

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze
Katedra Fyziologie živočichů a vývojové biologie
Fyziologický ústav Akademie věd České republiky
Oddělení Biologie tukové tkáně

Vliv n-3 polynenasycených mastných kyselin na metabolismus

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: MUDr. Jan Kopecký, DrSc.

Interní garant: Doc. RNDr. Stanislav Vybíral, CSc.

Vypracovala: Jana Cerháková

Obor: biologie odborná

Praha 2007

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně jako literární rešerši pod vedením školitele MUDr. Jana Kopeckého, DrSc. s použitím uvedené literatury.

V Praze 19. 4. 2007

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat za pomoc a podporu panu školiteli, MUDr. Janu Kopeckému, DrSc., RNDr. Pavlovi Flachsovi, Ph.D. a celé naší laboratoři z oddělení Biologie tukové tkáně ve Fyziologickém ústavu Akademie věd České republiky. Dále Doc. RNDr. Stanislavovi Vybíralovi, CSc. z katedry Fyziologie živočichů a vývojové biologie Přírodovědecké fakulty UK a v neposlední řadě také rodině.

Obsah

	Abstrakt	4
	Seznam zkratk.....	6
1	Úvod	8
2	Obsah	9
2. 1	Historie	9
2. 2	Metabolismus LC-PUFA	9
2. 3	Mechanismus působení n-3 LC-PUFA.....	11
2. 3. 1	Modulace metabolismu eikosanoidů	11
2. 3. 2	Změna vlastností membrán.....	13
2. 3. 3.	Modulace genové transkripce	13
2. 4	Zdroje n-3 a n-6 LC-PUFA.....	15
2. 5	Rizika spojená s konzumací EPA a DHA	16
3	IR vztah n-3 LC-PUFA k metabolickému syndromu	17
3. 1	Inzulínová rezistence a obezita.....	18
3. 2	Perinatální působení n-3 LC PUFA a dlouhodobé efekty ve vztahu k obezitě a IR.....	19
3. 3	Vliv n-3 LC-PUFA na citlivost k inzulínu	20
3. 3. 1	Působení n-3 LC-PUFA v tukové tkáni.....	20
3. 3. 2	Působení n-3 LC-PUFA v játrech.....	21
3. 3. 3	Působení n-3 LC-PUFA ve svalu	22
3. 3. 4	Působení n-3 LC-PUFA na pankreas.....	23
3. 4	Prevence a reverze IR vlivem n-3 LC-PUFA	24
3. 4. 1	Prevence a reverze IR vlivem n-3 LC-PUFA u zvířat	24
3. 4. 2	Prevence a reverze IR vlivem n-3 LC-PUFA u lidí.....	24
4.	Obezita a zánět	25
4. 1.	Sekreční funkce adipocytů.....	25
4. 2.	Možný mechanismus vzniku IR indukované zánětem.....	27
4. 3.	Funkce adipocytokinů.....	28
4. 4.	N-3 LC-PUFA jsou prevencí ke vzniku zánětu	29
5	Závěr	30
6	Seznam použité literatury	31

