinace EPA a DHA denně u 935 hypertriglyceridemických účastníků k významnému poklesu hladiny TG v krvi (216). V účinku EPA a DHA na metabolismus TG jsou však pozorovány rozdíly. Příjem EPA snižuje hladinu TG u hypercholesterolemických (217) a hypertriacylglycerolemických pacientů (218). Ve srovnávací randomizované studii, ve které byla podávána EPA nebo DHA v dávce 3 g/den u 49 normolipidemických dobrovolníků vedla EPA, na rozdíl od DHA, ke snížení hladiny TG (219). Mechanismů podílejících se na hypotriglyceridemickém účinku PUFA řady n-3 je pravděpodobně zprostředkován ovlivněním jaderných receptorů (220).

Postprandiální hladina TG, na rozdíl od hodnoty nalačno, se ukázala být silným prediktorem přítomnosti a progresu aterosklerózy v multivariacním modelu, který obsahoval i další rizikové faktory aterosklerózy (221).

U pacientů s kombinovanou hyperlipidémií vedla suplementace rybím olejem ke zvýšení LDL cholesterolu a HDL cholesterolu o 5–7 % a snížení plazmatické hladiny TG o 38 %, beze změny celkového cholesterolu (222, 223). Nejvýraznější změny byly pozorovány u pacientů s izolovanou hypertriacylglycerolémií. U této skupiny pacientů suplementace rybím olejem snížila TG o 52 % a celkový cholesterol o 8 %, zatímco LDL cholesterol a HDL cholesterol se zvýšil o 30 % resp. o 10 % (224, 225).

Snížená dostupnost volných FA v důsledku jejich sníženého uvolňování z tukové tkáně, společně se supresí lipogenních genů a zvýšenou expresí genů zapojených do oxidace FA vede v konečném výsledku ke snížené produkci VLDL v játrech (200). PUFA řady n-3 mají tendenci mírně zvyšovat hladinu LDL cholesterolu (116), nicméně potenciální nárůst kardiovaskulárního rizika je do značné míry kompenzován snížením množství malých denzních LDL částic. Kromě toho snížení hladiny TG má vliv i na aktivitu CETP a mírně zvyšuje HDL cholesterol v plazmě. Dalšími prospěšnými účinky PUFA řady n-3

jsou potlačení systémového zánětlivého stavu, snížení aktivace destiček a mírné snížení krevního tlaku (226).

Protektivní účinky konzumace ryb a PUFA řady n-3 na kardiovaskulární onemocnění podporují i rozsáhlé metaanalýzy. Bucher et al. při porovnání 11 studií sledujících efekt příjmu PUFA řady n-3 u osob s ischemickou chorobou srdeční (ICHS) zjistil, že příjem PUFA řady n-3 snižuje celkovou mortalitu, mortalitu na infarkt myokardu a riziko náhlé smrti u pacientů s ICHS (227). Některé z kardioprotektivních účinků PUFA řady n-3, zejména při vyšších dávkách, mohou být způsobeny jejich příznivým účinkem na lipidový profil. PUFA řady n-3 snižují plazmatické hladiny TG, zejména u osob s hypertriacylglycerolémií, inhibicí syntézy VLDL částic a TG v játrech. Ze studií u lidí vyplývá, že příjem přibližně 4 g PUFA řady n-3 denně snižuje koncentraci TG v séru o 25 až 30 %, zvyšuje LDL cholesterol v séru o 5 až 10 % a HDL cholesterol o 1 až 3 %. Hladina celkového cholesterolu není významně ovlivněna (146). Výsledkem studie Davidsona et al. bylo, že přidání 3,4 g etyl esterů PUFA řady n-3 denně k základní terapii simvastatinem vedlo k dalšímu snížení hladiny TG o 29,5 %, VLDL o 27,5 % a k malému, ale významnému zvýšení hladiny HDL cholesterolu (228).

Z metaanalýzy Appela et al. vyplývá, že příjem PUFA řady n-3 v denní dávce minimálně 3 g snižuje krevní tlak přibližně o 1,0/0,5 mm Hg u normotenzních jedinců a o 5,5/3,5 mm Hg u neléčených hypertoniků (229).

Metaanalýza z roku 2002 udává, že příjem přibližně 4,0 g PUFA řady n-3 denně byla spojena s významným poklesem systolického tlaku o 1,7 a diastolického o 1,5 mm Hg. Pokles byl výraznější u starších jedinců a u osob s vyšším krevním tlakem (230).

Příjem PUFA řady n-3 potlačuje produkci prozánětlivých cytokinů, jako jsou interleukin-6, interleukin-1 $\beta$  a tumor nekrotizující faktor  $\alpha$  (231). Podání 1,8 g EPA denně vedlo ke zvýšení hladiny adiponectinu, který může redukovat zánět a zvýšit citlivost na inzulín (232). Jiná studie u osob s BMI 28–33 kg/m<sup>2</sup> zjistila, že příjem PUFA řady n-3 ve výši 3,5 % denního energetického příjmu nevedl k významnému zvýšení plazmatické hladiny vysokomolekulární formy adiponectinu (233).

American Heart Association doporučuje pro příjem PUFA řady n-3 u osob bez známé ICHS alespoň dvě porce tučných ryb týdně spolu s dalšími potravinami bohatými na PUFA řady n-3. Osobám s onemocněním kardiovaskulárního aparátu je doporučován

příjem alespoň jednoho jídla denně, které obsahuje tučné ryby, nebo suplementace rybím tukem tak, aby bylo dosaženo doporučené dávky 0,9 g EPA denně (234).

## **2.9 Vliv mastných kyselin na inzulínovou rezistenci**

Pro syndrom inzulínové rezistence je charakteristická hyperglykémie, hyperinzulinémie a dyslipidémie. Inzulínová rezistence zvyšuje i riziko rozvoje diabetu 2. typu (235). Zahrnuje zhoršenou reakci na inzulín v cílových tkáních, zejména svalech a játrech, ve kterých se akumuluje nadbytek tuků (236, 237). Zvýšení plazmatické hladiny volných FA se zdá být příčinou poklesu vychytávání glukózy ve svalech a snížení inzulímem stimulované fosforylace tyrosinu IRS-1 a aktivity s IRS-1 asociovanou fosfatidyl-3-kinázou (238, 239). Inzulínová rezistence vede k nižšímu vychytávání glukózy buňkami kosterního svalu a jater. V játrech je ve zvýšené míře exprimována glukóza-6-fosfatáza a výstup glukózy z jater je méně účinně inhibován inzulímem. Zpočátku kombinace těchto faktorů vede ke zvýšení sekrece inzulínu, v pozdějších fázích pak ke změnám v glukózové homeostáze a k rozvoji diabetu 2. typu (112). K rozvoji inzulínové rezistence přispívá i zvýšený příjem tuků (240, 241).

Epidemiologické studie naznačují, že hyperinzulinémie v souvislosti s inzulínovou rezistencí je spojena s větším zastoupením nasycených než nenasycených FA v dietě (242, 243, 244). Nahrazení malé části (6–7 %) nasycených FA v dietě za PUFA řady n-3 z rybího tuku brání rozvoji inzulínové rezistence v odpovědi na dietu s vysokým obsahem satureovaných FA (245, 246). Vlastní mechanismus není dosud zcela objasněn, ale mohou se na něm podílet změny ve složení membránových fosfolipidů, které ovlivňují stabilitu buněčné membrány, ovlivnění inzulínové signalizace nebo ovlivnění exprese řady genů (113, 247, 248).

Defekty v oxidaci FA v mitochondriích a narušený metabolismus tuků v adipocytech mohou zvyšovat množství FA ve svalech a v játrech. Porušení transportu glukózy a syntézy glykogenu ve svalech spolu se zvýšenou produkcí glukózy v játrech se zdá být způsobeno především ektopickým ukládáním tuku (112).

Dieta s vysokým obsahem tuku, zejména s vysokým obsahem nasycených FA, spojená s fyzickou nečinností u zdravých lidských dobrovolníků, může nepříznivě ovlivnit působení inzulínu (249). Naopak, přidání PUFA řady n-3 (EPA a DHA) do krmiva s vysokým obsahem tuku zabránilo u kryš rozvoji inzulínové rezistence ve svalech a v

játrech. Ve svalech došlo ke snížení obsahu tuku a udržení normální aktivity fosfatidyl-3-kinázy a exprese a translokace GLUT4 (glucose transporters). V játrech zůstala zachována normální úroveň inhibice tvorby glukózy (250).

Infuze lipidů (především LA) vedla u potkanů k hromadění linoleát-acyl-CoA a k přechodnému nahromadění diacylglycerolů ve svalech, zvýšení fosforylace Ser<sup>307</sup> IRS-1, snížení fosforylace tyrosinu IRS-1, a k poklesu aktivity s IRS-1 asociované fosfatidyl-3-kinázy (251). Navíc inzulínová rezistence indukovaná FA ve svalech může odrážet jejich zvýšené využívání na úkor glukózy (252). Zvýšená hladina plazmatických FA stimuluje jaterní glukoneogenezi, nicméně to nemusí nutně zvyšovat produkci glukózy v játrech, a to v důsledku kompenzačního snížení glykogenolýzy, označované jako jaterní autoregulace (253).

Volné FA, které jsou často zvýšené u obézních jedinců (254, 255), tvoří příčinnou souvislost mezi obezitou, inzulínovou rezistencí, a diabetem 2. typu (256, 257). Zvýšené plazmatické hladiny volných FA významně zhoršují schopnost inzulínu stimulovat vstup glukózy do buněk (258, 259). Volné FA vedou ve svalu k aktivaci protein kinázy C (PKC). Její aktivace je spojena se snížením aktivity s IRS-1 asociované fosfatidylinositol-3-kinázy, tedy důležitého enzymu v inzulínové signální kaskádě (238, 260). Glukóza je produkována glykogenolýzou a glukoneogenezí v játrech. Volné FA zvyšují jaterní glukoneogenezi in vitro a in vivo (256, 261). Stimulace glukoneogeneze volnými FA může být způsobena jejich zvýšenou oxidací, při které se tvoří acetyl-CoA, který dále aktivuje pyruvát karboxylázu, dále tvorbou NADH, který slouží pro tvorbu glycerinaldehyd-3-fosfátu z 1,3-bisfosfoglycerátu a tvorbou ATP, který slouží jako zdroj energie (261). Navíc, zvýšená hladina citrátu (z acetyl-CoA a oxalacetátu), která následně inhibuje fosfofruktokinázu 1, byla pozorována v játrech potkanů a v izolovaných hepatocytech vystaveným zvýšenému množství volných FA (262, 263).

Další možné způsoby, které vysvětlují zvýšení glukoneogeneze v přítomnosti zvýšené hladiny volných FA, jsou zvýšená tvorba sukcinátu z acetátu vzniklého při oxidaci FA, který dále může sloužit jako substrát pro glukoneogenezi (264). Oxidace volných FA vede ke snížení xylulóza-5-fosfátu z důvodu snížení poměru mezi NADP a NADPH (265). Xylulóza-5-fosfát je aktivátorem fosfofruktokinázy 1 (PFK-1) a inhibítorem fruktóza-1,6-bisfosfatázy (FBP-1) a to prostřednictvím aktivace protein fosfatázy 2A. To v konečném důsledku vede ke zvýšení fruktóza-2,6-bisfosfátu, který je vlastním aktivátorem PFK-1 a

inhibitorem FBP-1. Zvýšená oxidace volných FA tedy může mít za následek snížení aktivity PFK-1 a zvýšení aktivity FBP-1, což stimuluje glukoneogenezi (265).

Zvýšení glukoneogeneze navozené zvýšenou hladinou volných FA nemusí nutně zvyšovat tvorbu glukózy v játrech. Předchozí studie ukázaly, že kompenzatorní snížení glykogenolýzy zabraňuje zvýšení produkce glukózy v játrech navozené volnými FA (266, 267). Tento proces je označován jako „jaterní autoregulace“. Na této autoregulaci se podílí jak extrahepatální, tak intrahepatální mechanismy. Extrahepatálním mechanismem je inhibice glykogenolýzy navozená vyšší produkcí inzulínu vyvolanou zvýšenou hladinou volných FA. Zvýšená hladina inzulínu postačuje k autoregulaci jaterní produkce glukózy (268). Intrahepatální mechanismus (nezávislý na inzulínu) zahrnuje aktivaci glykogensyntázy zvýšenou hladinou glukóza-6-fosfátu z glukoneogeneze (269) a inaktivaci glykogenfosforylázy prostřednictvím zvýšené tvorby ATP při oxidaci volných FA (267).

Zvýšená hladina volných FA za normálních fyziologických podmínek tedy nevede v důsledku autoregulačních mechanismů k zestupu tvorby glukózy v játrech. U nemocných s diabetem 2. typu se však zdá, že při dlouhodobě zvýšené hladině volných FA dochází k porušení autoregulačních mechanismů v játrech. Na tom se pravděpodobně podílí rezistence jaterních buněk vůči působení inzulínu navozená chronickým zvýšením volných FA v krvi, zvýšená aktivita glukóza-6-fosfatázy a snížení obsahu glykogenu v játrech (253).

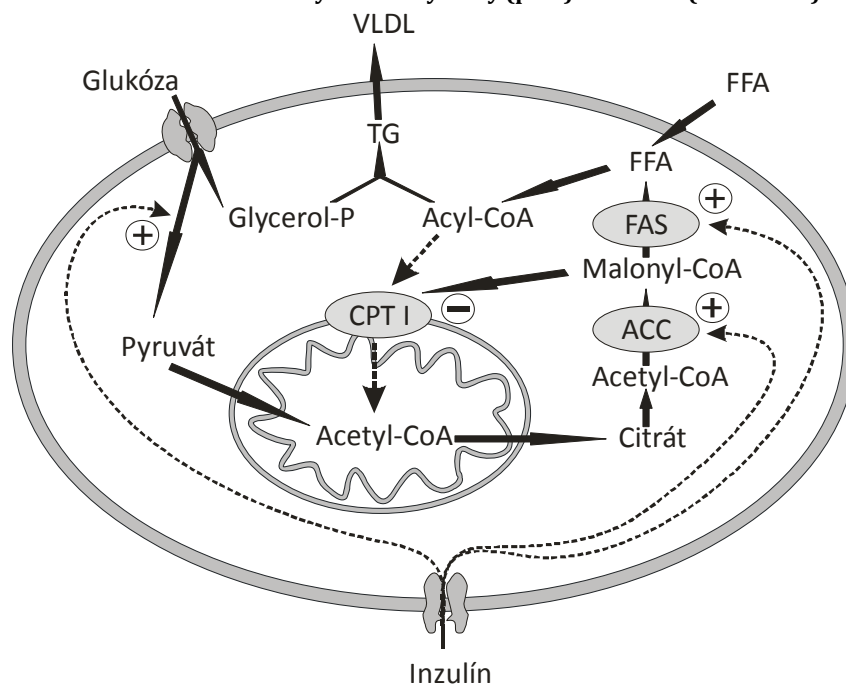
Inzulín se váže na svůj receptor na povrchu hepatocytů a tím aktivuje kaskádu signálních molekul (270). Po navázání inzulínu dojde k aktivaci tyrosinkinázy a k autofosforylaci receptoru. Inzulínem aktivovaná tyrosinkináza také fosforyluje IRS-1 až IRS-4, které dále aktivují fosfatidylinositol-3-kinázu. Pro zprostředkování účinku inzulínu v játrech je nejdůležitější působení IRS-2. Porušení inzulínové signalizace vede k nedostatečné inhibici jaterní glukoneogeneze a glykogenolýzy (271, 272). Inzulín však také nepřímo tlumí produkci glukózy v játrech snížením množství glukoneogenních prekurzorů a volných FA (273).

IRS-2 může být důležitou součástí zprostředkovávající působení inzulínu v játrech. Hepatocyty se sníženým počtem inzulínových receptorů vykazují selektivní redukci IRS-2, porušenou aktivaci IRS-2 a porušení účinku inzulínu (274). U myši s deficitem IRS-2

dochází k rozvoji diabetu 2. typu, společně s rozvojem inzulínové rezistence, porušenou inzulínovou signalizací v játrech (275) a sníženou supresí endogenní produkce glukózy (276).

Za stavu nadbytku energie (zvýšená dostupnost volných FA, glukózy a inzulínu) dochází k aktivaci ACC a ke zvýšení hladiny malonyl-CoA. Malonyl-CoA je allosterický inhibitor karnitinpalmitoyltransferázy I (CPT I), enzymu potřebného k transportu volných FA z cytoplasmy do mitochondrií k  $\beta$ -oxidaci (277). Inhibice CPT I brání transportu volných FA do mitochondrií a snižuje tak úroveň  $\beta$ -oxidace a vede k hromadění LCFA navázaných na acetyl-koenzym A (LCFA-CoA) v cytoplasmě (277). LCFA-CoA následně podléhají esterifikaci. Zvýšení míry esterifikace na úkor  $\beta$ -oxidace FA má za následek hromadění diacylglycerolu a TG v buňce (obr. 1) (278).

**Obrázek 2: Ovlivnění metabolických drah syntézy (plně) a oxidace (tečkovaně) mastných kyselin**



Množství TG, konečného produktu esterifikace FA v cytoplasmě je pozitivním ukazatelem jaterní inzulínové rezistence (271). To potvrzují i studie, které sledovaly vliv adiponectinu. Ten prostřednictvím aktivace AMP-aktivované proteinkinázy (AMPK) vede ke zvýšení oxidace FA v játrech a snižuje hladinu TG. Zároveň suprimuje expresi glukoneogenických genů a tím snižuje tvorbu glukózy v játrech (279, 280). Dále také adiponectin zvyšuje citlivost jater k inzulínu (281).

Schopnost inzulínu regulovat genovou expresi v játrech se zdá být závislá na aktivitě fosfatidylinositol-3-kinázy (282). Inzulín dlouhodobě potlačuje jaterní produkci glukózy

zvýšením aktivity glykolytických a snížením aktivity glukoneogenních enzymů. Dlouhodobě vysoké hladiny volných FA a diety s vysokým zastoupením tuků mohou nepřímo narušit působení inzulínu na jaterní enzymy. Ve studii sledující vliv diety o vysokém obsahu tuků byla popsána snížená aktivita s IRS-2 asociované fosfatidylinositol-3-kinázy (283). Další studie popsala i poruchu v působení inzulínu na genovou expresi jaterních glukoneogenních enzymů při zvýšené akumulaci viscerálního tuku (284).

Kromě nepřímého ovlivnění genové exprese navozením inzulínové rezistence se volné FA podílejí i přímo na modulaci exprese genů prostřednictvím ovlivnění transkripčních faktorů, například PPAR nebo SREBP-1 (152). PPAR- $\alpha$  je ve velkém množství exprimován v játrech, v mnohem menší míře pak i ve svalech (285). PUFA patří mezi silné aktivátory PPAR- $\alpha$ , a dieta s vysokým zastoupením PUFA zvyšuje genovou expresi PPAR- $\alpha$  v játrech a tím i expresi enzymů zapojených do peroxizomální a mitochondriální oxidace volných FA (286). Dále PUFA potlačují expresi SREBP-1a i SREBP-1c v játrech a v menší míře i v adipocytech a tím i genů účastnících se procesu lipogeneze (97). Výsledným efektem je omezení akumulace TG v játrech jako adaptace na zvýšenou nabídku volných FA. Tento efekt je doprovázen i snížením produkce malonyl-CoA v játrech. K tomuto poklesu dochází pravděpodobně účinkem PUFA na SREBP-1, jehož suprese nakonec sníží expresi ACC (286). Pokles hladiny malonyl-CoA v játrech vede nejen ke snížení rychlosti akumulace TG, ale může také usnadnit oxidaci volných FA oslabením inhibičního působení na CPT I. Na snížení akumulace TG se také z části podílí pokles aktivity FAS vyvolaný PUFA prostřednictvím SREBP-1 (287).

Studie prokázaly, že na rozdíl od PUFA, SFA ani MUFA nemají schopnost suprimovat expresi SREBP-1 v játrech a tím ovlivňovat aktivitu lipogenních enzymů ACC a FAS v játrech (97). U zdravých lidí vedla třítydenní suplementace rybím olejem (1,1 g EPA a 0,7 g DHA denně) ke snížení inzulínové odpovědi na perorální podání glukózy (1 g / kg hmotnosti) o 40 %. Suplementace PUFA řady n-3 měla za následek snížení oxidace glukózy, zvýšení oxidace tuků a zvýšené ukládání glykogenu, což může být vysvětleno zlepšením inzulínové senzitivity (288). Zdá se tedy, že suplementace PUFA řady n-3 může být účinná v prevenci nebo terapii inzulínové rezistence ve svalech. Zdá se však, že PUFA řady n-3 nejsou schopné obnovit již vzniklou inzulínovou rezistenci v játrech, zejména pokud je již rozvinut diabetes 2. typu (289, 290).

## 2.10 Vliv příjmu PUFA řady n-3 na obezitu

Nadváha a obezita jsou definovány jako nadměrné hromadění tuku, které může poškodit zdraví. Body mass index (BMI) je jednoduchý index, který se běžně používá v klasifikaci nadváhy a obezity u dospělé populace. Je definována jako hmotnost v kilogramech dělená druhou mocninou výšky v metrech ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). BMI poskytuje nejužitečnější informace k určení nadváhy a obezity na populační úrovni. Je stejné pro obě pohlaví a pro všechny věkové kategorie dospělých. Při užívání u jednotlivců je však nutné považovat BMI jen za orientační ukazatel, protože nemusí odrážet množství tukové tkáně. Světová zdravotnická organizace (WHO) definuje nadváhu jako  $\text{BMI} \geq 25$  a obezitu jako  $\text{BMI} \geq 30$ . Některé studie ale uvádějí, že riziko chronických onemocnění se zvyšuje postupně už od  $\text{BMI} 21 \text{ kg}/\text{m}^2$  (291). Souvislost mezi obezitou a chronickými onemocněními je dlouho známá. Obézní jedinci mají dvakrát až třikrát větší pravděpodobnost předčasné smrti ve srovnání se štíhlými jedinci (292), a to především v důsledku vazby obezity s diabetem 2. typu a s ICHS. BMI je pozitivně spojen s rizikem vzniku inzulínové rezistence u obou pohlaví (293). Pro obézní s  $\text{BMI} 30 \text{ kg}/\text{m}^2$  je riziko vzniku diabetu 2. typu třináctkrát větší pro muže a dvacetkrát větší pro ženy ve srovnání s jedinci s  $\text{BMI} 22 \text{ kg}/\text{m}^2$ . Obdobně je zvýšeno i riziko onemocnění ICHS u osob s BMI vyšším než  $29 \text{ kg}/\text{m}^2$ , kteří mají třikrát vyšší riziko ve srovnání s osobami s BMI nižším než  $21 \text{ kg}/\text{m}^2$  (294). Centrální typ obezity, který se vyznačuje převahou abdominálního tuku, je ještě významněji spojen s rizikovými faktory ICHS, jako je hypertenze, diabetes 2. typu a dyslipidémie (295) a s rozvojem metabolického syndromu (296).

Tuková tkáň hraje ústřední roli ve vývoji metabolického syndromu. Abnormální uvolňování adipokinů z viscerálního tuku může přispět k rozvoji inzulínové rezistence a představuje důležité spojení mezi tukovou tkání a metabolickým syndromem (297). Pro viscerální tuk je charakteristická vysoká aktivita lipolýzy. Vysoká hladina volných FA snižuje vychytávání inzulínu v hepatocytech (298). Inzulínová rezistence je spojena se sníženou aktivitou LPL v kosterním svalu, což přispívá ke zhoršení katabolismu lipoproteinů bohatých na TG (298). Proto je abdominální obezita spojena s hyperinzulinémií, inzulínovou rezistencí, zvýšenou hladinou TG, LDL a ApoB v krvi a tvorbou malých denzních LDL částic.

PUFA řady n-3 mohou přispět ke zlepšení tělesného složení účinkem na potlačení chuti k jídlu a podporou apoptózy adipocytů (299, 300). Efekt na tělesnou hmotnost a množství



tělesného tuku je pravděpodobně zprostředkován ovlivněním exprese genů zapojených do regulace metabolismu tuků v řadě tkání. Příjem PUFA řady n-3 vede ke zvýšení exprese genů a proteinů podílejících se na oxidaci FA v játrech, střevu, myokardu a kosterním svalstvu, a k potlačení exprese genů zapojených do lipogeneze v tukové tkáni. To vede k posunu metabolického profilu ve prospěch oxidace tuků před jejich ukládáním (299).

Existuje několik mechanismů, kterými PUFA řady n-3 mohou navodit snížení množství tukové tkáně a snížení plazmatické hladiny TG a volných FA (67, 286). PUFA řady n-3 snižují jaterní lipogenezi a zvyšují  $\beta$ -oxidaci FA u zvířat. DeLany et al. prokázal ve své studii vliv délky řetězce, stupně nasycenosti a polohy a konfigurace dvojnás vazby FA na rychlost jejich oxidace (301). Mitochondriální CPT-1 usnadňuje přenos acylových skupin do mitochondrií k jejich oxidaci. Exprese CPT-1 je regulována prostřednictvím PPAR (302) a je stimulována vyšším příjmem PUFA řady n-3 (303). Zároveň je při příjmu PUFA řady n-3 CPT-1 v myokardu a kosterním svalstvu méně citlivá vůči inhibičnímu působení malonyl-CoA (304). Supplementace PUFA řady n-3 u krys zvyšuje expresi UCP-3 mRNA v kosterním svalstvu (115). UCP snižují účinnost mitochondriální oxidativní fosforylace, což vede ke snížené tvorbě ATP a zvýšené produkci tepla. Tento efekt PUFA řady n-3 na kosterní sval může snížením celkové metabolické efektivity přispět ke zvýšení klidového energetického výdeje (305) a k poklesu hmotnosti.

Dieta s vysokým obsahem n-3 PUFA, ve srovnání s dietou s vysokým obsahem SFA nebo MUFA o stejném energetickém obsahu významně snížila množství tukové tkáně ve studiích na zvířatech (306, 307, 308). Výsledky těchto studií podávají přesvědčivé důkazy o tom, že příjem PUFA, zvláště řady n-3, vede u zvířat ke snížení tělesné hmotnosti, celkového tělesného tuku a/nebo abdominálního tuku beze změny v energetickém příjmu a/nebo výdeji (309).

Výsledky studií u lidí však tak jednoznačné nejsou. Ve většině studií sledujících specifický vliv příjmu PUFA řady n-3 na ovlivnění tělesné hmotnosti a množství tukové tkáně bylo použito ne zcela přesných metod určení složení těla (310, 311, 199, 312, 313). Studie, ve kterých bylo použito přesnější stanovení tělesného složení, obecně podporují vliv PUFA, zejména řady n-3, na množství tělesného tuku. Couet et al. pozoroval 22 % nárůst bazální oxidace lipidů u dospělých dobrovolníků, u nichž byl po dobu 3 týdnů nahrazen denní příjem 6 g tuků (převážně SFA) za 6 g PUFA řady n-3, což

může být i částečným vysvětlením pozorovaného významného poklesu množství tukové hmoty ( $-0,88 \pm 0,16$  kg) stanovené pomocí duální rentgenové absorpciometrie (DEXA) (305). Obdobné výsledky s využitím magnetické rezonance popsal i Summers et al. U 11 mužů a žen s normální hmotností nebo s obezitou vedl vyšší příjem PUFA po dobu 5 týdnů, ve srovnání s dietou s obsahem SFA, k poklesu množství podkožního tuku na břiše přibližně o 25 %, přestože nedošlo k žádné významné změně tělesné hmotnosti (314). Garaulet et al. zjistil při sledování 84 obézních normolipidemických a normoinzulinemických dospělých s obezitou, že množství abdominálního tuku stanovené pomocí počítačové tomografie, stejně jako BMI a procento tělesného tuku (stanoveno součtem tloušťky kožních řas) negativně koreluje s obsahem PUFA řady n-3 v tukové tkáni (315). Výsledky těchto studií naznačují, že PUFA, zvláště řady n-3, mohou mít příznivý vliv na složení těla včetně abdominální obezity i přes to, že nedojde k poklesu tělesné hmotnosti.

PUFA řady n-3 mohou vést k redukci množství tělesného tuku zvýšením oxidace tuků při snížené produkci energie v důsledku stimulace exprese UCP. Navíc přispívají ke snížení dostupnosti FA k uložení do adipocytů a potenciálně zvyšují klidový energetický výdej (305, 316).

### 3. Cíle práce

Ve studiích prezentovaných v této disertační práci jsem se zaměřil na sledování vlivu nutričních faktorů, zejména PUFA řady n-3 a vápníku, na ovlivnění řady metabolických parametrů. Dále jsem se zaměřil i na sledování vlivu genového polymorfismu, u kterého se předpokládá podíl na ovlivnění vstřebávání a metabolismu LCFA.

1. Cílem této studie bylo zjistit vliv konzumace jogurtu obohaceného o PUFA řady n-3 v krátkodobém redukčním režimu u žen s mírnou obezitou.
2. Tato studie sledovala vliv suplementace PUFA řady n-3 při krátkodobém redukčním režimu s VLCD za hospitalizace u žen s těžkou obezitou.
3. Cílem této intervenční studie bylo zjistit vztah mezi vyšším příjmem vápníku a změnou vybraných parametrů během krátkodobého redukčního režimu.
4. Tato studie je zacílena na vliv mutace FABP2 (fatty acid binding protein) Ala54Thr na distribuci tukové tkáně, antropometrické parametry a parametry lipidového a glukózového metabolismu.
5. Tato studie je zaměřená na vliv mutace FABP2 (fatty-acid binding protein) Ala54Thr na distribuci tukové tkáně, antropometrické parametry, parametry lipidového a glukózového metabolismu a ovlivnění hladin vybraných hormonů.

## 4. Výsledky předložených prací

### 4.1 Změny ve složení mastných kyselin sérových lipidů u obézních žen po krátkodobém redukčním programu s přidavkem PUFA řady n-3

Hlavatý P., Kunešová M., Gojová M., Tvrzická E., Vecka M., Roubal P., Hill M., Hlavatá K., Kalousková P., Hainer V., Žák A., Drbohlav J. Change in fatty acid composition of serum lipids in obese females after short-term weight-reducing regimen with the addition of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids in comparison to controls. *Physiol Res.* 2008, 57 (Suppl 1), s. 57–65.

U dospělých je u centrální obezity popsána pozitivní asociace s vyšším zastoupením PUFA řady n-6 a negativní asociace s PUFA řady n-3 v tukové tkáni (315). Zvýšený příjem rybího tuku v rámci redukční diety pozitivně ovlivňuje zdravotní rizika spojená s obezitou (312). U krátkodobého redukčního režimu dochází k nepříznivým změnám ve složení lipidů v séru i v tukové tkáni (317, 318, 319). Přidání PUFA řady n-3 k nízkoenergetické redukční dietě může těmto změnám zabránit. Cílem této studie bylo zjistit vliv konzumace jogurtu obohaceného o PUFA řady n-3 v krátkodobém redukčním režimu u žen s mírnou obezitou.

Ve studii bylo sledováno 40 obézních žen o průměrném věku  $55,2 \pm 13,2$  let a průměrném BMI  $33,1 \pm 2,8$ . Vlastnímu redukčnímu režimu v trvání 21 dní předcházelo 3denní období stabilizace hmotnosti. Redukční program zahrnoval přesně definovanou nízkoenergetickou dietu (5500 kJ/den, 22,7 % bílkovin, 28,7 % tuků a 48,6 % sacharidů), každodenní mírnou pohybovou aktivitu pod dohledem fyzioterapeuta a kognitivně behaviorální terapii. Sledované ženy byly náhodně rozděleny do 2 skupin. První skupina dostávala jogurty obohacené PUFA řady n-3 (790 mg/den, z toho EPA a DHA tvořily 620 mg), druhá konzumovala jogurty bez suplementace. Antropometrické vyšetření zahrnovalo stanovení tělesné výšky a hmotnosti, změření obvodu pasu a boků a tloušťky 4 kožních řas. Tělesné složení bylo stanoveno pomocí bioimpedance. Z laboratorních parametrů jsme sledovali celkový cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, TG, glykémii, inzulín, C-peptid a C-reaktivní protein. Psychologické vyšetření zahrnovalo tříložkový dotazník jídelních zvykostí a stanovení skóre deprese dle Becka. Všechna vyšetření byla provedena před zahájením redukčního režimu a následně po 21

dnech. Výsledky byly zhodnoceny pomocí Mann-Whitneyho robustního testu, Wilcoxonova testu a pro vzájemné porovnání skupin byla použita ANOVA.

Ve skupině se suplementací jsme zaznamenali zvýšení hladiny HDL cholesterolu, zatímco v kontrolní skupině došlo k poklesu. K poklesu hladiny LDL cholesterolu došlo v obou skupinách, vyšší pokles byl u skupiny kontrolní. Hladiny TG byly signifikantně vyšší na začátku studie u kontrolní skupiny a také pokles hladiny TG na konci sledování byl u této skupiny výraznější. Rozdíly v parametrech glukózového metabolismu jsme nenalezli. Změny v psychobehaviorálních parametrech také nebyly statisticky významné.

Ve všech sledovaných frakcích lipidů (fosfolipidy – PL, TG a estery cholesterolu – CE) došlo u skupiny se suplementací k vzestupu zastoupení PUFA řady n-3. Tento vzestup byl doprovázen i signifikantním poklesem podílu PUFA řady n-6 v sérových PL ve srovnání s kontrolní skupinou. Naopak jsme u kontrolní skupiny zaznamenali významné zvýšení zastoupení kyseliny arachidonové (20:4 n-6) a palmitové (16:0) v sérových PL. K poklesu množství kyseliny stearové (18:0) v PL séra došlo v obou skupinách, pokles byl signifikantně vyšší u kontrolní skupiny. Změny v zastoupení FA byly nejvýraznější v PL séra, změny složení v TG a v CE nebyly tak výrazné.

#### 4.2 Vliv n-3 polynenasycených mastných kyselin a velmi přísné nízkenergetické diety na snížení hmotnosti a složení mastných kyselin v séru u obézních žen

**Kunešová M., Braunerová R., Hlavatý P., Tvrzická E., Staňková B., Škrha J., Hilgertová J., Hill M., Kopecký J., Wagenknecht M., Hainer V., Matoulek M., Pařízková J., Žák A., Svačina S.** The influence of n-3 polyunsaturated fatty acids and very low calorie diet during a short-term weight reducing regimen on weight loss and serum fatty acid composition in severely obese women. *Physiol Res.* 2006, 55, s. 63–72.

Restrikce energetického příjmu a redukce hmotnosti jsou zodpovědné za změny exprese genů v tukové tkáni, zatímco vliv zastoupení tuků v dietě se nezdá být rozhodující (320) (321). Složení tuků má vliv na úspěšnost redukčních diet (322, 323). U žen s mírnou obezitou bylo dříve popsáno významné zvýšení kyseliny palmitové (16:0) a signifikantní pokles kyseliny linolové (18:2 n-6) a dihomo-gama-linolenové kyseliny (20:3 n-6) v PL po velmi přísné nízkenergetické dietě (VLCD) (319). Složení FA v sérových lipidech a v TG tukové tkáně odráží složení FA v tucích potravy. Složení FA v TG a PL kosterního svalu koreluje s parametry inzulínové rezistence a s rizikem rozvoje diabetu mellitu 2. typu (324). Studie také prokázaly pozitivní asociaci hladiny arachidonové kyseliny (20:4 n-6) v séru a ve svalových PL s citlivostí na inzulín (325, 326). PUFA řady n-3 zvyšují oxidaci lipidů u zdravých lidí (288, 305). Tato studie sledovala vliv suplementace PUFA řady n-3 při krátkodobém redukčním režimu s VLCD za hospitalizace u žen s těžkou obezitou.

Dvacet žen s těžkou obezitou bylo náhodně rozděleno do dvou skupin. První skupina dostávala VLCD obohacenou o PUFA řady n-3, druhá skupina PUFA s placebem. Obě skupiny se od sebe na začátku sledování významně nelišily. Studie byla zahájena sedmidenní stabilizační periodou s eukalorickou dietou, během které byly ženy sledovány ambulantně. Poté následoval třítydenní redukční program za hospitalizace. V průběhu stabilizační periody a posledních 3 dnů hospitalizace byla hmotnost žen stabilní. Redukční režim se skládal z VLCD Redita® (Promil Nový Bydžov, Česká republika) o energetickém obsahu 2200 kJ/den (40 g bílkovin, 70 g sacharidů a 9 g tuku). U skupiny se suplementací byla obohacena o 2,8 g PUFA řady n-3 (Omega 3 Forte®, SVUS Pharma, Hradec Králové, ČR), o obsahu EPA a DHA v poměru 2:1 a

vitamínu E pro zabránění peroxidace FA. Redukční režim dále zahrnoval lehkou až střední fyzickou aktivitu v délce asi 60 min/den. Dodržování diety bylo testováno semikvantitativním stanovením množství ketolátek v moči, dodržování fyzické aktivity bylo posuzováno pomocí krokoměrů (327).