Abstrakt

V současné době jsou velice diskutovaným problémem n-3 polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (n-3 LC-PUFA). Výzkumem n-3 LC-PUFA se zabývá mnoho laboratoří po celém světě. K českým zástupcům patří laboratoř Dr. Kopeckého, jejíž práce je podpořena spoluprací s norskou farmaceutickou firmou Pronova Biocare a. s., což umožňuje snadný přístup ke kvalitním purifikovaným koncentrátům kyseliny eikosapentaenové (EPA) a kyseliny dokosaheptaenové (DHA) (EPAX) z rybích olejů. N-3 LC-PUFA snižují hladiny celkového cholesterolu, velikost částic LDL-cholesterolu, hladiny triglyceridů v plasmě. Snižují riziko vzniku kardiovaskulárních chorob v důsledku hypotenzních účinků, snížení viskozity krve a inhibici agregace trombocytů. Působí protizánětlivě a imunosupresivně. Současné výzkumy naznačují, že příjem n-3 LC-PUFA brání infiltraci makrofágů do bílé tukové tkáně obézních jedinců, a tak přispívají k potlačení chronického mírného zánětu, který je pro tukovou tkáň obézních typický. EPA a DHA jsou významnou složkou membránových fosfolipidů, zejména v mozku, sítnici, ale i dalších tkáních. Mění fyzikálně-chemické vlastnosti membrány, modulují metabolismus eikosanoidů a genovou transkripci prostřednictvím transkripčních faktorů genů ovlivňujících metabolismus lipidů. Působí v různých tkáních, stimulují oxidaci a inhibují lipogenezi v tukové tkáni, játrech a v kosterním svalu. N-3 LC-PUFA mají protektivní vliv před vznikem obezity, inzulinové rezistence a dalších složek metabolického syndromu. Několik klinických studií ukázalo, že terapeutický příjem EPA, DHA nad 2 g/den by mohl spolu s omezením kalorického příjmu pomáhat redukovat nadváhu. Doporučená denní dávka n-3 LC-PUFA pro dospělou populaci se pohybuje kolem 1 až 2 g za den, z toho, 0,2 – 0,55 g pro EPA a DHA, zbytek tvoří jejich prekurzor kyselina alfa-linolenová (ALA). V současné době se stále zvyšuje poměr n-6/n-3 LC-PUFA ve stravě, v souvislosti se zvýšeným příjmem rostlinných olejů bohatých na n-6 LC-PUFA, což se negativně promítá na složky metabolického syndromu. Proto je potřeba zvýšit příjem n-3 LC-PUFA. A to konzumací 1 - 2 porcí tučných ryb týdně nebo denním příjmem purifikovaných koncentrátů n-3 LC-PUFA (dietetik). Významným rizikem konzumace ryb z Baltského moře je kontaminace jejich masa xenobiotiky. Mimo jiné n-3 LC-PUFA jsou také obsaženy v řepkovém, lněném oleji a dalších. Konzumace n-3 LC-PUFA může být provázena dyspepsií a nauzeou, při vysokých dávkách stoupá riziko zvýšené krvácivosti. Navíc je potřeba přijímat antioxidanty, které brání lipoperoxidaci mastných kyselin. V dietetikách je běžně obsažen vitamin E. Mateřské mléko obsahuje EPA a DHA, proto se doporučuje kojit mateřským mlékem, nebo umělou výživou obohacenou o n-3 LC-PUFA. Příjem n-3 LC-PUFA hraje klíčovou roli při rozvoji mozku a ostrosti zraku. V neposlední řadě složení mléka odpovídá složení potravy, kterou matka přijímá. Složení mléka je ovlivněno poměrem n-6/n-3 LC-PUFA. Závěrem, tyto mastné kyseliny mají celou řadu klinických využití, otázka léčby rozvinutého diabetu mellitu II. typu (DM II.) zůstává stále otevřená. Nadějí do budoucna jsou kombinace n-3 LC-PUFA s thiazolidindiony (TZD), aspirinem či kalorickou restrikcí.