U sledovaných žen byly provedeny odběry krve nalačno na začátku studie a ve 3., 7. a 21. dnu redukčního režimu. Sledovány byly hladiny beta-hydroxybutyrátu, volných FA, celkového cholesterolu, HDL cholesterolu, TG, glykémie, inzulínu, superoxiddismutázy, malonyldialdehydu a vitamínů C a E. Laboratorní analýzy byly provedeny rutinními laboratorními metodami, hladina beta-hydroxybutyrátu v séru byla stanovena pomocí fluorimetrie (328) a neesterifikované volné FA byly stanoveny fotometricky (329). Na začátku sledování a ve 21. dnu redukčního pobytu byla provedena analýza zastoupení FA v sérových lipidech (PL, TG a CE), zároveň byla provedena biopsie subkutánní tukové tkáně na břiše.

Antropometrické zhodnocení množství tělesného tuku bylo provedeno měřením deseti kožních řas podle Pařízkové (330) a čtyř kožních řas podle Durnin a Wommersley (331). Obvody pasu a boků a sagitální abdominální průměr v úrovni L4/5 byly měřeny dle normalizovaných postupů. Dále bylo provedeno stanovení tělesného tuku pomocí měření bioelektrické impedance.

Složení FA v sérových lipidech bylo stanoveno pomocí plynové chromatografie po oddělení jednotlivých lipidových frakcí tenkovrstvou chromatografií na silikagelu (332).

Vztahy mezi závislou proměnnou a souborem nezávisle proměnných byly vyhodnoceny pomocí postupné zpětné vícenásobné regresní analýzy. Vztahy mezi dvěma proměnnými byly stanoveny pomocí Pearsonovy korelace. Vlivy suplementace a redukčního režimu byly hodnoceny použitím analýzy rozptylu s opakovanými měřeními. Významnost rozdílů byla vyhodnocena pomocí Wilcoxonova párového testu a Mann-Whitney testu.

Pokles hmotnosti ( $7,55 \pm 1,77$  vs.  $6,07 \pm 2,16$  kg,  $p < 0,10$ ), BMI ( $2,82 \pm 0,62$  vs.  $2,22 \pm 0,74$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,05$ ) a obvodu boků ( $4,8 \pm 1,81$  cm) byl vyšší ve skupině se suplementací PUFA řady n-3. V laboratorních parametrech jsme zaznamenali u suplementované skupiny mírný vzestup beta-hydroxybutyrátu a tendenci k mírnému poklesu fibrinogenu. U skupiny se suplementací došlo k vzestupu EPA a DHA v sérových

TG i PL. Zároveň byl ve srovnání s kontrolní skupinou významně vyšší pokles kyseliny palmitolejové (16:1 n-7) a vakcenové (18:1 n-7) a signifikantní vzestup zastoupení kyseliny olejové (18:1 n-9) v TG séra. K významně vyššímu poklesu kyseliny palmitolejové (16:1 n-7) v TG došlo u skupiny se suplementací PUFA řady n-3. U této skupiny jsme rovněž zaznamenali signifikantní zvýšení zastoupení kyseliny olejové (18:1 n-9) v TG. Zároveň jsme zjistili negativní korelaci mezi změnou hladiny beta-hydroxybutyrátu v séru a zastoupení kyseliny palmitolejové (16:1 n-7) v PL, TG a CE. Silně pozitivní korelaci jsme pozorovali mezi změnou hladiny kyseliny arachidonové (20:4 n-6) v PL, TG a CE se změnou hladiny beta-hydroxybutyrátu a významně negativní korelaci mezi změnou hladiny beta-hydroxybutyrátu a změnou hladiny kyseliny palmitové (16:0), stearové (18:0) a linolové (18:2 n-6) v PL. Vzestup množství DHA v PL signifikantně koreloval s poklesem BMI. Změny v hladinách sérových TG, volných FA a glykémie se významně nelišily mezi sledovanými skupinami.



### 4.3 Vliv příjmu vápníku v krátkodobém redukčním režimu

**Kabrnová-Hlavatá K., Hainer V., Gojová M., Hlavatý P., Kopský V., Nedvídková J., Kunešová M., Pařízková J., Wagenknecht M., Hill M., Drbohlav J.** Calcium intake and the outcome of short-term weight management. *Physiol Res.* 2008, 57, s. 237–245.

Redukce tělesné hmotnosti v průběhu redukčního režimu je ovlivněna nejen celkovým příjmem energie a složením makronutrientů v dietě, ale i dalšími nutričními faktory, např. PUFA řady n-3 nebo vápníkem (333, 334). Řada studií potvrdila významný negativní vztah mezi příjmem vápníku a tělesnou hmotností (335). V dalších studiích byl popsán negativní vztah mezi příjmem vápníku nebo spotřebou mléčných produktů na jedné straně a obezitou a syndromem inzulínové rezistence na straně druhé (336), nebo příjmem vápníku a mléčných výrobků a nižším výskytem metabolického syndromu u žen středního a pozdního věku (337). Existuje však i řada studií, ve kterých vliv vápníku na tělesnou hmotnost a složení těla potvrzen nebyl (338, 339, 340). Byla navržena řada možných mechanismů, kterými může vápník v dietě ovlivňovat tělesnou hmotnost. Jedná se o tvorbu nevstřebatelných komplexů FA s vápníkem a zvýšeném vylučování přijatých tuků ve stolici (341). Dále je sledován efekt na intracelulární koncentraci vápníku prostřednictvím potlačení tvorby 1,25-dihydroxy vitamínu D, a tím ovlivnění exprese a aktivity lipogenních enzymů (342). Vápník může mít vliv i na energetickou bilanci stimulací UCP-2 v adipocytech a UCP-3 v kosterním svalu (343, 342), případně s ovlivněním oxidaci tuků (341, 344). Cílem této intervenční studie bylo zjistit vztah mezi vyšším příjmem vápníku a změnou vybraných parametrů během krátkodobého redukčního režimu.

Studie se účastnilo 67 perimenopauzálních žen s nadváhou nebo obezitou (BMI  $32,4 \pm 4,5$  kg/m<sup>2</sup>, věk  $48,7 \pm 12,2$ ), které podstoupily komplexní čtyřtýdenní lázeňský redukční program. Do studie byly zařazeny pouze ženy, které měly stabilní hmotnost v průběhu prvního týdne sledování při denním energetickém příjmu 7000 kJ. V následujících 3 týdnech byla energetická hodnota diety redukována na 4500 kJ/den a průměrný denní příjem vápníku činil 350 mg. Doporučená pohybová aktivita zahrnovala aerobní cvičení a chůzi pod dohledem fyzioterapeutů. Ženy byly rozděleny podle věku a BMI do tří skupin. První skupina dostávala vápník ve formě uhličitanu vápenatého, druhá skupina užívala Lactoval, který reprezentoval vápník z mléčných produktů. Denní dávka vápníku byla v obou skupinách 500 mg. Poslední, kontrolní skupina, užívala placebo.

Před zahájením a po skončení třítydenního redukčního režimu byla provedena antropometrická měření a odběr krve nalačno pro stanovení biochemických a hormonálních parametrů. Antropometrická měření zahrnovala tělesnou hmotnost, výšku, obvod pasu a boků, tloušťku 4 kožních řas a stanovení složení těla pomocí měření bioimpedance. Psychologické parametry byly sledovány pomocí dotazníku jídelních zvyklostí (Eating Inventory podle Stunkarda a Messicka) a skóre deprese podle Becka (Beck Depression Inventory). Biochemická vyšetření glykémie, glykovaného hemoglobinu, kyseliny močové, celkového cholesterolu, HDL cholesterolu, LDL cholesterolu, TG a C-reaktivního proteinu byla provedena dle standardních laboratorních postupů. Hladiny hormonů (thyroideu stimulující hormon, tyroxin, trijodthyronin, inzulín, C-peptid, prolaktin, růstový hormon, IGF-1, kortizol, SHBG (steroidní hormonový vázající globulin), leptin, ghrelin, peptid YY, neuropeptid Y, adiponectin a resistin) byly stanoveny pomocí radioimunoanalýzy. Ke statistickému vyhodnocení bylo využito Kruskal-Wallisovy robustní analýzy variance (ANOVA), Mann-Whitney test a Wilcoxonův párový test.

Ve všech skupinách došlo k významnému poklesu hmotnosti, BMI, obvodu pasu a boků, tloušťky kožních řas a množství tělesného tuku. Významné rozdíly ve změnách těchto parametrů mezi skupinami jsme nezaznamenali. U skupin, které užívaly substituci vápníkem, však došlo k významně nižšímu poklesu beztukové hmoty, tedy ztráta hmotnosti byla dána zejména poklesem množství tělesného tuku. Z biochemických a hormonálních parametrů došlo k významnému poklesu hladiny glukózy, inzulínu, leptinu a neuropeptidu Y a k vzestupu hladiny SHBG. Nezaznamenali jsme žádné signifikantní změny hladiny adiponectinu a resistinu po skončení redukčního režimu. U skupin se suplementací vápníkem byl na konci redukčního režimu zaznamenán významný vzestup hladiny HDL cholesterolu.

V odpovědi na komplexní redukční program došlo k poklesu Beckova skóre deprese, skóre hladu a disinhibice, zatímco skóre restriktce se zvýšilo. Skupiny substituované vápníkem vykazovaly menší skóre hladu oproti skupině placebové.

Při hodnocení změn hladiny resistinu v jednotlivých skupinách jsme prokázali signifikantní rozdíl mezi skupinou s placebem a oběma skupinami s vápníkovou suplementací. U jedinců, kteří dostávali substituci vápníkem, došlo k poklesu hladiny resistinu, na rozdíl od skupiny s placebem, u které došlo k vzestupu.

#### 4.4 TT varianta polymorfismu FABP2 (fatty acid binding protein) může vést k nižšímu BMI u obézních žen. Pilotní studie.

**Hlavatý P., Kunešová M., Vaňková M., Bendlová B., Braunerová R., Obenberger J., Hill M., Kabrnová K., Pařízková J., Hainer V., Wagenknecht M., Seidl Z.** TT variant of fatty-acid binding protein type 2 polymorphism tends to lower BMI in obese women, a pilot study. *Obes rev.* 2005, 6 (Suppl 1), s. 177.

FABP jsou skupinou bílkovin s nízkou molekulární hmotností přítomné v mnoha tkáních. Přesná funkce jednotlivých FABP není zcela známa, ale předpokládá se, že FABP mohou regulovat absorpci LCFA, jejich přenos do buňky a jejich intracelulární metabolismus (345, 346, 347). FABP přítomný ve střevě (FABP2) má jedno vazebné místo pro FA, které je schopno vázat LCFA (C16–C20) (348). Nejčastější mutace v genu FABP2 byla nalezena v exonu 2, v kodonu 54, kde dochází k substituci guaninu za adenin, což vede k záměně alaninu za threonin (Ala54Thr) (349). Klinické rysy spojené s mutací Ala54Thr jsou vyšší BMI, zvýšená inzulinémie a inzulinové rezistence, vyšší hladina LDL cholesterolu, apoB a TG nalačno (349, 350, 351). V několika studiích byl sledován i vliv mutace na postprandiální odpověď a u 54Thr homozygotů byla popsána zvýšená postprandiální hladina inzulinu (349) nebo TG (350). Další studie ale nepotvrdila významné rozdíly v hladinách glukózy, volných FA nebo TG (352). V naší studii jsme se zaměřili na vliv mutace FABP2 Ala54Thr na distribuci tukové tkáně, antropometrické parametry a parametry lipidového a glukózového metabolismu.

Do studie bylo zahrnuto 117 obézních žen (věk  $45,3 \pm 11,0$ ; BMI  $36,1 \pm 6,5$ ) z obezitologické ambulance Endokrinologického ústavu. Alelické varianty FABP2 byly stanoveny pomocí polymerázové řetězové reakce (polymerase chain reaction, PCR), po níž následovala analýza polymorfismu délky restričních fragmentů (restriction fragment length polymorphism, RFLP). Množství intraabdominální tukové tkáně bylo stanoveno pomocí CT vyšetření provedeného ve 3 řezech v oblasti pupku. Vyhodnocení týdenního jídelníčku bylo provedeno pomocí PC programu Nutrition a zhodnocení jídelních zvyklostí pomocí dotazníku Eating Inventory (353). Antropometrická stanovení byla provedena dle standardizovaných postupů. Z biochemických parametrů jsme sledovali plazmatické hladiny glykémie, inzulinu, C-peptidu, celkového cholesterolu, HDL cholesterolu, LDL cholesterolu a apolipoproteinů A a B nalačno. Data byla analyzována pomocí ANOVA po adjustaci na věk a BMI.

Prevalence Ala54Ala, Ala54Thr a Thr54Thr polymorfismu byla 54,0 %, 39,8 % a 6,2 %. Zjistili jsme významně nižší hodnoty BMI u skupiny homozygotů Thr54Thr. Po rozdělení subkutánní abdominální tukové tkáně (SAAT) na superficiální a hlubokou, podle ohraničení superficiální fascií, jsme zároveň u této skupiny zaznamenali i významně nižší množství hluboké SAAT. Množství viscerální abdominální tukové tkáně nebylo mezi skupinami významně odlišné. V laboratorních parametrech jsme také nezaznamenali žádné významné rozdíly mezi skupinami.

#### 4.5 Asociace polymorfismu FABP2 (fatty acid binding protein) a distribuce tukové tkáně u obézních žen.

**Hlavatý P., Vaňková M., Bendlová B., Braunerová R., Kabrnová K., Hainer V., Obenberger J., Hill M., Seidl Z., Kunešová M.** Association of the intestinal fatty acid-binding protein 2 polymorphism and distribution of abdominal adipose tissue in obese women. *Obes Rev.*, 2006, 7, suppl. 2.

Nejčastější mutace v genu FABP2 byla nalezena v exonu 2, v kodonu 54, kde dochází k substituci guaninu za adenin, což vede k záměně alaninu za threonin (Ala54Thr) (349). Klinické rysy spojené s mutací Ala54Thr jsou vyšší BMI, zvýšená inzulinémie a inzulinové rezistence, vyšší hladina LDL cholesterolu, apoB a TG nalačno (349, 350, 351). V několika studiích byl sledován i vliv mutace na postprandiální odpověď a u 54Thr homozygotů byla popsána zvýšená postprandiální hladina inzulínu (349) nebo TG (350). Naše předchozí sledování naznačilo, že přítomnost mutace Ala54Thr může vést ke změnám v distribuci tukové tkáně a k nižší hodnotě BMI. V této studii jsme se proto zaměřili na vliv mutace FABP2 Ala54Thr na distribuce tukové tkáně, antropometrické parametry, parametry lipidového a glukózového metabolismu a ovlivnění hladin vybraných hormonů.

Sledovaný soubor tvořilo 119 obézních žen (věk  $45,1 \pm 11,4$ ; BMI  $37,1 \pm 5,4$ ) z obezitologické ambulance Endokrinologického ústavu. Alelické varianty FABP2 byly stanoveny pomocí PCR, po němž následovala analýza RFLP. Množství intraabdominální tukové tkáně bylo stanoveno pomocí CT vyšetření provedeného ve 3 řezech v oblasti pupku. Antropometrická stanovení byla provedena dle standardizovaných postupů. Vyhodnocení týdenního jídelníčku bylo provedeno pomocí PC programu Nutrition a zhodnocení jídelních zvyklostí pomocí dotazníku Eating Inventory (353). V laboratorních analýzách se jednalo o stanovení lačných hodnot glykémie, celkového cholesterolu, HDL cholesterolu, LDL cholesterolu a apolipoproteinů A a B v plasmě. Dále jsme sledovali plazmatické hladiny inzulínu, C-peptidu, testosteronu, somatotropinu, kortizolu, SHBG, dehydroepiandrosteronu (DHEA) a dehydroepiandrosteron sulfátu (DHEAS). Data byla analyzována pomocí ANOVA po adjustaci na věk a BMI.

Prevalence Ala54Ala, Ala54Thr a Thr54Thr polymorfismu byla 50,4 %, 42,9 % a 6,7 %. Zjistili jsme významně nižší hodnoty BMI u skupiny homozygotů Thr54Thr ( $p = 0,05$ ).

Ve skupině žen s polymorfismem Thr54Thr jsme našli také významně nižší množství a to jak celkové abdominální tukové tkáně (TAAT) ( $p < 0,01$ ), tak i SAAT ( $p < 0,01$ ) a viscerální abdominální tukové tkáně (VAAT) ( $p < 0,05$ ). V parametrech lipidového metabolismu, hladině glukózy a sledovaných hormonů jsme nezjistili žádné významné rozdíly mezi skupinami.

## 5. Závěry

1. Výsledky studie ukazují, že suplementace nízkou dávkou PUFA řady n-3 v jogurtu během nízkokalorické diety zvyšuje podíl PUFA řady n-3 v sérových lipidech a zabraňuje nepříznivým změnám ve složení FA v séru po krátkodobé nízkokalorické dietě.
2. Přidání PUFA řady n-3 rybího původu k velmi přísné nízkoenergetické dietě má za následek větší redukci BMI a obvodu boků u žen s těžkou obezitou během krátkodobého redukčního režimu za hospitalizace. Významné zvýšení hladiny beta-hydroxybutyrátu u skupiny s přidavkem PUFA řady n-3 je pravděpodobně v důsledku zvýšené  $\beta$ -oxidace FA. Významná korelace poklesu BMI se změnou koncentrace DHA v PL naznačuje kauzální vztah.
3. Vápníkem vyvolané rozdíly v reakci resistinu na redukci hmotnosti se mohou podílet na redukci rizika rozvoje diabetu mellitu 2. typu a metabolického syndromu. Zároveň se vyšší příjem vápníku v průběhu redukčního režimu může uplatňovat protektivním účinkem na pokles FFM.
4. Z výsledků vyplývá možná souvislost mezi Thr54Thr polymorfismem FABP2 a nižší hodnotou BMI a možné ovlivnění distribuce tukové tkáně.
5. Výsledky naznačují, že u obézních žen by polymorfismus Thr54Thr genu FABP2, ve srovnání s homozygoty Ala54Ala a s heterozygoty, mohl vést ke sníženému ukládání tukové tkáně predominantně v abdominální oblasti.

## 6. Diskuse

Předložené práce prezentují výsledky několika studií, ve kterých jsme se zaměřili na vliv suplementace PUFA řady n-3, podávání vápníku při redukčním režimu a mutaci v genu pro FABP2.

PUFA řady n-3 mohou ovlivňovat expresi řady genů, fluiditu buněčné membrány a aktivitu řady enzymů a tím úspěšnost redukčního režimu, ale i významně zasahovat do lipidového a glukózového metabolismu. V naší studii jsme zjistili, že suplementace PUFA řady n-3 vedla, ve srovnání s kontrolní skupinou, ke vzestupu EPA, DHA a celkového množství PUFA řady n-3 v sérových lipidech. Zvýšení HDL cholesterolu v souvislosti s konzumací rybího tuku je popsáno např. ve studii Barreta a Wattse (354). Tento pozitivní účinek PUFA řady n-3 na hladinu HDL cholesterolu jsme potvrdili i v naší studii. V řadě studií popisovaný efekt PUFA řady n-3 na snížení hladiny TG (355, 356, 357) se nám nepodařilo potvrdit. Možnou příčinou mohla být vyšší počáteční hladina TG v kontrolní skupině a výraznější vliv nízkokalorické diety a redukce hmotnosti na snížení hladiny TG než byl efekt malé suplementace PUFA řady n-3. Dávka doporučená pro terapii hypertriacylglycerolémie je přibližně 2–4 g/den (358), tedy mnohem vyšší, než jsme použili v naší studii. Nežádoucí změny ve složení FA v sérových lipidech jsou popisovány u krátkodobých redukčních režimů (317, 318, 319). V naší studii jsme zjistili, že přidání nízké dávky PUFA řady n-3 do běžné potravin jako je jogurt, vedlo ke zvýšení podílu EPA a DHA v sérových lipidech (PL, TG, CE) během nízkokalorické diety. Vliv používání nových potravin obohacených o n-3 PUFA byl potvrzen i ve studii u mladých mužů, která ukázala zvýšení podílu EPA a DHA v plazmě a také v PL mononukleárů a trombocytů při konzumaci potravin přirozeně obsahujících PUFA řady n-3 nebo potravin obohacených o rybí tuk (359). Změny ve složení FA byly největší v PL, zatímco změny složení FA v sérových TG a CE byly méně výrazné. Naše výsledky potvrzují, že plazmatické PL jsou citlivými markery složení FA v potravinách a také odráží složení FA v buněčných membránách. Naopak složení CE odráží dlouhodobý příjem FA (360).

PUFA řady n-3 ovlivňují úspěšnost redukčního režimu a jejich zvýšená konzumace zvyšuje úroveň  $\beta$ -oxidace FA (305). V naší studii u silně obézních žen jsme zjistili, že VLCD se suplementací PUFA řady n-3 vede k významně většímu poklesu BMI a snížení



obvodu boků. Dalším nálezem je významné zvýšení hladiny beta-hydroxybutyrátu u suplementované skupiny. Zvýšená ketogeneze je pravděpodobně způsobena vyšší mírou  $\beta$ -oxidace FA při zvýšeném příjmu PUFA řady n-3. Vyšší produkce ketolátů při dietě s obsahem PUFA řady n-3 ve srovnání s nasycenými tuky byla prokázána i u zvířat (113, 361). Vyšší pokles zastoupení kyseliny palmitolejové, jako markeru lipogeneze (362, 363), v TG séra jsme zaznamenali u skupiny se suplementací PUFA řady n-3. Vysoce významná negativní korelace mezi změnou hladiny beta-hydroxybutyrátu v séru a zastoupením kyseliny palmitolejové v PL, TG a CE může naznačovat vysokou míru  $\beta$ -oxidace v játrech. Avšak může taky indikovat nižší úroveň lipogeneze. Významné korelace změny hladiny beta-hydroxybutyrátu se změnou zastoupení kyseliny arachidonové (AA) ve všech lipidových třídách séra a zejména v PL byly demonstrovány poprvé. Zvýšení hladiny AA po redukčním režimu u obou skupin mohlo být způsobeno jejím vyšším uvolňováním z tukové tkáně. U lidí, Phinney et al. zjistil, že množství AA vzrostlo během VLCD a pokleslo po skončení ketogenní diety (318). U skupiny se suplementací PUFA řady n-3 byla patrná i tendence ke snížení hladiny fibrinogenu, což by odpovídalo popisovaným protizánětlivým účinkům PUFA řady n-3 (364).

Vedle vlivu PUFA řady n-3 na výsledek redukčního režimu je v řadě studií popisován i vliv zvýšeného příjmu vápníku. V naší studii jsme sledovali vliv podávání vápníku v denní dávce 500 mg a zjistili, že tato suplementace nevedla během krátkodobého redukčního k vyššímu poklesu tělesné hmotnosti režimu ve srovnání s kontrolní skupinou. Ve všech předchozích studiích byl vápník suplementován ve formě uhličitanu vápenatého, citrátu vápenatého nebo vázaný na citrát-malát. V naší studii byly pacientům podávány tablety připravené z mléka, které obsahovaly vápník ve formě fosforečnanu, citrátu a laktátu. Ve studii Zemela et al. je popisován rychlejší pokles hmotnosti a množství tuku při energetické restrikci u skupiny s vysokou spotřebou mléčných výrobků a skupinou s vápníkovou suplementací, ve srovnání se skupinou s nízkým příjmem mléčných výrobků (333). Nicméně nám se nepodařilo prokázat žádný významný rozdíl v redukci hmotnosti mezi skupinou suplementovanou 500 mg vápníku ve formě uhličitanu vápenatého a skupinou užívající tablety obsahující vápník mléčného původu. Nepotvrzení role vápníku v podpoře redukce hmotnosti v naší studii mohlo být dáno jednak kratší dobou sledování, podílet se mohla i výraznější restrikce energetického příjmu, která mohla převýšit účinky vápníku. Na druhou stranu proběhla i řada studií, ve kterých nebyl zaznamenán žádný efekt vápníkové suplementace ve

srovnání s placebem (365). Podařilo se nám však potvrdit protektivní vliv vápníku na pokles FFM, který byl popsán i v jiné studii (366). Vliv diet s vysokým příjmem vápníku z mléčných produktů sledoval i Zemel et al., který popsal nejen vyšší pokles množství tělesného tuku, ale také výrazně nižší pokles FFM oproti dietě s nízkým příjmem vápníku z mléčných produktů (29, 333, 367). Protektivní vliv mléčných produktů na FFM může být dán vysokým obsahem větvených aminokyselin v bílkovinách mléka. Předchozí studie prokázaly, že dieta s vyšším příjmem vápníku nebo vyšším příjmem mléčných produktů může snížit riziko rozvoje diabetu mellitu 2. typu (368, 369). Mezi mechanismy, které se podílejí na snižování rizika rozvoje diabetu, mohou být hormonální vlivy, které ovlivňují citlivost tkání k inzulínu (370, 371, 372). V naší studii jsme zaznamenali významný rozdíl ve změně hladiny resistinu mezi jedinci se suplementací vápníkem a užívajícími placebo.

V dalších dvou studiích jsme se zabývali vlivem polymorfismu Ala54Thr v genu pro FABP2. Tento polymorfismus je v literatuře zmiňován pro svůj možný vztah k rozvoji obezity a ovlivnění lipidového spektra. Výsledky naší pilotní studie ukazují u žen s mutací 54Thr FABP2 v obou alelách, po adjustaci na BMI a věk, nižší hodnotu BMI a množství hluboké SAAT. Po rozšíření sledovaného souboru jsme nám dále podařila prokázat významná asociace polymorfismu Thr54Thr s nižším množstvím jak TAAT, tak i s nižším množstvím SAAT a VAAT. Obdobné výsledky popsala ve své studii i Lara-Castro et al. u afroameričanek a indoevropanek, ve které mutace Thr54Thr významně korelovala s nižším množstvím TAAT i VAAT u indoevropanek po adjustaci na celkové množství tukové tkáně (373). Naopak u afroameričanek žádná významná korelace nalezena nebyla. V jiné studii Yamada et al. popisuje u mužů vyšší hodnoty VAAT měřené pomocí ultrazvuku u homozygotů Thr54Thr (374). Důvodem pro tyto rozdílné výsledky mohou být jednak rozdíly mezi jednotlivými etniky a samozřejmě i možné pohlavní rozdíly.

Předpokládá se, že změna v konfiguraci z FABP2 může vést ke změně v absorpci LCFA ze střeva (348, 349). FABP s 54Thr mutací vykazuje in vitro zvýšenou vazebnou afinitu k LCFA ve srovnání s 54Ala variantou. Ve studiích popisované vlivy mutace 54Thr jako je vyšší BMI, zvýšená hladina inzulínu, LDL cholesterolu, apoB a TG nalačno (349, 350, 351) se nám nepodařilo potvrdit. Obdobně negativní výsledky ve vztahu mutace 54Thr a obezity nebo inzulínové rezistence jsou však popisovány i v dalších studiích (375, 376).

Výsledky našich studií ukazují, že nutriční faktory mohou významným způsobem zasahovat do energetického, glukózového a lipidového metabolismu a ovlivňovat i úspěšnost redukčního režimu. Vedle nutričních faktorů se uplatňují i faktory genetické, jejichž vliv je však potřebné ověřit na rozsáhlejším souboru jedinců.

## 7. Citovaná literatura

1. **Gunstone FD, Harwood JL, Dijkstra AJ.** *Fatty Acid and Lipid Structure. In The Lipid Handbook, 3rd ed.* London : Taylor & Francis Group, 2007. str. 1–36.
2. **Nelson DL, Cox MM.** *Lipids. In Lehninger Principles of Biochemistry. 4th Edition.* New York : W.H. Freeman and Comp., 2004. str. 343–368.
3. **Tvrzická E, Staňková B, Vecka M, Žák A.** Mastné kyseliny: 1. Výskyt a biologický význam. *Cas Lek Cesk.* 2009, Sv. 148, str. 16–24.
4. **Nelson DL, Cox MM.** *Lipid biosynthesis. In Lehninger Principles of Biochemistry. 4th Edition.* New York : W.H. Freeman and Comp, 2004. str. 787–832.
5. **Garcia A, Olmo B, Lopez-Gonzalvez A, Cornejo L, Rupérez FJ, Barbas C.** Capillary electrophoresis for short chain organic acids in faeces. References values in a Mediterranean elderly population. *J Pharmaceut Biomed Anal.* 2008, Sv. 46, str. 356–361.
6. **Cummings JH, Macfarlane GT, Englyst HN.** Prebiotic digestion and fermentation. *Am J Clinic Nutr.* 2001, Sv. 73, str. 415S–420S.
7. **Macfarlane S, Macfarlane GT, Cummings JH.** Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006, Sv. 24, str. 701–714.
8. **Cook SI, Sellin JH.** Review article: short chain fatty acids in health and disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 1998, Sv. 12, str. 499–507.
9. **Sakata T.** Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *Br J Nutr.* 1987, Sv. 58, str. 95–103.
10. **Cummings JH.** Short-chain fatty acid enemas in the treatment of distal ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1997, Sv. 9, str. 149–153.
11. **Roediger WEW.** Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. *Gastroenterology.* 1982, Sv. 83, str. 424–429.
12. **Di Sabatino A, Morera R, Ciccocioppo R, Cazzola P, Gotti S, Tinozzi FP, Tinozzi S, Corazza GR.** Oral butyrate for mildly to moderately active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005, Sv. 22, str. 789–794.
13. **Reilly KJ, Rombeau JL.** Metabolism and potential clinical applications of short-chain fatty acids. *Clin Nutrition.* 1993, Sv. 12 (Suppl. 1), str. S97–S105.
14. **Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ.** Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol.* 2006, Sv. 40, str. 235–243.
15. **Tarini J, Wolever TM.** The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2010, Sv. 35, str. 9–16.
16. **Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI.** The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. 2004, Sv. 101, str. 15718–15723.
17. **Kersten S, Mandard S, Tan NS, Escher P, Metzger D, Chambon P, Gonzalez FJ, Desvergne B, Wahli W.** Characterization of the fasting-induced adipose factor FIAF, a novel peroxisome proliferator-activated receptor target gene. 2000, Sv. 275, str. 28488–28493.
18. **Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI.** An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. 2006, Sv. 444, str. 1027–1031.

19. **Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI.** Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. 2006, Sv. 444, str. 1022–1023.
20. **Babayán VK.** Medium chain triglycerides and structured lipids. *Lipids*. 1987, Sv. 22, str. 417–420.
21. **Bach AC, Babayan VK.** Medium-chain triglycerides: an update. *Am J Clin Nutr*. 1982, Sv. 36, str. 950–962.
22. **Lasekan JB, Rivera J, Hirvonen MD, Keeseey RE, Ney DM.** Energy expenditure in rats maintained with intravenous or intragastric infusion of total parenteral nutrition solutions containing medium- or long-chain triglyceride emulsions. *J Nutr*. 1992, Sv. 122, str. 1483–1492.
23. **Hill JO, Peters JC, Yang D, Sharp T, Kaler M, Abumrad NN, Greene HL.** Thermogenesis in humans during overfeeding with medium-chain triglycerides. *Metabolism*. 1989, Sv. 38, str. 641–648.
24. **White MD, Papamandjaris AA, Jones PJ.** Enhanced postprandial energy expenditure with medium-chain fatty acid feeding is attenuated after 14 d in premenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 1999, Sv. 69, str. 883–889.
25. **Hainer V, Kunešová M, Štich V, Žák A, Pařízková J.** Úloha olejů s obsahem triglyceridů s mastnými kyselinami o středním řetězci v dietní léčbě otylosti. Vliv na klidový energetický výdej a sérové lipidy. *Cas Lek Cesk*. 1994, Sv. 133, str. 373–375.
26. **Van Wymelbeke V, Louis-Sylvestre J, Fantino M.** Substrate oxidation and control of food intake in men after a fat-substitute meal compared with meals supplemented with an isoenergetic load of carbohydrate, long-chain triacylglycerols, or medium-chain triacylglycerols. *Am J Clin Nutr*. 2001, Sv. 74, str. 620–630.
27. **Kehayoglou K, Hadziyannis S, Kostamis P, Malamos B.** The effect of medium-chain triglyceride on 47 calcium absorption in patients with primary biliary cirrhosis. *Gut*. 1973, Sv. 14, str. 653–656.
28. **Tantibhedhyangkul P, Hashim SA.** Medium-chain triglyceride feeding in premature infants: effects on calcium and magnesium absorption. *Pediatrics*. 1978, Sv. 61, str. 537–545.
29. **Zemel MB, Richards J, Mathis S, Milstead A, Gebhardt L, Silva E.** Dairy augmentation of total and central fat loss in obese subjects. *Int J Obes (Lond)*. 2005, Sv. 29, str. 391–397.
30. **Grundy SM.** Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long-chain fatty acids. *Am J Clin Nutr*. 1994, Sv. 60, str. 986S–990S.
31. **Rioux V, Legrand P.** Saturated fatty acids: simple molecular structures with complex cellular functions. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007, Sv. 10, str. 752–758.
32. **Kromhout D, Bloemberg B, Feskens E, Menotti A, Nissinen A.** Saturated fat, vitamin C and smoking predict long-term population all-cause mortality rates in the Seven Countries Study. *Int J Epidemiol*. 2000, Sv. 29, str. 260–265.
33. **Wolfram G.** Dietary fatty acids and coronary heart disease. *Eur J Med Res*. 2003, Sv. 8, str. 321–324.
34. **Fernandez ML, West KL.** Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. *J Nutr*. 2005, Sv. 135, str. 2075–2078.
35. **Fernandez ML, McNamar DJ.** Dietary fat-mediated changes in hepatic apoprotein B/E receptor in the guinea pig: effect of polyunsaturated, monounsaturated, and saturated fat. *Metabolism*. 1989, Sv. 38, str. 1094–1102.
36. **Denke MA, Grundy SM.** Effects of fats high in stearic acid on lipid and lipoprotein concentrations in men. *Am J Clin Nutr*. 1991, Sv. 54, str. 1036–1040.

37. **Katan MB, Zock PL, Mensink RP.** Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. *Am J Clin Nutr.* 1994, Sv. 60, str. 1017S–1022S.
38. **Garg A, Bonanome A, Grundy SM, Zhang ZJ, Unger RH.** Comparison of a high-carbohydrate diet with a high-monounsaturated-fat diet in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1988, Sv. 319, str. 829–834.
39. **Thijssen MA, Hornstra G, Mensink RP.** Stearic, oleic, and linoleic acids have comparable effects on markers of thrombotic tendency in healthy human subjects. *J Nutr.* 2005, Sv. 135, str. 2805–2811.
40. **Kris-Etherton PM, Yu S.** Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr.* 1997, Sv. 65, str. 1628S–1644S.
41. **Due A, Larsen TM, Hermansen K, Stender S, Holst JJ, Toubro S, Martinussen T, Astrup A.** Comparison of the effects on insulin resistance and glucose tolerance of 6-mo high-monounsaturated-fat, low-fat, and control diets. *Am J Clin Nutr.* 2008, Sv. 87, str. 855–62.
42. **Tierney AC, Roche HM.** The potential role of olive oil-derived MUFA in insulin sensitivity. *Mol Nutr Food Res.* 2007, Sv. 51, str. 1235–1248.
43. **Ferrara LA, Raimondi AS, d'Episcopo L, Guida L, Dello Russo A, Marotta T.** Olive oil and reduced need for antihypertensive medications. *Arch Intern Med.* 2000, Sv. 160, str. 837–842.
44. **Lopez-Miranda J, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Jimenez-Gómez Y, Fuentes F, Ruano J, Marin C.** Olive oil and the haemostatic system. *Mol Nutr Food Res.* 2007, Sv. 51, str. 1249–1259.
45. **Ros E.** Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2003, Sv. 78, str. 617S–625S.
46. **Stender S, Dyerberg J.** Influence of trans fatty acids on health. *Ann Nutr Metab.* 2004, Sv. 48, str. 61–66.
47. **Willett WC, Stampfer MJ, Manson JE, Colditz GA, Speizer FE, Rosner BA, Sampson LA, Hennekens CH.** Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet.* 1993, Sv. 341, str. 581–585.
48. **Salmerón J, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Willett WC.** Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women. *Am J Clin Nutr.* 2001, Sv. 73, str. 1019–1026.
49. **Chardigny JM, Destailats F, Malpuech-Brugère C, Moulin J, Bauman DE, Lock AL, Barbano DM, Mensink RP, Bezelgues JB, Chaumont P, Combe N, Cristiani I, Joffre F, German JB, Dionisi F, Boirie Y, Sébédio JL.** Do trans fatty acids from industrially produced sources and from natural sources have the same effect on cardiovascular disease risk factors in healthy subjects? Results of the trans Fatty Acids Collaboration (TRANSFACT) study. *Am J Clin Nutr.* 2008, Sv. 87, str. 558–566.
50. **Lee JY, Carr TP.** Dietary fatty acids regulate acyl-CoA:cholesterol acyltransferase and cytosolic cholesteryl ester hydrolase in hamsters. *J Nutr.* 2004, Sv. 134, str. 3239–3244.
51. **Risérus U.** Fatty acids and insulin sensitivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2008, Sv. 11, str. 100–105.
52. —. Trans fatty acids and insulin resistance. *Atheroscler Suppl.* 2006, Sv. 7, str. 37–39.
53. **Hu FB, Manson JE, Willett WC.** Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *J Am Coll Nutr.* 2001, Sv. 20, str. 5–19.
54. **Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, Rimm EB.** Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr.* 2004, Sv. 79, str. 606–612.