Abstract

Nowadays n-3 polyunsaturated fatty acids with long chain (n-3 LC-PUFAs) are ranked among the most discussed issues. Many laboratories do research into n-3 LC-PUFAs all over the world. E. g. the laboratory of Dr. Kopecký belongs to the Czech one. Scientific research is supported by cooperation with Norwegian pharmaceutical company Pronova Biocare a. s., which provides an easy access to value purified concentrates of eicosapentanoic acid (EPA) and docosahexanoic acid (DHA) (EPAX) from fish oils. N-3 LC-PUFAs lower levels of total cholesterol, size of LDL particles, levels of triglycerides in plasma. In consequence of hypotensive effects, decrease of blood viscosity and inhibition of aggregation of thrombocytes they decrease the risk of development cardiovascular diseases. They function anti-inflammatorially and immunosuppressively. Current research indicates that n-3 LC-PUFAs intake protect against infiltration of macrophages into white adipose tissue of obese individuals and thereby contribute to suppression of chronic low-level inflammation which is typical of adipose tissue of obese. EPA and DHA are known to be important components of membrane phospholipids, particularly in brain, retina and also in other tissues. They alternate physicochemical attributes of membrane, they modulate metabolism of eicosanoids and gene transcription by means of transcriptional factors of genes affecting lipid metabolism. They impact in several tissues, stimulate oxidation and inhibit lipogenesis in adipose tissue, liver and skeletal muscle. N-3 LC-PUFAs have protective effects on obesity, insulin resistance (IR) and other factors of metabolic syndrome. A few clinical studies showed that therapeutic intake of EPA, DHA over 2g a day could help to reduce overweight with contribution of caloric restriction. Daily recommended dose of n-3 LC-PUFAs for adults ranges between 1 and 2 g. 0,2 – 0,55 for EPA and DHA, the rest for alpha-linolenic acid (ALA), their precursor. Nowadays the ratio of n-6/n-3 LC-PUFAs in food is raising up in relation to increasing intake of plant oils riched in n-6 LC-PUFAs, which reflects negatively on compounds of metabolic syndrome. From these reasons it is necessary to rise intake of n-3 LC-PUFAs. By uptake 1 to 2 portions of fatty fish meal a week or purified concentrate of n-3 LC-PUFAs (dietetics) a day. The important risk of consumption fishes from the Baltic Sea is contamination white meat by xenobiotics. By the way n-3 LC-PUFAs are contained in colesseed, linseed oil and others. Dyspepsia, nausea can follow consumption of n-3 LC-PUFA. The risk of higher bleeding increases with high dose of n-3 LC-PUFAs. In addition it is important to use antioxidants which protect against lipoperoxidation of fatty acids. Vitamin E is usually included in dietetics. Maternal milk contains DHA. Therefore it is recommended to breastfeed infants by maternal milk or the artificial feeding enriched with n-3 LC-PUFAs. Uptake of n-3 LC-PUFAs plays a crucial role for development of brain and visual acuity. In primary turn the composition of milk is under a direct influence of composition of mother's intaken food. The composition of maternal milk is affected by ratio n-6/n-3 LC-PUFAs. In conclusion these fatty acids have a lot of clinical uses nevertheless issue of treatment of developed DM II. remains still opened. Future visions are combined studies n-3 LC-PUFAs with thiazolidindione (TZD), aspirin or caloric restictription.

Seznam zkratek

AA	kyselina arachidonová
ACC	acetyl-CoA karboxylasa
ALA	kyselina α -linoleová
BTT = WAT	bílá tuková tkáň
CCL2-CC	chemokin ligand 2
CLS	crown-like structure (angl.)
CPT-1	karnitinpalmitoytransferasa-1
CRP	C-reaktivníprotein
CVD	kardiovaskulární onemocnění
db/db	myší model bez leptinového receptoru
DDT	dichlordifenyltrichlorethan,
DHA	dokosaheptaenová kyselina
DM II.	diabetes mellitus 2. typu
EFA	esenciální mastné kyseliny
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	eikosapentaenová kyselina
ER	endoplasmatické retikulum
FA = MK	mastné kyseliny
FABP-1	vazebný protein mastných kyselin 1
FAS	syntasa mastných kyselin
FAT	translokasa mastných kyselin
GIT	gastrointestinální trakt
HMG-CoA	3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A
HNF α	jaterní nukleární faktor-4 α
HSL	hormon-senzitivní lipasa
ICHS	ischemická choroba srdeční
IKK β	inhibitor kinasy β jaderného faktoru κ B
IL	interleukin
IM	infarkt myokardu
IR	inzulinová rezistence
JNK	JUN N-terminální kinasa
LA	kyselina linolová

LC-PUFA	polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem
LDL	lipoprotein o nízké hustotě
LTB	leukotrieny
LXR	jaderní X receptory
MAC-2	makrofágový antigen-2
MGC	mnohojaderné obří buňky
MCP1	monocytový chemotaktický protein 1
NEFA	neesterifikované mastné kyseliny
NF κB	jaderný faktor κB
PCB	polychlorované bifenyly
PDH	pyruvátdehydrogenáza
PGE	prostaglandiny
PGI	prostacykliny
PL	fosfolipidy
PPAR	receptory aktivované peroxisomálními proliferátory
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
RONS	reaktivní kyslíkaté a dusíkaté látky
SMK	saturované mastné kyseliny
SOD	superoxiddismutasa
SREBP	vazebný protein sterolového regulačního elementu
TG	triglyceridy
TNF	tumorový nekrotický faktor
TT	tuková tkáň
TX	thromboxany
TZD	thiazolidindiony
UCP2	odpřahující protein-2
Δ6D	Δ6-desaturasa

1. Úvod

S obezitou, zejména s nadměrným hromaděním tuku v abdomenu, je asociovaná celá řada nemocí, především diabetes mellitus II. typu, inzulinová rezistence (IR), kardiovaskulární choroby (CVD) a další. Výše jmenovaná onemocnění jsou součástí metabolického syndromu. Významným cílem je ovlivnění obezity a přidružených komplikací přirozeným způsobem. Zvýšením fyzické aktivity, snížením kalorického příjmu a do diety zařadit lipidy o vhodném složení a dávce. Je prokázáno, že n-3 polynenasycené mastné kyseliny, které jsou součástí rybího tuku, ale i některých rostlinných olejů mají protektivní účinek před vznikem obezity a metabolického syndromu. Jejich účinky souvisejí s metabolismem různých tkání.

Cílem této práce je podat ucelenou informaci o vlivu n-3 LC-PUFA (EPA, DHA) na metabolismus, především tukové tkáně, za fyziologických podmínek a patologických stavů. A popsat vzájemné interakce DM II., IR a obezity.

2. Obecná charakteristika n-3 LC-PUFA

2. 1. Historie

Zájem o mastné kyseliny řady n-3 se datuje od 70. let 20. století, kdy dánští badatelé Bang a Dyerberg zjistili, že u Inuitů, kteří žijí tradičním způsobem, je velmi vzácný výskyt trombóz a infarktu myokardu. Součástí jejich stravy jsou ryby a mořští živočichové, jejichž tuk obsahuje kyseliny z řady n-3, EPA (20:5) a DHA (22:6). EPA a DHA při denní spotřebě 7 - 10 g výrazně ovlivňují hladiny lipidů (Žák et al., 2005). N-3 PUFA snižují riziko ischemické choroby srdeční (ICHS) nejen díky svému hypolipidemickému účinku, ale také pleiotropním působením na rizikové faktory ICHS (Žák et al., 2005).

Od 60. let minulého století se datují i první experimentální studie na zvířatech. Byl prokázán hypocholesterolemický účinek frakce PUFA v rybím oleji na krysách (Žák et al., 2005).