55. **Lopez-Garcia E, Schulze MB, Meigs JB, Manson JE, Rifai N, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB.** Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *J Nutr.* 2005, Sv. 135, str. 562–566.
56. **Griinari JM, Corl BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KV, Bauman DE.** Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase. *J Nutr.* 2000, Sv. 130, str. 2285–2291.
57. **Lin H, Boylston TD, Chang MJ, Luedecke LO, Shultz TD.** Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. *J Dairy Sci.* 1995, Sv. 78, str. 2358–2365.
58. **Wang Y, Jones PJ.** Dietary conjugated linoleic acid and body composition. *Am J Clin Nutr.* 2004, Sv. 79, str. 1153S–1158S.
59. **Lee JH, O'Keefe JH, Lavie CJ, Marchioli R, Harris WS.** Omega-3 fatty acids for cardioprotection. *Mayo Clin Proc.* 2008, Sv. 83, str. 324–332.
60. **Das UN.** Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnol J.* 2006, Sv. 1, str. 420–439.
61. **Coetzer H, Claassen N, van Papendorp DH, Kruger MC.** Calcium transport by isolated brush border and basolateral membrane vesicles: role of essential fatty acid supplementation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1994, Sv. 50, str. 257–266.
62. **Torrejon C, Jung UJ, Deckelbaum RJ.** n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: actions and molecular mechanisms. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2007, Sv. 77, str. 319–326.
63. **Pilch PF, Thompson PA, Czech MP.** Coordinate modulation of D-glucose transport activity and bilayer fluidity in plasma membranes derived from control and insulin-treated adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980, Sv. 77, str. 915–918.
64. **Elmendorf, JS.** Fluidity of insulin action. *Mol Biotechnol.* 2004, Sv. 27, str. 127–138.
65. **Jump DB, Botolin D, Wang Y, Xu J, Christian B, Demeure O.** Fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *J Nutr.* 2005, Sv. 135, str. 2503–2506.
66. **Grimaldi PA.** Fatty acid regulation of gene expression. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001, Sv. 4, str. 433–437.
67. **Jump DB.** N-3 polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Curr Opin Lipidol.* 2008, Sv. 19, str. 242–247.
68. **Desvergne B, Michalik L, Wahli W.** Transcriptional regulation of metabolism. *Physiol Rev.* 2006, Sv. 86, str. 465–514.
69. **Horton JD, Goldstein JL, Brown MS.** SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest.* 2002, Sv. 109, str. 1125–1131.
70. **Brown MS, Goldstein JL.** The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell.* 1997, Sv. 89, str. 331–340.
71. **Horton JD, Shimomura I.** Sterol regulatory element-binding proteins: activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis. *Curr Opin Lipidol.* 1999, Sv. 10, str. 143–150.
72. **Hua X, Yokoyama C, Wu J, Briggs MR, Brown MS, Goldstein JL, Wang X.** SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol regulatory element. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993, Sv. 90, str. 11603–11607.
73. **Sundqvist A, Ericsson J.** Transcription-dependent degradation controls the stability of the SREBP family of transcription factors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003, Sv. 100, str. 13833–13838.
74. **Bengoechea-Alonso MT, Ericsson J.** SREBP in signal transduction: cholesterol metabolism and beyond. *Curr Opin Cell Biol.* 2007, Sv. 19, str. 215–222.

75. **Moon YA, Shah NA, Mohapatra S, Warrington JA, Horton JD.** Identification of a mammalian long chain fatty acyl elongase regulated by sterol regulatory element-binding proteins. *J Biol Chem.* 2001, Sv. 276, str. 45358–45366.
76. **Edwards PA, Tabor D, Kast HR, Venkateswaran A.** Regulation of gene expression by SREBP and SCAP. *Biochim Biophys Acta.* 2000, Sv. 1529, str. 103–113.
77. **Brown MS, Goldstein JL.** Cholesterol feedback: from Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL. *J Lipid Res.* 2009, Sv. 50 Suppl, str. S15–S27.
78. **Ferré P, Foufelle F.** Hepatic steatosis: a role for de novo lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c. *Diabetes Obes Metab.* 2010, Sv. 12 Suppl 2, str. 83–92.
79. **Goldstein JL, DeBose-Boyd RA, Brown MS.** Protein sensors for membrane sterols. *Cell.* 2006, Sv. 124, str. 35–46.
80. **Janowski BA.** The hypocholesterolemic agent LY295427 up-regulates INSIG-1, identifying the INSIG-1 protein as a mediator of cholesterol homeostasis through SREBP. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002, Sv. 99, str. 12657–12680.
81. **Yabe D, Brown MS, Goldstein JL.** Insig-2, a second endoplasmic reticulum protein that binds SCAP and blocks export of sterol regulatory element-binding proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002, Sv. 99, str. 12753–12758.
82. **Yabe D, Komuro R, Liang G, Goldstein JL, Brown MS.** Liver-specific mRNA for Insig-2 down-regulated by insulin: implications for fatty acid synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003, Sv. 100, str. 3155–3160.
83. **Yellaturu CR, Deng X, Cagen LM, Wilcox HG, Mansbach CM 2nd, Siddiqi SA, Park EA, Raghov R, Elam MB.** Insulin enhances post-translational processing of nascent SREBP-1c by promoting its phosphorylation and association with COPII vesicles. *J Biol Chem.* 2009, Sv. 284, str. 7518–7532.
84. **Yellaturu CR, Deng X, Park EA, Raghov R, Elam MB.** Insulin enhances the biogenesis of nuclear sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1c by posttranscriptional down-regulation of Insig-2A and its dissociation from SREBP cleavage-activating protein (SCAP).SREBP-1c complex. *J Biol Chem.* 2009, Sv. 284, str. 31726–31734.
85. **Shimomura I, Matsuda M, Hammer RE, Bashmakov Y, Brown MS, Goldstein JL.** Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. *Mol Cell.* 2000, Sv. 6, str. 77–86.
86. **Horton JD, Bashmakov Y, Shimomura I, Shimano H.** Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refed mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998, Sv. 95, str. 5987–5992.
87. **Iynedjian PB, Marie S, Gjinovci A, Genin B, Deng SP, Buhler L, Morel P, Mentha G.** Glucokinase and cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) in the human liver. Regulation of gene expression in cultured hepatocytes. *J Clin Invest.* 1995, Sv. 95, str. 1966–1973.
88. **Beale E, Andreone T, Koch S, Granner M, Granner D.** Insulin and glucagon regulate cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) mRNA in rat liver. *Diabetes.* 1984, Sv. 33, str. 328–332.
89. **Bécard D, Hainault I, Azzout-Marniche D, Bertry-Coussot L, Ferré P, Foufelle F.** Adenovirus-mediated overexpression of sterol regulatory element binding protein-1c mimics insulin effects on hepatic gene expression and glucose homeostasis in diabetic mice. *Diabetes.* 2001, Sv. 50, str. 2425–2430.
90. **Repa JJ, Mangelsdorf DJ.** The role of orphan nuclear receptors in the regulation of cholesterol homeostasis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2000, Sv. 16, str. 459–481.



91. **Repa JJ, Liang G, Ou J, Bashmakov Y, Lobaccaro JM, Shimomura I, Shan B, Brown MS, Goldstein JL, Mangelsdorf DJ.** Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta. *Genes Dev.* 2000, Sv. 14, str. 2819–2830.
92. **DeBose-Boyd RA, Ou J, Goldstein JL, Brown MS.** Expression of sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP-1c) mRNA in rat hepatoma cells requires endogenous LXR ligands. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001, Sv. 98, str. 1477–1482.
93. **Schultz JR, Tu H, Luk A, Repa JJ, Medina JC, Li L, Schwendner S, Wang S, Thoolen M, Mangelsdorf DJ, Lustig KD, Shan B.** Role of LXRs in control of lipogenesis. *Genes Dev.* 2000, Sv. 14, str. 2831–2838.
94. **Peet DJ, Turley SD, Ma W, Janowski BA, Lobaccaro JM, Hammer RE, Mangelsdorf DJ.** Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR alpha. *Cell.* 1998, Sv. 93, str. 693–704.
95. **Repa JJ, Turley SD, Lobaccaro JA, Medina J, Li L, Lustig K, Shan B, Heyman RA, Dietschy JM, Mangelsdorf DJ.** Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science.* 2000, Sv. 289, str. 1524–1529.
96. **Tabor DE, Kim JB, Spiegelman BM, Edwards PA.** Identification of conserved cis-elements and transcription factors required for sterol-regulated transcription of stearoyl-CoA desaturase 1 and 2. *J Biol Chem.* 1999, Sv. 274, str. 20603–20610.
97. **Xu J, Nakamura MT, Cho HP, Clarke SD.** Sterol regulatory element binding protein-1 expression is suppressed by dietary polyunsaturated fatty acids. A mechanism for the coordinate suppression of lipogenic genes by polyunsaturated fats. *J Biol Chem.* 1999, Sv. 274, str. 23577–23583.
98. **Nakatani T, Kim HJ, Kaburagi Y, Yasuda K, Ezaki O.** A low fish oil inhibits SREBP-1 proteolytic cascade, while a high-fish-oil feeding decreases SREBP-1 mRNA in mice liver: relationship to anti-obesity. *J Lipid Res.* 2003, Sv. 44, str. 369–379.
99. **Ou J, Tu H, Shan B, Luk A, DeBose-Boyd RA, Bashmakov Y, Goldstein JL, Brown MS.** Unsaturated fatty acids inhibit transcription of the sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) gene by antagonizing ligand-dependent activation of the LXR. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001, Sv. 98, str. 6027–6032.
100. **Xu J, Teran-Garcia M, Park JH, Nakamura MT, Clarke SD.** Polyunsaturated fatty acids suppress hepatic sterol regulatory element-binding protein-1 expression by accelerating transcript decay. *J Biol Chem.* 2001, Sv. 276, str. 9800–9807.
101. **Liang G, Yang J, Horton JD, Hammer RE, Goldstein JL, Brown MS.** Diminished hepatic response to fasting/refeeding and liver X receptor agonists in mice with selective deficiency of sterol regulatory element-binding protein-1c. *J Biol Chem.* 2002, Sv. 277, str. 9520–9528.
102. **Foretz M, Guichard C, Ferré P, Foufelle F.** Sterol regulatory element binding protein-1c is a major mediator of insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999, Sv. 96, str. 12737–12742.
103. **Dentin R, Girard J, Postic C.** Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c): two key regulators of glucose metabolism and lipid synthesis in liver. *Biochimie.* 2005, Sv. 87, str. 81–86.
104. **Dentin R, Pégrier JP, Benhamed F, Foufelle F, Ferré P, Fauveau V, Magnuson MA, Girard J, Postic C.** Hepatic glucokinase is required for the synergistic action of ChREBP and SREBP-1c on glycolytic and lipogenic gene expression. *J Biol Chem.* 2004, Sv. 279, str. 20314–20326.

105. **Iizuka K, Bruick RK, Liang G, Horton JD, Uyeda K.** Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004, Sv. 101, str. 7281–7286.
106. **Kawaguchi T, Takenoshita M, Kabashima T, Uyeda K.** Glucose and cAMP regulate the L-type pyruvate kinase gene by phosphorylation/dephosphorylation of the carbohydrate response element binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001, Sv. 98, str. 13710–13715.
107. **Kabashima T, Kawaguchi T, Wadzinski BE, Uyeda K.** Xylulose 5-phosphate mediates glucose-induced lipogenesis by xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase in rat liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003, Sv. 100, str. 5107–5112.
108. **Li MV, Chang B, Imamura M, Pongvarin N, Chan L.** Glucose-dependent transcriptional regulation by an evolutionarily conserved glucose-sensing module. *Diabetes.* 2006, Sv. 55, str. 1179–1189.
109. **Foretz M, Pacot C, Dugail I, Lemarchand P, Guichard C, Le Lièvre X, Berthelie-Lubrano C, Spiegelman B, Kim JB, Ferré P, Foufelle F.** ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. *Mol Cell Biol.* 1999, Sv. 19, str. 3760–3768.
110. **Kim JB, Sarraf P, Wright M, Yao KM, Mueller E, Solanes G, Lowell BB, Spiegelman BM.** Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J Clin Invest.* 1998, Sv. 101, str. 1–9.
111. **Clarke SD, Baillie R, Jump DB, Nakamura MT.** Fatty acid regulation of gene expression. Its role in fuel partitioning and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci.* 1997, Sv. 827, str. 178–187.
112. **Carpentier YA, Portois L, Malaisse WJ.** N-3 fatty acids and the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2006, Sv. 83, Suppl.6, str. 1499S–1504S.
113. **Storlien LH, Kraegen EW, Chisholm DJ, Ford GL, Bruce DG, Pascoe WS.** Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats. *Science.* 1987, Sv. 237, str. 885–888.
114. **Power GW, Newsholme EA.** Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle. *J Nutr.* 1997, Sv. 127, str. 2142–2150.
115. **Baillie RA, Takada R, Nakamura M, Clarke SD.** Coordinate induction of peroxisomal acyl-CoA oxidase and UCP-3 by dietary fish oil: a mechanism for decreased body fat deposition. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1999, Sv. 60, str. 351–356.
116. **Clarke SD.** The multi-dimensional regulation of gene expression by fatty acids: polyunsaturated fats as nutrient sensors. *Curr Opin Lipidol.* 2004, Sv. 15, str. 13–18.
117. **Salati LM, Szeszel-Fedorowicz W, Tao H, Gibson MA, Amir-Ahmady B, Stabile LP, Hodge DL.** Nutritional regulation of mRNA processing. *J Nutr.* 2004, Sv. 134, str. 2437S–2443S.
118. **Dentin R, Benhamed F, Pégorier JP, Foufelle F, Viollet B, Vaulont S, Girard J, Postic C.** Polyunsaturated fatty acids suppress glycolytic and lipogenic genes through the inhibition of ChREBP nuclear protein translocation. *J Clin Invest.* 2005, Sv. 115, str. 2843–2854.
119. **Okuno A, Tamemoto H, Tobe K, Ueki K, Mori Y, Iwamoto K, Umesono K, Akanuma Y, Fujiwara T, Horikoshi H, Yazaki Y, Kadowaki T.** Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. *J Clin Invest.* 1998, Sv. 101, str. 1354–1361.
120. **Patsouris D, Reddy JK, Müller M, Kersten S.** Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the effects of high-fat diet on hepatic gene expression. *Endocrinology.* 2006, Sv. 147, str. 1508–1516.

121. **Wan Y, Chong LW, Evans RM.** PPAR-gamma regulates osteoclastogenesis in mice. *Nat Med.* 2007, Sv. 13, str. 1496–1503.
122. **Michalik L, Auwerx J, Berger JP, Chatterjee VK, Glass CK, Gonzalez FJ, Grimaldi PA, Kadowaki T, Lazar MA, O'Rahilly S, Palmer CN, Plutzky J, Reddy JK, Spiegelman BM, Staels B, Wahli W.** International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol Rev.* 2006, Sv. 58, str. 726–741.
123. **Hansen JB, Zhang H, Rasmussen TH, Petersen RK, Flindt EN, Kristiansen K.** Peroxisome proliferator-activated receptor delta (PPARdelta)-mediated regulation of preadipocyte proliferation and gene expression is dependent on cAMP signaling. *J Biol Chem.* 2001, Sv. 276, str. 3175–3182.
124. **Schuler M, Ali F, Chambon C, Duteil D, Bornert JM, Tardivel A, Desvergne B, Wahli W, Chambon P, Metzger D.** PGC1alpha expression is controlled in skeletal muscles by PPARbeta, whose ablation results in fiber-type switching, obesity, and type 2 diabetes. *Cell Metab.* 2006, Sv. 4, str. 407–414.
125. **Oliver WR Jr, Shenk JL, Snaith MR, Russell CS, Plunket KD, Bodkin NL, Lewis MC, Winegar DA, Sznajdman ML, Lambert MH, Xu HE, Sternbach DD, Kliewer SA, Hansen BC, Willson TM.** A selective peroxisome proliferator-activated receptor delta agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001, Sv. 98, str. 5306–5311.
126. **Schoonjans K, Watanabe M, Suzuki H, Mahfoudi A, Krey G, Wahli W, Grimaldi P, Staels B, Yamamoto T, Auwerx J.** Induction of the acyl-coenzyme A synthetase gene by fibrates and fatty acids is mediated by a peroxisome proliferator response element in the C promoter. *J Biol Chem.* 1995, Sv. 270, str. 19269–19276.
127. **Zhang B, Marcus SL, Sajjadi FG, Alvares K, Reddy JK, Subramani S, Rachubinski RA, Capone JP.** Identification of a peroxisome proliferator-responsive element upstream of the gene encoding rat peroxisomal enoyl-CoA hydratase/3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992, Sv. 89, str. 7541–7545.
128. **Lee SS, Pineau T, Drago J, Lee EJ, Owens JW, Kroetz DL, Fernandez-Salguero PM, Westphal H, Gonzalez FJ.** Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. *Mol Cell Biol.* 1995, Sv. 15, str. 3012–3022.
129. **Brown JD, Plutzky J.** Peroxisome proliferator-activated receptors as transcriptional nodal points and therapeutic targets. *Circulation.* 2007, Sv. 115, str. 518–533.
130. **Li LO, Ellis JM, Paich HA, Wang S, Gong N, Altshuller G, Thresher RJ, Koves TR, Watkins SM, Muoio DM, Cline GW, Shulman GI, Coleman RA.** Liver-specific loss of long chain acyl-CoA synthetase-1 decreases triacylglycerol synthesis and beta-oxidation and alters phospholipid fatty acid composition. *J Biol Chem.* 2009, Sv. 284, str. 27816–27826.
131. **Hostetler HA, Petrescu AD, Kier AB, Schroeder F.** Peroxisome proliferator-activated receptor alpha interacts with high affinity and is conformationally responsive to endogenous ligands. *J Biol Chem.* 2005, Sv. 280, str. 18667–18682.
132. **Krey G, Braissant O, L'Horsset F, Kalkhoven E, Perroud M, Parker MG, Wahli W.** Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Mol Endocrinol.* 1997, Sv. 11, str. 779–791.
133. **Chakravarthy MV, Lodhi IJ, Yin L, Malapaka RR, Xu HE, Turk J, Semenkovich CF.** Identification of a physiologically relevant endogenous ligand for PPARalpha in liver. *Cell.* 2009, Sv. 138, str. 476–488.