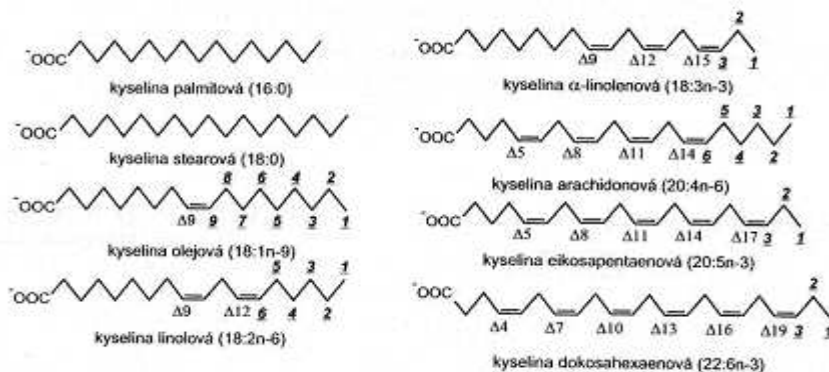
2. 2. Metabolismus LC-PUFA

Polynenasycené mastné kyseliny jsou karboxylové kyseliny, které obsahují 2 a více dvojných vazeb. V přírodě se nejčastěji vyskytují v cis konformaci (Mayes, 2002a). PUFA vznikají postupným napojováním dvouhlíkatých jednotek acetyl-CoA v cytosolu řady tkání, zejména jater, mléčné žlázy a tukové tkáně. Konečným cytoplasmatickým produktem je kyselina palmitová (16:0). V endoplasmatickém retikulu a mitochondriích může být molekula kyseliny palmitové elongovaná na kyselinu stearovou (18:0) (Mayes, 2002b). Do uhlovodíkového řetězce je vnášena první dvojná vazba do polohy C9, 9. uhlík od karboxy-konce enzymem Δ^9 -desaturasou, a to pouze v endoplasmatickém retikulu (ER). Tím vzniká kyselina olejová (18:1 n-9). Právě 16- a 18- uhlíkaté mastné kyseliny jsou nejdůležitějšími součástmi TG v těle (Mayes, 2002c).

Živočichové nedokáží syntetizovat PUFA, jejichž první dvojná vazba je na C3 (řada n-3, resp. ω 3) nebo C6 (řada n-6, resp. ω 6) od metylového konce. Z toho vyplývá jejich esencionalita. Proto je musí přijímat v potravě v podobě prekurzorů (Žák et al., 2005).

Pouze rostliny jsou schopny syntetizovat n-3 a n-6 LC PUFA (označované také jako vitamin F). Nejvydatnějším zdrojem n-3 PUFA je mořský fytoplankton, základní článek potravinového řetězce mořských živočichů (Flachs et al., v tisku).

Výchozí esenciální mastná kyselina (EFA) pro řadu n-6 je kyselina linolová (LA) a kyselina α -linolenová (ALA) pro řadu n-3. Strukturální vzorce mastných kyselin (MK) (viz obr. 1). Při této reakci dochází k desaturaci pomocí Δ 6-desaturasy, Δ 5-desaturasy. Dvojná vazba v poloze 4 vzniká kombinací elongace, Δ 6D a β -oxidace. Po každé desaturaci následuje elongace prostřednictvím elongas (Žák et al., 2005).

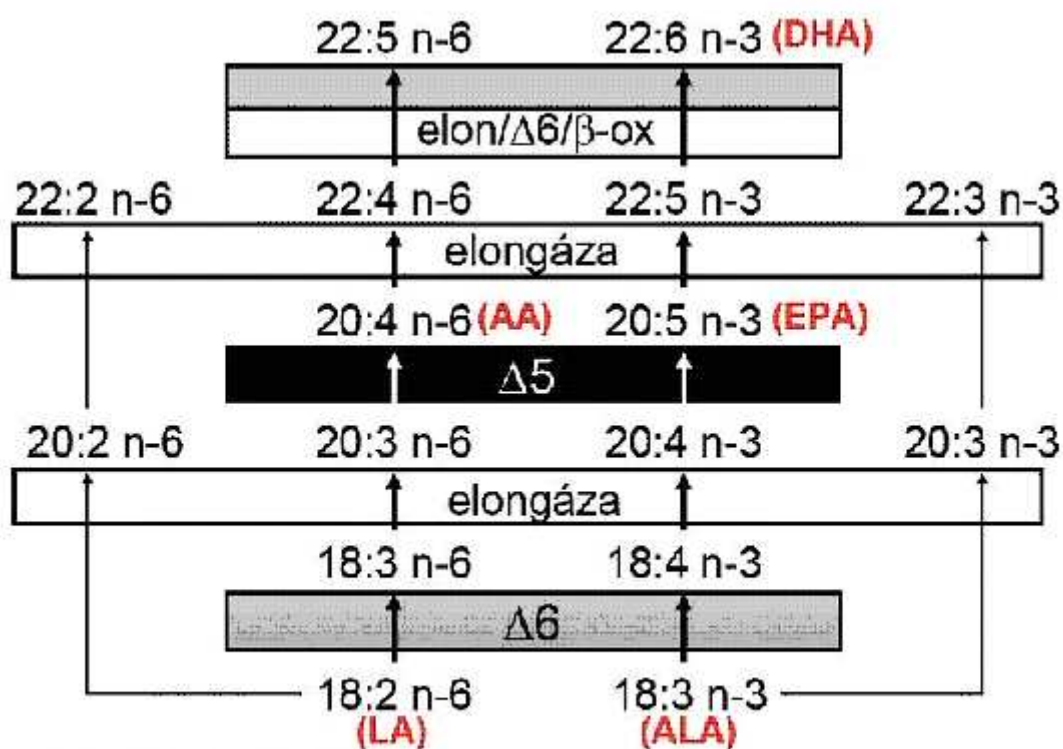


Číslo před dvojtečkou udává počet atomů uhlíku, za dvojtečkou počet dvojných vazeb; číslo za n značí umístění první dvojné vazby na atomu uhlíku počítáno od methylového (omega) konce mastné kyseliny. Δ -poloha dvojných vazby podle IUPAC nomenklatury (od karboxylové skupiny), ω -číslování uhlíkového řetězce od methylového konce (n-x notace).

Obrázek 1 – Strukturální vzorce některých relevantních mastných kyselin. Žák, A., Tvrzická, E., Zeman, M., Vecka, M. 2005. Patofyziologie a klinický význam vícenenasycených mastných kyselin řady n-3. *Časopis lékařů českých* 144, Supplementum 1, s. 6 – 18

LA a ALA vzájemně kompetují o enzym Δ 6D, tedy již na úrovni prvního metabolického kroku potřebného pro jejich další konverzi. Nadbytek LA brzdí tvorbu EPA, DHA (n-3 LC-PUFA). I bez této inhibice však syntéza EPA a DHA z jejich prekurzoru ALA probíhá relativně pomalu, a proto má zvýšení příjmu EPA a DHA za určitých situací efekt i při dostatku ALA v potravě (Flachs et al., v tisku). U člověka dochází k metabolické přeměně ALA na DHA přibližně ze 4 – 5% (Žák et al., 2005).

EPA a DHA jsou navzájem konvertovatelné (viz obr. 2). Nadbytek ALA potlačuje metabolismus LA, na prvním místě tvorbu kyseliny arachidonové (AA) (Flachs et al., v tisku).



Obrázek 2 - Metabolismus esenciálních mastných kyselin. Flachs, P., Kopecký, J., Rossmeisl M. V tisku. Vliv vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 na citlivost k inzulinu. In Pelikánová T. (Ed.), Trendy soudobé diabetologie. Praha: Galén

2. 3. Mechanismus působení n-3 LC-PUFA

Biologické účinky n-3 LC-PUFA jsou založeny na modulaci metabolismu eikosanoidů, změně vlastností membrán a modulaci genové transkripce. Všechny tyto děje se vzájemně ovlivňují, čímž se projevuje pleiotropní efekt těchto kyselin v řadě tkání.