134. **Zomer AW, van Der Burg B, Jansen GA, Wanders RJ, Poll-The BT, van Der Saag PT.** Pristanic acid and phytanic acid: naturally occurring ligands for the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J Lipid Res.* 2000, Sv. 41, str. 1801–1807.
135. **Lemberger T, Saladin R, Vázquez M, Assimacopoulos F, Staels B, Desvergne B, Wahli W, Auwerx J.** Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene is stimulated by stress and follows a diurnal rhythm. *J Biol Chem.* 1996, Sv. 271, str. 1764–1769.
136. **Crisafulli C, Bruscoli S, Esposito E, Mazzon E, Di Paola R, Genovese T, Bramanti P, Migliorati G, Cuzzocrea S.** PPAR-alpha contributes to the anti-inflammatory activity of 17beta-estradiol. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009, Sv. 331, str. 796–807.
137. **Kersten S, Seydoux J, Peters JM, Gonzalez FJ, Desvergne B, Wahli W.** Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. *J Clin Invest.* 1999, Sv. 103, str. 1489–1498.
138. **Ide T, Shimano H, Yoshikawa T, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Matsuzaka T, Nakakuki M, Yatoh S, Iizuka Y, Tomita S, Ohashi K, Takahashi A, Sone H, Gotoda T, Osuga J, Ishibashi S, Yamada N.** Cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and liver X receptor (LXR) in nutritional regulation of fatty acid metabolism. II. LXRs suppress lipid degradation gene promoters through inhibition of PPAR signaling. *Mol Endocrinol.* 2003, Sv. 17, str. 1255–1267.
139. **Yoshikawa T, Shimano H, Yahagi N, Ide T, Amemiya-Kudo M, Matsuzaka T, Nakakuki M, Tomita S, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Takahashi A, Sone H, Osuga Ji J, Gotoda T, Ishibashi S, Yamada N.** Polyunsaturated fatty acids suppress sterol regulatory element-binding protein 1c promoter activity by inhibition of liver X receptor (LXR) binding to LXR response elements. *J Biol Chem.* 2002, Sv. 277, str. 1705–1711.
140. **Wakutsu M, Tsunoda N, Shiba S, Muraki E, Kasono K.** Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs)-independent functions of fish oil on glucose and lipid metabolism in diet-induced obese mice. *Lipids Health Dis.* 2010, Sv. 9:101.
141. **Yoshikawa T, Ide T, Shimano H, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Matsuzaka T, Yatoh S, Kitamine T, Okazaki H, Tamura Y, Sekiya M, Takahashi A, Hasty AH, Sato R, Sone H, Osuga J, Ishibashi S, Yamada N.** Cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and liver X receptor (LXR) in nutritional regulation of fatty acid metabolism. I. PPARs suppress sterol regulatory element binding protein-1c promoter through inhibition of LXR sig. *Mol Endocrinol.* 2003, Sv. 17, str. 1240–1254.
142. **Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Lefebvre AM, Heyman RA, Briggs M, Deeb S, Staels B, Auwerx J.** PPARalpha and PPARgamma activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPRE in the lipoprotein lipase gene. *EMBO J.* 1996, Sv. 15, str. 5336–5348.
143. **Motojima K, Passilly P, Peters JM, Gonzalez FJ, Latruffe N.** Expression of putative fatty acid transporter genes are regulated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma activators in a tissue- and inducer-specific manner. *J Biol Chem.* 1998, Sv. 273, str. 16710–16714.
144. **Issemann I, Prince R, Tugwood J, Green S.** A role for fatty acids and liver fatty acid binding protein in peroxisome proliferation? *Biochem Soc Trans.* 1992, Sv. 20, str. 824–827.
145. **Nakamura MT, Cho HP, Clarke SD.** Regulation of hepatic delta-6 desaturase expression and its role in the polyunsaturated fatty acid inhibition of fatty acid synthase gene expression in mice. *J Nutr.* 2000, Sv. 130, str. 1561–1565.
146. **Harris WS.** n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr.* 1997, Sv. 65, str. 1645S–1654S.

147. **Maki KC, Van Elswyk ME, McCarthy D, Hess SP, Veith PE, Bell M, Subbaiah P, Davidson MH.** Lipid responses to a dietary docosahexaenoic acid supplement in men and women with below average levels of high density lipoprotein cholesterol. *J Am Coll Nutr.* 2005, Sv. 24, str. 189–199.
148. **Park Y, Harris WS.** Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. *J Lipid Res.* 2003, Sv. 44, str. 455–463.
149. **Pégorier JP, Le May C, Girard J.** Control of gene expression by fatty acids. *J Nutr.* 2004, Sv. 134, str. 2444S–2449S.
150. **Davidson MH.** Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol.* 2006, Sv. 98, str. 27i–33i.
151. **Jump DB.** The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem.* 2002, Sv. 277, str. 8755–8758.
152. **Clarke SD.** Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *J Nutr.* 2001, Sv. 131, str. 1129–1132.
153. **Worgall TS, Sturley SL, Seo T, Osborne TF, Deckelbaum RJ.** Polyunsaturated fatty acids decrease expression of promoters with sterol regulatory elements by decreasing levels of mature sterol regulatory element-binding protein. *J Biol Chem.* 1998, Sv. 273, str. 25537–25540.
154. **Pawar A, Botolin D, Mangelsdorf DJ, Jump DB.** The role of liver X receptor-alpha in the fatty acid regulation of hepatic gene expression. *J Biol Chem.* 2003, Sv. 278, str. 40736–40743.
155. **Sladek FM, Zhong WM, Lai E, Darnell JE.** Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily. *Genes Dev.* 1990, Sv. 4, str. 2353–2365.
156. **Drewes T, Senkel S, Holewa B, Ryffel GU.** Human hepatocyte nuclear factor 4 isoforms are encoded by distinct and differentially expressed genes. *Mol Cell Biol.* 1996, Sv. 16, str. 925–931.
157. **Diaz Guerra MJ, Bergot MO, Martinez A, Cuif MH, Kahn A, Raymondjean M.** Functional characterization of the L-type pyruvate kinase gene glucose response complex. *Mol Cell Biol.* 1993, Sv. 13, str. 7725–7733.
158. **Hayhurst GP, Lee YH, Lambert G, Ward JM, Gonzalez FJ.** Hepatocyte nuclear factor 4alpha (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol Cell Biol.* 2001, Sv. 21, str. 1393–1403.
159. **Pan M, Cederbaum AI, Zhang YL, Ginsberg HN, Williams KJ, Fisher EA.** Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. *J Clin Invest.* 2004, Sv. 113, str. 1277–1278.
160. **Shelness GS, Sellers JA.** Very-low-density lipoprotein assembly and secretion. *Curr Opin Lipidol.* 2001, Sv. 12, str. 151–157.
161. **Phung TL, Roncone A, Jensen KL, Sparks CE, Sparks JD.** Phosphoinositide 3-kinase activity is necessary for insulin-dependent inhibition of apolipoprotein B secretion by rat hepatocytes and localizes to the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem.* 1997, Sv. 272, str. 30693–30702.
162. **Avramoglu RK, Qiu W, Adeli K.** Mechanisms of metabolic dyslipidemia in insulin resistant states: deregulation of hepatic and intestinal lipoprotein secretion. *Front Biosci.* 2003, Sv. 8, str. D464–D476.
163. **Yao ZM, Vance DE.** Reduction in VLDL, but not HDL, in plasma of rats deficient in choline. *Biochem Cell Biol.* 1990, Sv. 68, str. 552–558.

164. **Fisher EA, Pan M, Chen X, Wu X, Wang H, Jamil H, Sparks JD, Williams KJ.** The triple threat to nascent apolipoprotein B. Evidence for multiple, distinct degradative pathways. *J Biol Chem.* 2001, Sv. 276, str. 27855–27863.
165. **Kummrow E, Hussain MM, Pan M, Marsh JB, Fisher EA.** Myristic acid increases dense lipoprotein secretion by inhibiting apoB degradation and triglyceride recruitment. *J Lipid Res.* 2002, Sv. 43, str. 2155–2163.
166. **Hu ML, Frankel EN, Leibovitz BE, Tappel AL.** Effect of dietary lipids and vitamin E on in vitro lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J Nutr.* 1989, Sv. 119, str. 1574–1582.
167. **Mead JF.** Membrane lipid peroxidation and its prevention. *J Am Oil Chem Soc.* 1980, Sv. 57, str. 393–397.
168. **Nilsson A, Hjelte L, Strandvik B.** Incorporation of dietary [<sup>14</sup>C]arachidonic acid and [<sup>3</sup>H]eicosapentaenoic acid into tissue lipids during absorption of a fish oil emulsion. *J Lipid Res.* 1992, Sv. 33, str. 1295–1305.
169. **Fritsche KL, Johnston PV.** Rapid autoxidation of fish oil in diets without added antioxidants. *J Nutr.* 1988, Sv. 118, str. 425–426.
170. **Yeldandi AV, Rao MS, Reddy JK.** Hydrogen peroxide generation in peroxisome proliferator-induced oncogenesis. *Mutat Res.* 2000, Sv. 448, str. 159–177.
171. **Heart Protection Study Collaborative Group.** MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2002, Sv. 360, str. 23–33.
172. **Nestel PJ.** Effects of N-3 fatty acids on lipid metabolism. *Annu Rev Nutr.* 1990, Sv. 10, str. 149–167.
173. **Parrish CC, Pathy DA, Parkes JG, Angel A.** Dietary fish oils modify adipocyte structure and function. *J Cell Physiol.* 1991, Sv. 148, str. 493–502.
174. **Eritsland J, Arnesen H, Seljeflot I, Høstmark AT.** Long-term metabolic effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with coronary artery disease. *Am J Clin Nutr.* 1995, Sv. 61, str. 831–836.
175. **Calabresi L, Donati D, Pazzucconi F, Sirtori CR, Franceschini G.** Omacor in familial combined hyperlipidemia: effects on lipids and low density lipoprotein subclasses. *Atherosclerosis.* 2000, Sv. 148, str. 387–396.
176. **Kato T, Shimano H, Yamamoto T, Ishikawa M, Kumadaki S, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Yahagi N, Nakakuki M, Hasty AH, Takeuchi Y, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Suzuki H, Sone H, Yamada N.** Palmitate impairs and eicosapentaenoate restores insulin secretion through regulation of SREBP-1c in pancreatic islets. *Diabetes.* 2008, Sv. 57, str. 2382–2392.
177. **Kulkarni RN, Brüning JC, Winnay JN, Postic C, Magnuson MA, Kahn CR.** Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell.* 1999, Sv. 96, str. 329–339.
178. **Lee Y, Ravazzola M, Park BH, Bashmakov YK, Orci L, Unger RH.** Metabolic mechanisms of failure of intraportally transplanted pancreatic beta-cells in rats: role of lipotoxicity and prevention by leptin. *Diabetes.* 2007, Sv. 56, str. 2295–2301.
179. **Bergman RN, Ader M.** Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Trends Endocrinol Metab.* 2000, Sv. 11, str. 351–356.
180. **Lameloise N, Muzzin P, Prentki M, Assimacopoulos-Jeannet F.** Uncoupling protein 2: a possible link between fatty acid excess and impaired glucose-induced insulin secretion? *Diabetes.* 2001, Sv. 50, str. 803–809.

181. **Zhang CY, Baffy G, Perret P, Krauss S, Peroni O, Grujic D, Hagen T, Vidal-Puig AJ, Boss O, Kim YB, Zheng XX, Wheeler MB, Shulman GI, Chan CB, Lowell BB.** Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell*. 2001, Sv. 105, str. 745–755.
182. **Winzell MS, Svensson H, Enerbäck S, Ravnskjaer K, Mandrup S, Esser V, Arner P, Alves-Guerra MC, Miroux B, Sundler F, Ahrén B, Holm C.** Pancreatic beta-cell lipotoxicity induced by overexpression of hormone-sensitive lipase. *Diabetes*. 2003, Sv. 52, str. 2057–2065.
183. **Takahashi A, Motomura K, Kato T, Yoshikawa T, Nakagawa Y, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Toyoshima H, Yamada N, Shimano H.** Transgenic mice overexpressing nuclear SREBP-1c in pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 2005, Sv. 54, str. 492–494.
184. **Chan CB, De Leo D, Joseph JW, McQuaid TS, Ha XF, Xu F, Tsushima RG, Pennefather PS, Salapatek AM, Wheeler MB.** Increased uncoupling protein-2 levels in beta-cells are associated with impaired glucose-stimulated insulin secretion: mechanism of action. *Diabetes*. 2001, Sv. 50, str. 1302–1310.
185. **Ashcroft FM, Gribble FM.** ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels and insulin secretion: their role in health and disease. *Diabetologia*. 1999, Sv. 42, str. 903–919.
186. **Matschinsky FM, Glaser B, Magnuson MA.** Pancreatic beta-cell glucokinase: closing the gap between theoretical concepts and experimental realities. *Diabetes*. 1998, Sv. 47, str. 307–315.
187. **Gembal M, Detimary P, Gilon P, Gao ZY, Henquin JC.** Mechanisms by which glucose can control insulin release independently from its action on adenosine triphosphate-sensitive K<sup>+</sup> channels in mouse B cells. *J Clin Invest*. 1993, Sv. 91, str. 871–880.
188. **Yamashita T, Eto K, Okazaki Y, Yamashita S, Yamauchi T, Sekine N, Nagai R, Noda M, Kadowaki T.** Role of uncoupling protein-2 up-regulation and triglyceride accumulation in impaired glucose-stimulated insulin secretion in a beta-cell lipotoxicity model overexpressing sterol regulatory element-binding protein-1c. *Endocrinology*. 2004, Sv. 145, str. 3566–3577.
189. **Ide T, Shimano H, Yahagi N, Matsuzaka T, Nakakuki M, Yamamoto T, Nakagawa Y, Takahashi A, Suzuki H, Sone H, Toyoshima H, Fukamizu A, Yamada N.** SREBPs suppress IRS-2-mediated insulin signalling in the liver. *Nat Cell Biol*. 2004, Sv. 6, str. 351–357.
190. **Kato T, Shimano H, Yamamoto T, Yokoo T, Endo Y, Ishikawa M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Kumadaki S, Yahagi N, Takahashi A, Sone H, Suzuki H, Toyoshima H, Hasty AH, Takahashi S, Gomi H, Izumi T, Yamada N.** Granuphilin is activated by SREBP-1c and involved in impaired insulin secretion in diabetic mice. *Cell Metab*. 2006, Sv. 4, str. 143–154.
191. **Newsholme P, Keane D, Welters HJ, Morgan NG.** Life and death decisions of the pancreatic beta-cell: the role of fatty acids. *Clin Sci (Lond)*. 2007, Sv. 112, str. 27–42.
192. **Boden G, Shulman GI.** Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest*. 2002, Sv. 32 Suppl 3, str. 14–23.
193. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001, Sv. 285, str. 2486–2497.
194. **Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT.** The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002, Sv. 288, str. 2709–2716.
195. **Weintraub MS, Zechner R, Brown A, Eisenberg S, Breslow JL.** Dietary polyunsaturated fats of the W-6 and W-3 series reduce postprandial lipoprotein levels. Chronic and acute effects

of fat saturation on postprandial lipoprotein metabolism. *J Clin Invest.* 1988, Sv. 82, str. 1884–1893.

196. **Laakso M.** Gene variants, insulin resistance, and dyslipidaemia. *Curr Opin Lipidol.* 2004, Sv. 15, str. 115–120.

197. **Simonen PP, Gylling H, Miettinen TA.** Body weight modulates cholesterol metabolism in non-insulin dependent type 2 diabetics. *Obes Res.* 2002, Sv. 10, str. 328–335.

198. **Ginsberg HN, Zhang YL, Hernandez-Ono A.** Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Arch Med Res.* 2005, Sv. 36, str. 232–240.

199. **Woodman RJ, Mori TA, Burke V, Puddey IB, Barden A, Watts GF, Beilin LJ.** Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. *Am J Clin Nutr.* 2002, Sv. 76, str. 1007–1015.

200. **Nestel PJ, Connor WE, Reardon MF, Connor S, Wong S, Boston R.** Suppression by diets rich in fish oil of very low density lipoprotein production in man. *J Clin Invest.* 1984, Sv. 74, str. 82–89.

201. **Seo T, Blaner WS, Deckelbaum RJ.** Omega-3 fatty acids: molecular approaches to optimal biological outcomes. *Curr Opin Lipidol.* 2005, Sv. 16, str. 11–18.

202. **Perez-Martinez P, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J.** N-3 PUFA and lipotoxicity. *Biochim Biophys Acta.* 2010, Sv. 1801, str. 362–366.

203. **Mori TA, Woodman RJ.** The independent effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular risk factors in humans. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006, Sv. 9, str. 95–104.

204. **Chan DC, Watts GF, Barrett PH, Beilin LJ, Redgrave TG, Mori TA.** Regulatory effects of HMG CoA reductase inhibitor and fish oils on apolipoprotein B-100 kinetics in insulin-resistant obese male subjects with dyslipidemia. *Diabetes.* 2002, Sv. 51, str. 2377–2386.

205. **Van Horn LV, Ballew C, Liu K, Ruth K, McDonald A, Hilner JE, Burke GL, Savage PJ, Bragg C, Caan B, et al.** Diet, body size, and plasma lipids-lipoproteins in young adults: differences by race and sex. The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *Am J Epidemiol.* 1991, Sv. 133, str. 9–23.

206. **Bolton-Smith C, Woodward M, Smith WC, Tunstall-Pedoe H.** Dietary and non-dietary predictors of serum total and HDL-cholesterol in men and women: results from the Scottish Heart Health Study. *Int J Epidemiol.* 1991, Sv. 20, str. 95–104.

207. **Sanders TA, Hochland MC.** A comparison of the influence on plasma lipids and platelet function of supplements of omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids. *Br J Nutr.* 1983, Sv. 50, str. 521–529.

208. **Zucker ML, Bilyeu DS, Helmkamp GM, Harris WS, Dujovne CA.** Effects of dietary fish oil on platelet function and plasma lipids in hyperlipoproteinemic and normal subjects. *Atherosclerosis.* 1988, Sv. 73, str. 13–22.

209. **Harris WS, Dujovne CA, Zucker M, Johnson B.** Effects of a low saturated fat, low cholesterol fish oil supplement in hypertriglyceridemic patients. A placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 1988, Sv. 109, str. 465–470.

210. **Suzukawa M, Abbey M, Howe PR, Nestel PJ.** Effects of fish oil fatty acids on low density lipoprotein size, oxidizability, and uptake by macrophages. *J Lipid Res.* 1995, Sv. 36, str. 473–484.

211. **Demke DM, Peters GR, Linet OI, Metzler CM, Klott KA.** Effects of a fish oil concentrate in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 1988, Sv. 70, str. 73–80.



212. **Sullivan DR, Sanders TA, Trayner IM, Thompson GR.** Paradoxical elevation of LDL apoprotein B levels in hypertriglyceridaemic patients and normal subjects ingesting fish oil. *Atherosclerosis*. 1986, Sv. 61, str. 129–134.
213. **Illingworth DR, Harris WS, Connor WE.** Inhibition of low density lipoprotein synthesis by dietary omega-3 fatty acids in humans. *Arteriosclerosis*. 1984, Sv. 4, str. 270–275.
214. **von Schacky, C.** A review of omega-3 ethyl esters for cardiovascular prevention and treatment of increased blood triglyceride levels. *Vasc Health Risk Manag*. 2006, Sv. 2, str. 251–262.
215. **Weber P, Raederstorff D.** Triglyceride-lowering effect of omega-3 LC-polyunsaturated fatty acids-a review. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2000, Sv. 10, str. 28–37.
216. **Sirtori CR, Crepaldi G, Manzato E, Mancini M, Rivellesse A, Paoletti R, Pazzucconi F, Pamparana F, Stragliotto E.** One-year treatment with ethyl esters of n-3 fatty acids in patients with hypertriglyceridemia and glucose intolerance: reduced triglyceridemia, total cholesterol and increased HDL-C without glycemic alterations. *Atherosclerosis*. 1998, Sv. 137, str. 419–427.
217. **Nozaki S, Matsuzawa Y, Hirano K, Sakai N, Kubo M, Tarui S.** Effects of purified eicosapentaenoic acid ethyl ester on plasma lipoproteins in primary hypercholesterolemia. *Int J Vitam Nutr Res*. 1992, Sv. 62, str. 256–260.
218. **Kurabayashi T, Okada M, Tanaka K.** Eicosapentaenoic acid effect on hyperlipidemia in menopausal Japanese women. The Niigata Epadel Study Group. *Obstet Gynecol*. 2000, Sv. 96, str. 521–528.
219. **Rambjør GS, Wålen AI, Windsor SL, Harris WS.** Eicosapentaenoic acid is primarily responsible for hypotriglyceridemic effect of fish oil in humans. *Lipids*. 1996, Sv. 31 (Suppl.), str. S45–S49.
220. **Clarke SD, Jump DB.** Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *Annu Rev Nutr*. 1994, Sv. 14, str. 83–98.
221. **Patsch JR, Miesenböck G, Hopferwieser T, Mühlberger V, Knapp E, Dunn JK, Gotto AM Jr, Patsch W.** Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler Thromb*. 1992, Sv. 12, str. 1336–1345.
222. **Boberg M, Vessby B, Selinus I.** Effects of dietary supplementation with n-6 and n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on serum lipoproteins and platelet function in hypertriglyceridaemic patients. *Acta Med Scand*. 1986, Sv. 220, str. 153–160.
223. **Mehta JL, Lopez LM, Lawson D, Wargovich TJ, Williams LL.** Dietary supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids in patients with stable coronary heart disease. Effects on indices of platelet and neutrophil function and exercise performance. *Am J Med*. 1988, Sv. 84, str. 45–52.
224. **Harris WS, Zucker ML, Dujovne CA.** Omega-3 fatty acids in hypertriglyceridemic patients: triglycerides vs methyl esters. *Am J Clin Nutr*. 1988, Sv. 48, str. 992–997.
225. **Sanders TA, Sullivan DR, Reeve J, Thompson GR.** Triglyceride-lowering effect of marine polyunsaturates in patients with hypertriglyceridemia. *Arteriosclerosis*. 1985, Sv. 5, str. 459–465.
226. **Barre DE.** The role of consumption of alpha-linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in human metabolic syndrome and type 2 diabetes--a mini-review. *J Oleo Sci*. 2007, Sv. 56, str. 319–325.
227. **Bucher HC, Hengstler P, Schindler C, Meier G.** N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med*. 2002, Sv. 112, str. 298–304.

228. **Davidson MH, Stein EA, Bays HE, Maki KC, Doyle RT, Shalwitz RA, Ballantyne CM, Ginsberg HN a Investigators., COMBination of prescription Omega-3 with Simvastatin (COMBOS).** Efficacy and tolerability of adding prescription omega-3 fatty acids 4 g/d to simvastatin 40 mg/d in hypertriglyceridemic patients: an 8-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clin Ther.* 2007, Sv. 29, str. 1354–1367.
229. **Appel LJ, Miller ER 3rd, Seidler AJ, Whelton PK.** Does supplementation of diet with 'fish oil' reduce blood pressure? A meta-analysis of controlled clinical trials. *Arch Intern Med.* 1993, Sv. 153, str. 1429–1438.
230. **Geleijnse JM, Giltay EJ, Grobbee DE, Donders AR, Kok FJ.** Blood pressure response to fish oil supplementation: metaregression analysis of randomized trials. *J Hypertens.* 2002, Sv. 20, str. 1439–1499.
231. **Zhao G, Etherton TD, Martin KR, West SG, Gillies PJ, Kris-Etherton PM.** Dietary alpha-linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women. *J Nutr.* 2004, Sv. 134, str. 2991–2997.
232. **Itoh M, Suganami T, Satoh N, Tanimoto-Koyama K, Yuan X, Tanaka M, Kawano H, Yano T, Aoe S, Takeya M, Shimatsu A, Kuzuya H, Kamei Y, Ogawa Y.** Increased adiponectin secretion by highly purified eicosapentaenoic acid in rodent models of obesity and human obese subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007, Sv. 27, str. 1918–1925.
233. **Kratz M, Swarbrick MM, Callahan HS, Matthys CC, Havel PJ, Weigle DS.** Effect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on plasma total and high-molecular-weight adiponectin concentrations in overweight to moderately obese men and women. *Am J Clin Nutr.* 2008, Sv. 87, str. 347–353.
234. **Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ a Committee, Nutrition.** Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003, Sv. 23, str. e20–e30.
235. **Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR.** Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med.* 1990, Sv. 113, str. 909–915.
236. **Storlien LH, Kriketos AD, Jenkins AB, Baur LA, Pan DA, Tapsell LC, Calvert GD.** Does dietary fat influence insulin action? *Ann N Y Acad Sci.* 1997, Sv. 827, str. 287–301.
237. **Kraegen EW, Cooney GJ, Ye JM, Thompson AL, Furler SM.** The role of lipids in the pathogenesis of muscle insulin resistance and beta cell failure in type II diabetes and obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2001, Sv. 109 (Suppl. 2), str. S189–S201.
238. **Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goodyear LJ, Kraegen EW, White MF, Shulman GI.** Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes.* 1999, Sv. 48, str. 1270–1274.
239. **Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, Petersen KF, Shulman GI.** Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest.* 1999, Sv. 103, str. 253–259.
240. **Storlien LH, James DE, Burleigh KM, Chisholm DJ, Kraegen EW.** Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decreased energy expenditure, and obesity in rats. *Am J Physiol.* 1986, Sv. 251, str. E576–E583.
241. **Holness MJ, Sugden MC.** Antecedent protein restriction exacerbates development of impaired insulin action after high-fat feeding. *Am J Physiol.* 1999, Sv. 276, str. E85–E93.

242. **Mayer EJ, Newman B, Quesenberry CP Jr, Selby JV.** Usual dietary fat intake and insulin concentrations in healthy women twins. *Diabetes Care.* 1993, Sv. 16, str. 1459–1469.
243. **Parker DR, Weiss ST, Troisi R, Cassano PA, Vokonas PS, Landsberg L.** Relationship of dietary saturated fatty acids and body habitus to serum insulin concentrations: the Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr.* 1993, Sv. 58, str. 129–136.
244. **Marshall JA, Bessesen DH, Hamman RF.** High saturated fat and low starch and fibre are associated with hyperinsulinaemia in a non-diabetic population: the San Luis Valley Diabetes Study. *Diabetologia.* 1997, Sv. 40, str. 430–438.
245. **Kraegen EW, Clark PW, Jenkins AB, Daley EA, Chisholm DJ, Storlien LH.** Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. *Diabetes.* 1991, Sv. 40, str. 1397–1403.
246. **Jucker BM, Cline GW, Barucci N, Shulman GI.** Differential effects of safflower oil versus fish oil feeding on insulin-stimulated glycogen synthesis, glycolysis, and pyruvate dehydrogenase flux in skeletal muscle: a <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance study. *Diabetes.* 1999, Sv. 48, str. 134–140.
247. **Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ, Pascoe WS, Khouri S, Kraegen EW.** Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes.* 1991, Sv. 40, str. 280–289.
248. **Taouis M, Dagou C, Ster C, Durand G, Pinault M, Delarue J.** N-3 polyunsaturated fatty acids prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002, Sv. 282, str. E664–E671.
249. **Stettler R, Ith M, Acheson KJ, Décombaz J, Boesch C, Tappy L, Binnert C.** Interaction between dietary lipids and physical inactivity on insulin sensitivity and on intramyocellular lipids in healthy men. *Diabetes Care.* 2005, Sv. 28, str. 1404–1409.
250. **Taouis M, Dagou C, Ster C, Durand G, Pinault M, Delarue J.** N-3 polyunsaturated fatty acids prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002, Sv. 282, str. E664–E671.
251. **Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y, Bergeron R, Kim JK, Cushman SW, Cooney GJ, Atcheson B, White MF, Kraegen EW, Shulman GI.** Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem.* 2002, Sv. 277, str. 50230–50236.
252. **Randle PJ.** Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab Rev.* 1998, Sv. 14, str. 263–283.
253. **Lam TK, Carpentier A, Lewis GF, van de Werve G, Fantus IG, Giacca A.** Mechanisms of the free fatty acid-induced increase in hepatic glucose production. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003, Sv. 284, str. E863–E873.
254. **Baldeweg SE, Golay A, Natali A, Balkau B, Del Prato S, Coppack SW.** Insulin resistance, lipid and fatty acid concentrations in 867 healthy Europeans. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Eur J Clin Invest.* 2000, Sv. 30, str. 45–52.
255. **Coppack SW, Evans RD, Fisher RM, Frayn KN, Gibbons GF, Humphreys SM, Kirk ML, Potts JL, Hockaday TD.** Adipose tissue metabolism in obesity: lipase action in vivo before and after a mixed meal. *Metabolism.* 1992, Sv. 41, str. 264–272.
256. **Boden G.** Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes.* 1997, Sv. 46, str. 3–10.
257. **Kelley DE, Mandarino LJ.** Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. *Diabetes.* 2000, Sv. 49, str. 677–683.

258. **Hawkins M, Barzilai N, Liu R, Hu M, Chen W, Rossetti L.** Role of the glucosamine pathway in fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest.* 1997, Sv. 99, str. 2173–2182.
259. **Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI.** Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest.* 1996, 97, str. 2859–2865.
260. **Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G.** Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkappaB-alpha. *Diabetes.* 2002, Sv. 51, str. 2005–2011.
261. **Chen X, Iqbal N, Boden G.** The effects of free fatty acids on gluconeogenesis and glycogenolysis in normal subjects. *J Clin Invest.* 1999, Sv. 103, str. 365–372.
262. **McCune SA, Durant PJ, Jenkins PA, Harris RA.** Comparative studies on fatty acid synthesis, glycogen metabolism, and gluconeogenesis by hepatocytes isolated from lean and obese Zucker rats. *Metabolism.* 1981, Sv. 30, str. 170–178.
263. **Morand C, Besson C, Demigne C, Remesy C.** Importance of the modulation of glycolysis in the control of lactate metabolism by fatty acids in isolated hepatocytes from fed rats. *Arch Biochem Biophys.* 1994, Sv. 309, str. 254–260.
264. **Song S.** Can the glyoxylate pathway contribute to fat-induced hepatic insulin resistance? *Med Hypotheses.* 2000, Sv. 54, str. 739–747.
265. **Liu YQ, Uyeda K.** A mechanism of regulation of hepatic Fru 2,6-P2 concentration upon refeeding: involvement of xylulose 5-P and cyclic-AMP. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996, Sv. 221, str. 554–558.
266. **Clore JN, Glickman PS, Nestler JE, Blackard WG.** In vivo evidence for hepatic autoregulation during FFA-stimulated gluconeogenesis in normal humans. *Am J Physiol.* 1991, Sv. 261, str. E425–E429.
267. **Roden M, Stingl H, Chandramouli V, Schumann WC, Hofer A, Landau BR, Nowotny P, Waldhäusl W, Shulman GI.** Effects of free fatty acid elevation on postabsorptive endogenous glucose production and gluconeogenesis in humans. *Diabetes.* 2000, Sv. 49, str. 701–707.
268. **Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A.** Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2002, Sv. 23, str. 201–229.
269. **Hems DA, Whitton PD.** Control of hepatic glycogenolysis. *Physiol Rev.* 1980, Sv. 60, str. 1–50.
270. **Taha C, Klip A.** The insulin signaling pathway. *J Membr Biol.* 1999, Sv. 169, str. 1–12.
271. **Kubota N, Tobe K, Terauchi Y, Eto K, Yamauchi T, Suzuki R, Tsubamoto Y, Komeda K, Nakano R, Miki H, Satoh S, Sekihara H, Sciacchitano S, Lesniak M, Aizawa S, Nagai R, Kimura S, Akanuma Y, Taylor SI, Kadowaki T.** Disruption of insulin receptor substrate 2 causes type 2 diabetes because of liver insulin resistance and lack of compensatory beta-cell hyperplasia. *Diabetes.* 2000, Sv. 49.
272. **Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S, Zhang Y, Bernal D, Pons S, Shulman GI, Bonner-Weir S, White MF.** Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature.* 1998, Sv. 391, str. 900–904.
273. **Lewis GF, Vranic M, Harley P, Giacca A.** Fatty acids mediate the acute extrahepatic effects of insulin on hepatic glucose production in humans. *Diabetes.* 1997, Sv. 46, str. 1111–1119.
274. **Rother KI, Imai Y, Caruso M, Beguinot F, Formisano P, Accili D.** Evidence that IRS-2 phosphorylation is required for insulin action in hepatocytes. *J Biol Chem.* 1998, Sv. 273, str. 17491–17497.

275. **Kubota N, Tobe K, Terauchi Y, Eto K, Yamauchi T, Suzuki R, Tsubamoto Y, Komeda K, Nakano R, Miki H, Satoh S, Sekihara H, Sciacchitano S, Lesniak M, Aizawa S, Nagai R, Kimura S, Akanuma Y, Taylor SI, Kadowaki T.** Disruption of insulin receptor substrate 2 causes type 2 diabetes because of liver insulin resistance and lack of compensatory beta-cell hyperplasia. *Diabetes*. 2000, Sv. 49, str. 1880–1889.
276. **Previs SF, Withers DJ, Ren JM, White MF, Shulman GI.** Contrasting effects of IRS-1 versus IRS-2 gene disruption on carbohydrate and lipid metabolism in vivo. *J Biol Chem*. 2000, Sv. 275, str. 38990–38994.
277. **McGarry JD.** Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002, Sv. 51, str. 7–18.
278. **Ruderman NB, Saha AK, Vavvas D, Witters LA.** Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. *Am J Physiol*. 1999, Sv. 276, str. E1–E18.
279. **Combs TP, Berg AH, Obici S, Scherer PE, Rossetti L.** Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest*. 2001, Sv. 108, str. 1875–1881.
280. **Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T.** Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*. 2002, Sv. 8, str. 1288–1295.
281. **Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T.** The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med*. 2001, Sv. 7, str. 941–946.
282. **Gabbay RA, Sutherland C, Gnudi L, Kahn BB, O'Brien RM, Granner DK, Flier JS.** Insulin regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression does not require activation of the Ras/mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *J Biol Chem*. 1996, Sv. 271, str. 1890–1897.
283. **Petersen KF, Shulman GI.** Etiology of insulin resistance. *Am J Med*. 2006, Sv. 119 (Suppl. 1), str. S10–S16.
284. **Barzilai N, She L, Liu BQ, Vuguin P, Cohen P, Wang J, Rossetti L.** Surgical removal of visceral fat reverses hepatic insulin resistance. *Diabetes*. 1999, Sv. 48, str. 94–98.
285. **Auboeuf D, Rieusset J, Fajas L, Vallier P, Frering V, Riou JP, Staels B, Auwerx J, Laville M, Vidal H.** Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor-alpha in humans: no alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. *Diabetes*. 1997, Sv. 46, str. 1319–1327.
286. **Clarke SD.** Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a mechanism to improve energy balance and insulin resistance. *Br J Nutr*. 2000, Sv. 83 (Suppl. 1), str. S59–S66.
287. **Latasa MJ, Moon YS, Kim KH, Sul HS.** Nutritional regulation of the fatty acid synthase promoter in vivo: sterol regulatory element binding protein functions through an upstream region containing a sterol regulatory element. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000, Sv. 97, str. 10619–10624.
288. **Delarue J, Couet C, Cohen R, Bréchet JF, Antoine JM, Lamisse F.** Effects of fish oil on metabolic responses to oral fructose and glucose loads in healthy humans. *Am J Physiol*. 1996, Sv. 270, str. E353–E362.
289. **Holness MJ, Greenwood GK, Smith ND, Sugden MC.** Diabetogenic impact of long-chain omega-3 fatty acids on pancreatic beta-cell function and the regulation of endogenous glucose production. *Endocrinology*. 2003, Sv. 144, str. 3958–3968.

290. **Delarue J, LeFoll C, Corporeau C, Lucas D.** N-3 long chain polyunsaturated fatty acids: a nutritional tool to prevent insulin resistance associated to type 2 diabetes and obesity? *Reprod Nutr Dev.* 2004, Sv. 44, str. 289–299.
291. **Manson JE, Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Hunter DJ, Hankinson SE, Hennekens CH, Speizer FE.** Body weight and mortality among women. *N Engl J Med.* 1995, Sv. 333, str. 677–685.
292. **Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CW Jr.** Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Engl J Med.* 1999, Sv. 341, str. 1097–1105.
293. **Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH, Arky RA, Speizer FE.** Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. *Am J Epidemiol.* 1990, Sv. 132, str. 501–513.
294. **Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Rosner B, Monson RR, Speizer FE, Hennekens CH.** A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 1990, Sv. 322, str. 882–889.
295. **Alexander JK.** Obesity and coronary heart disease. *Am J Med Sci.* 2001, Sv. 321, str. 215–224.
296. **Reaven GM.** The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr.* 2006, Sv. 83, str. 1237–1247.
297. **Robinson LE, Graham TE.** Metabolic syndrome, a cardiovascular disease risk factor: role of adipocytokines and impact of diet and physical activity. *Can J Appl Physiol.* 2004, Sv. 29, str. 808–829.
298. **Després JP.** Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition.* 1993, Sv. 9, str. 452–459.
299. **Buckley JD, Howe PR.** Anti-obesity effects of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Obes Rev.* 2009, Sv. 10, str. 648–659.
300. **Ruzickova J, Rossmeisl M, Prazak T, Flachs P, Sponarova J, Veck M, Tvrzicka E, Bryhn M, Kopecky J.** Omega-3 PUFA of marine origin limit diet-induced obesity in mice by reducing cellularity of adipose tissue. *Lipids.* 2004, Sv. 39, str. 1177–1185.
301. **DeLany JP, Windhauser MM, Champagne CM, Bray GA.** Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr.* 2000, Sv. 72, str. 905–911.
302. **Mascaró C, Acosta E, Ortiz JA, Marrero PF, Hegardt FG, Haro D.** Control of human muscle-type carnitine palmitoyltransferase I gene transcription by peroxisome proliferator-activated receptor. *J Biol Chem.* 1998, Sv. 273, str. 8560–8563.
303. **Power GW, Newsholme EA.** Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle. *J Nutr.* 1997, Sv. 127, str. 2142–2150.
304. **Elayan IM, Winder WW.** Effect of glucose infusion on muscle malonyl-CoA during exercise. *J Appl Physiol.* 1991, Sv. 70, str. 1495–1499.
305. **Couet C, Delarue J, Ritz P, Antoine JM, Lamisse F.** Effect of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxidation in healthy adults. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997, Sv. 21, str. 637–643.
306. **Hill JO, Peters JC, Lin D, Yakubu F, Greene H, Swift L.** Lipid accumulation and body fat distribution is influenced by type of dietary fat fed to rats. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1993, Sv. 17, str. 223–236.
307. **Huang XF, Xin X, McLennan P, Storlien L.** Role of fat amount and type in ameliorating diet-induced obesity: insights at the level of hypothalamic arcuate nucleus leptin receptor,

neuropeptide Y and pro-opiomelanocortin mRNA expression. *Diabetes Obes Metab.* 204, Sv. 6, str. 35–44.

308. **Newman RE, Bryden WL, Fleck E, Ashes JR, Buttemer WA, Storlien LH, Downing JA.** Dietary n-3 and n-6 fatty acids alter avian metabolism: metabolism and abdominal fat deposition. *Br J Nutr.* 2002, Sv. 88, str. 11–18.

309. **Robinson LE, Buchholz AC, Mazurak VC.** Inflammation, obesity, and fatty acid metabolism: influence of n-3 polyunsaturated fatty acids on factors contributing to metabolic syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007, Sv. 32, str. 1008–1024.

310. **Accinni R, Rosina M, Bamonti F, Della Noce C, Tonini A, Bernacchi F, Campolo J, Caruso R, Novembrino C, Gherzi L, Lonati S, Grossi S, Ippolito S, Lorenzano E, Ciani A, Gorini M.** Effects of combined dietary supplementation on oxidative and inflammatory status in dyslipidemic subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006, Sv. 16, str. 121–127.

311. **Chan DC, Watts GF, Barrett PH, Beilin LJ, Mori TA.** Effect of atorvastatin and fish oil on plasma high-sensitivity C-reactive protein concentrations in individuals with visceral obesity. *Clin Chem.* 2002, Sv. 48, str. 887–883.

312. **Mori TA, Bao DQ, Burke V, Puddey IB, Watts GF, Beilin LJ.** Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: effect on serum lipids, glucose, and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999, Sv. 70, str. 817–825.

313. **Geppert J, Kraft V, Demmelmair H, Koletzko B.** Microalgal docosahexaenoic acid decreases plasma triacylglycerol in normolipidaemic vegetarians: a randomised trial. *Br J Nutr.* 2006, Sv. 95, str. 779–786.

314. **Summers LK, Fielding BA, Bradshaw HA, Ilic V, Beysen C, Clark ML, Moore NR, Frayn KN.** Substituting dietary saturated fat with polyunsaturated fat changes abdominal fat distribution and improves insulin sensitivity. *Diabetologia.* 2002, Sv. 45, str. 369–377.

315. **Garaulet M, Pérez-Llamas F, Pérez-Ayala M, Martínez P, de Medina FS, Tebar FJ, Zamora S.** Site-specific differences in the fatty acid composition of abdominal adipose tissue in an obese population from a Mediterranean area: relation with dietary fatty acids, plasma lipid profile, serum insulin, and central obesity. *Am J Clin Nutr.* 2001, Sv. 74, str. 585–591.

316. **Kopecky J, Rossmeisl M, Flachs P, Kuda O, Brauner P, Jilkova Z, Stankova B, Tvrzicka E, Bryhn M.** n-3 PUFA: bioavailability and modulation of adipose tissue function. 2009, Sv. 68, str. 361–369.

317. **Phinney SD, Tang AB, Johnson SB, Holman RT.** Reduced adipose 18:3 omega 3 with weight loss by very low calorie dieting. *Lipids.* 1990, Sv. 25, str. 798–806.

318. **Phinney SD, Davis PG, Johnson SB, Holman RT.** Obesity and weight loss alter serum polyunsaturated lipids in humans. *Am J Clin Nutr.* 1991, Sv. 53, str. 831–838.

319. **Kunesová M, Phinney S, Hainer V, Tvrzická E, Stich V, Parížková J, Zák A, Stunkard A.** The responses of serum and adipose fatty acids to a one-year weight reduction regimen in female obese monozygotic twins. *Ann N Y Acad Sci.* 2002, Sv. 967, str. 311–323.

320. **Arvidsson E, Viguerie N, Andersson I, Verdich C, Langin D, Arner P.** Effects of different hypocaloric diets on protein secretion from adipose tissue of obese women. *Diabetes.* 2004, Sv. 53, str. 1966–1971.

321. **Viguerie N, Vidal H, Arner P, Holst C, Verdich C, Avizou S, Astrup A, Saris WH, Macdonald IA, Klimcakova E, Clément K, Martinez A, Hoffstedt J, Sørensen TI, Langin D; Nutrient-Gene Interactions in Human Obesity-Implications for Dietary Guideline (NUGENOB).** Adipose tissue gene expression in obese subjects during low-fat and high-fat hypocaloric diets. *Diabetologia.* 2005, Sv. 48, str. 123–131.

322. **Kriketos AD, Robertson RM, Sharp TA, Drougas H, Reed GW, Storlien LH, Hill JO.** Role of weight loss and polyunsaturated fatty acids in improving metabolic fitness in moderately obese, moderately hypertensive subjects. *J Hypertens.* 2001, Sv. 19, str. 1745–1754.
323. **Clifton PM, Noakes M, Keogh JB.** Very low-fat (12%) and high monounsaturated fat (35%) diets do not differentially affect abdominal fat loss in overweight, nondiabetic women. *J Nutr.* 2004, Sv. 134, str. 1741–1745.
324. **Vessby B, Aro A, Skarfors E, Berglund L, Salminen I, Lithell H.** The risk to develop NIDDM is related to the fatty acid composition of the serum cholesterol esters. *Diabetes.* 1994, Sv. 43, str. 1353–1357.
325. **Pelikánová T, Kohout M, Válek J, Base J, Kazdová L.** Insulin secretion and insulin action related to the serum phospholipid fatty acid pattern in healthy men. *Metabolism.* 1989, Sv. 38, str. 188–192.
326. **Borkman M, Storlien LH, Pan DA, Jenkins AB, Chisholm DJ, Campbell LV.** The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal-muscle phospholipids. *N Engl J Med.* 1993, Sv. 328, str. 238–244.
327. **Hainer V, Stunkard AJ, Kunesová M, Parížková J, Stich V, Allison DB.** Intrapair resemblance in very low calorie diet-induced weight loss in female obese identical twins. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000, Sv. 24, str. 1051–1057.
328. **Olsen C.** An enzymatic fluorimetric micromethod for the determination of acetoacetate, -hydroxybutyrate, pyruvate and lactate. *Clin Chim Acta.* 1971, Sv. 33, str. 293–300.
329. **Duncombe WG.** The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clin Chim Acta.* 1964, Sv. 9, str. 122–125.
330. **Pařízková J.** *Body Fat and Physical Fitness.* Hague : M. Nijhoff, 1977.
331. **Durnin JV, Womersley J.** Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr.* 1974, Sv. 32, str. 77–97.
332. **Tvrzická E, Vecka M, Staňková B, Žák A.** Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionization detection. Quantitative aspects. *Anal Chim Acta.* 2002, Sv. 465, str. 337–350.
333. **Zemel MB, Thompson W, Milstead A, Morris K, Campbell P.** Calcium and dairy acceleration of weight and fat loss during energy restriction in obese adults. *Obes Res.* 2004, Sv. 12, str. 582–590.
334. **Kunesová M, Braunerová R, Hlavatý P, Tvrzická E, Stanková B, Skrha J, Hilgertová J, Hill M, Kopecký J, Wagenknecht M, Hainer V, Matoulek M, Parížková J, Zák A, Svacina S.** The influence of n-3 polyunsaturated fatty acids and very low calorie diet during a short-term weight reducing regimen on weight loss and serum fatty acid composition in severely obese women. *Physiol Res.* 2006, Sv. 55, str. 63–72.
335. **Davies KM, Heaney RP, Recker RR, Lappe JM, Barger-Lux MJ, Rafferty K, Hinders S.** Calcium intake and body weight. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000, Sv. 85, str. 4635–4638.
336. **Pereira MA, Jacobs DR Jr, Van Horn L, Slattery ML, Kartashov AI, Ludwig DS.** Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults: the CARDIA Study. *JAMA.* 2002, Sv. 287, str. 2081–2089.
337. **Liu S, Song Y, Ford ES, Manson JE, Buring JE, Ridker PM.** Dietary calcium, vitamin D, and the prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and older U.S. women. *Diabetes Care.* 2005, Sv. 28, str. 2926–2932.



338. **Thompson WG, Rostad Holdman N, Janzow DJ, Slezak JM, Morris KL, Zemel MB.** Effect of energy-reduced diets high in dairy products and fiber on weight loss in obese adults. *Obes Res.* 2005, Sv. 13, str. 1344–1353.
339. **Boon N, Koppes LL, Saris WH, Van Mechelen W.** The relation between calcium intake and body composition in a Dutch population: The Amsterdam Growth and Health Longitudinal Study. *Am J Epidemiol.* 2005, Sv. 162, str. 27–32.
340. **Rajpathak SN, Rimm EB, Rosner B, Willett WC, Hu FB.** Calcium and dairy intakes in relation to long-term weight gain in US men. *Am J Clin Nutr.* 2006, Sv. 83, str. 559–566.
341. **Jacobsen R, Lorenzen JK, Toubro S, Krog-Mikkelsen I, Astrup A.** Effect of short-term high dietary calcium intake on 24-h energy expenditure, fat oxidation, and fecal fat excretion. *Int J Obes.* 2005, Sv. 29, str. 292–301.
342. **Zemel MB, Shi H, Greer B, Dirienzo D, Zemel PC.** Regulation of adiposity by dietary calcium. *FASEB.* 2000, Sv. 14, str. 1132–1138.
343. **Yu X, Sun C, Liu R, Li Y.** The effect of dietary calcium on the expression of uncoupling protein 3 gene in skeletal muscle of rat fed with high fat diet. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2003, Sv. 32, str. 204–207.
344. **Melanson EL, Sharp TA, Schneider J, Donahoo WT, Grunwald GK, Hill JO.** Relation between calcium intake and fat oxidation in adult humans. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003, Sv. 27, str. 196–203.
345. **Bass NM.** Function and regulation of hepatic and intestinal fatty acid binding proteins. *Chem Phys Lipids.* 1985, Sv. 38, str. 95–114.
346. **Sweetser DA, Heuckeroth RO, Gordon JI.** The metabolic significance of mammalian fatty-acid-binding proteins: abundant proteins in search of a function. *Annu Rev Nutr.* 1987, Sv. 7, str. 337–359.
347. **Glatz JF, Veerkamp JH.** Intracellular fatty acid-binding proteins. *Int J Biochem.* 1985, Sv. 17, str. 13–22.
348. **Lowe JB, Sacchettini JC, Laposata M, McQuillan JJ, Gordon JI.** Expression of rat intestinal fatty acid-binding protein in *Escherichia coli*. Purification and comparison of ligand binding characteristics with that of *Escherichia coli*-derived rat liver fatty acid-binding protein. *J Biol Chem.* 1987, Sv. 262, str. 5931–5937.
349. **Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni PA, Mochizuki H, Bennett PH, Bogardus C, Prochazka M.** An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation, and insulin resistance. *J Clin Invest.* 1995, Sv. 95, str. 1281–1287.
350. **Agren JJ, Valve R, Vidgren H, Laakso M, Uusitupa M.** Postprandial lipemic response is modified by the polymorphism at codon 54 of the fatty acid-binding protein 2 gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998, Sv. 18, str. 1606–1610.
351. **Hegele RA.** A review of intestinal fatty acid binding protein gene variation and the plasma lipoprotein response to dietary components. *Clin Biochem.* 1998, Sv. 31, str. 609–612.
352. **Pratley RE, Baier L, Pan DA, Salbe AD, Storlien L, Ravussin E, Bogardus C.** Effects of an Ala54Thr polymorphism in the intestinal fatty acid-binding protein on responses to dietary fat in humans. *J Lipid Res.* 2000, Sv. 41, str. 2002–2008.
353. **Stunkard AJ, Messick S.** The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. *J Psychosom Res.* 1985, Sv. 29, str. 71–83.

354. **Barrett PH, Watts GF.** Kinetic studies of lipoprotein metabolism in the metabolic syndrome including effects of nutritional interventions. *Curr Opin Lipidol.* 2003, Sv. 14, str. 61–68.
355. **Marsh JB, Topping DL, Nestel PJ.** Comparative effects of dietary fish oil and carbohydrate on plasma lipids and hepatic activities of phosphatidate phosphohydrolase, diacylglycerol acyltransferase and neutral lipase activities in the rat. *Biochim Biophys Acta.* 1987, Sv. 922, str. 239–243.
356. **Sanders TA, Lewis F, Slaughter S, Griffin BA, Griffin M, Davies I, Millward DJ, Cooper JA, Miller GJ.** Effect of varying the ratio of n-6 to n-3 fatty acids by increasing the dietary intake of alpha-linolenic acid, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid, or both on fibrinogen and clotting factors VII and XII in persons aged 45-70 y: the OPTILIP study. *Am J Clin Nutr.* 2006, Sv. 84, str. 513–522.
357. **Surette ME, Whelan J, Broughton KS, Kinsella JE.** Evidence for mechanisms of the hypotriglyceridemic effect of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta.* 1992, Sv. 1126, str. 199–205.
358. **McKenney JM, Sica D.** Role of prescription omega-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia. *Pharmacotherapy.* 2007, Sv. 27, str. 715–728.
359. **Metcalfe RG, James MJ, Mantzioris E, Cleland LG.** A practical approach to increasing intakes of n-3 polyunsaturated fatty acids: use of novel foods enriched with n-3 fats. *Eur J Clin Nutr.* 2003, Sv. 57, str. 1605–1612.
360. **Zock PL, Mensink RP, Harryvan J, de Vries JH, Katan MB.** Fatty acids in serum cholesteryl esters as quantitative biomarkers of dietary intake in humans. *Am J Epidemiol.* 1997, Sv. 145, str. 1114–1122.
361. **Likhodii SS, Musa K, Mendonca A, Dell C, Burnham WM, Cunnane SC.** Dietary fat, ketosis, and seizure resistance in rats on the ketogenic diet. *Epilepsia.* 2000, Sv. 41, str. 1400–1410.
362. **Fukuda H, Iritani N, Sugimoto T, Ikeda H.** Transcriptional regulation of fatty acid synthase gene by insulin/glucose, polyunsaturated fatty acid and leptin in hepatocytes and adipocytes in normal and genetically obese rats. *Eur J Biochem.* 1999, Sv. 260, str. 505–511.
363. **Kunesová M, Hainer V, Tvrzicka E, Phinney SD, Stich V, Parízková J, Zák A, Stunkard AJ.** Assessment of dietary and genetic factors influencing serum and adipose fatty acid composition in obese female identical twins. *Lipids.* 2002, Sv. 37, str. 27–32.
364. **Browning, LM.** n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation and obesity-related disease. *Proc Nutr Soc.* 2003, Sv. 62, str. 447–453.
365. **Barr SI.** Increased dairy product or calcium intake: is body weight or composition affected in humans? *J Nutr.* 2003, Sv. 133, str. 245S–248S.
366. **Heaney RP, Davies KM, Barger-Lux MJ.** Calcium and weight: clinical studies. *J Am Coll Nutr.* 2002, Sv. 21, str. 152S–155S.
367. **Zemel MB, Richards J, Milstead A, Campbell P.** Effects of calcium and dairy on body composition and weight loss in African-American adults. *Obes Res.* 2005, Sv. 13, str. 1218–1225.
368. **Choi HK, Willett WC, Stampfer MJ, Rimm E, Hu FB.** Dairy consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in men: a prospective study. *Arch Intern Med.* 2005, Sv. 165, str. 997–1003.
369. **Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB.** Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care.* 2006, Sv. 29, str. 650–655.

370. **Silha JV, Krsek M, Skrha JV, Sucharda P, Nyomba BL, Murphy LJ.** Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *Eur J Endocrinol.* 2003, Sv. 149, str. 331–335.
371. **Heilbronn LK, Rood J, Janderova L, Albu JB, Kelley DE, Ravussin E, Smith SR.** Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004, Sv. 89, str. 1844–1848.
372. **Lu HL, Wang HW, Wen Y, Zhang MX, Lin HH.** Roles of adipocyte derived hormone adiponectin and resistin in insulin resistance of type 2 diabetes. *World J Gastroenterol.* 2006, Sv. 12, str. 1747–1751.
373. **Lara-Castro C, Hunter GR, Lovejoy JC, Gower BA, Fernández JR.** Association of the intestinal fatty acid-binding protein Ala54Thr polymorphism and abdominal adipose tissue in African-American and Caucasian women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005, Sv. 90, str. 1196–1201.
374. **Yamada K, Yuan X, Ishiyama S, Koyama K, Ichikawa F, Koyanagi A, Koyama W, Nonaka K.** Association between Ala54Thr substitution of the fatty acid-binding protein 2 gene with insulin resistance and intra-abdominal fat thickness in Japanese men. *Diabetologia.* 1997, Sv. 40, str. 706–710.
375. **Hayakawa T, Nagai Y, Nohara E, Yamashita H, Takamura T, Abe T, Nomura G, Kobayashi K.** Variation of the fatty acid binding protein 2 gene is not associated with obesity and insulin resistance in Japanese subjects. *Metabolism.* 1999, Sv. 48, str. 655–657.
376. **Takakura Y, Yoshioka K, Umekawa T, Kogure A, Toda H, Yoshikawa T, Yoshida T.** Thr54 allele of the FABP2 gene affects resting metabolic rate and visceral obesity. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005, Sv. 67, str. 36–42.