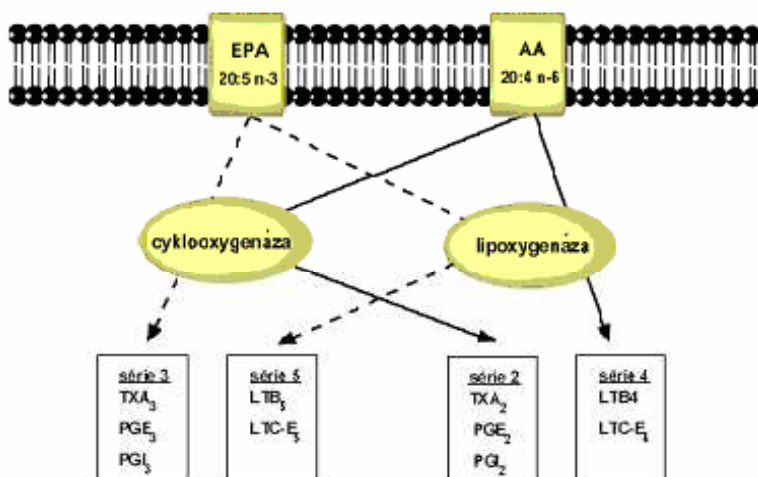
2. 3. 1. Modulace metabolismu eikosanoidů

Mnoho biologických účinků LC-PUFA řad n-3, n-6 závisí na působení jejich aktivních metabolitů – eikosanoidů. Tyto látky vznikají po uvolnění LC-PUFA fosfolipasou A2 z fosfolipidů (viz obr. 3). Z kyseliny arachidonové (AA) vznikají prostaglandiny a tromboxany 2. série a leukotrieny 4. série. Z EPA vznikají prostaglandiny a tromboxany 3. série a leukotrieny 5. série. Eikosanoidy působí autokrinně a parakrinně. I eikosanoidy ze stejné skupiny mají často odlišný biologický efekt, např. na úrovni imunitního a kardiovaskulárního systému či v tukové tkáni.

Tvorba prostaglandinů a tromboxanů závisí zejména na aktivitě cyklooxygenázy (typu 1 a 2), pro kterou je „lepší“ substrátem AA než EPA, a aktivitě lipoxygenázy, u které jsou preference pro AA a EPA opačné. AA a EPA vzájemně soutěží o katalýzu cyklooxygenázou

a EPA i DHA aktivitu tohoto enzymu přímo inhibují. Proto již malé zvýšení obsahu n-3 LC-PUFA výrazně zbrzdí syntézu eikosanoidů z AA. Tímto mechanismem lze zřejmě vysvětlit celou řadu příznivých účinků n-3 LC-PUFA, zejména na potlačení zánětu, krevní srážlivosti, proliferace nádorových buněk a tukových buněk, i bolesti (Flachs et al., v tisku).

Kompetice mezi LC-PUFA řad n-3 a n-6 o společné metabolické kroky má praktický význam. Stále stoupající množství LA (tj. n-6 LC-PUFA) v lidské stravě brání příznivým vlivům n-3 LC-PUFA na citlivost k inzulinu a podporuje akumulaci tukové tkáně. Proto se také příznivý efekt ALA (tj. n-3 LC-PUFA) projeví spíše v dietě založené na živočišných tucích (s relativně nízkým obsahem LA) (Flachs et al., v tisku), než za přítomnosti běžných rostlinných olejů (s vyšším obsahem LA) (Dlouhý a Marhol, 1999), viz kapitola 2. 4. Jestliže dieta obsahuje hodně LA, pouze dodání EPA a DHA, a ne ALA vede k žádoucímu účinku (Storlien et al., 1991).



Obrázek 3 –Vznik eikosanoidů po uvolnění LC-PUFA z fosfolipidů. Flachs, P., Kopecký, J, Rossmeisl M. V tisku. Vliv vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 na citlivost k inzulinu. In Pelikánová T. (Ed.), Trendy soudobé diabetologie. Praha: Galén

AA a EPA, dvacetihlíkaté (eikosa) PUFA jsou prekurzory signálních molekul – eikosanoidů. Různé typy buněk tvoří různé typy molekul. Například, krevní destičky produkují převážně tromboxany (TXA), endoteliální buňky prostacykliny (PGI), leukocyty leukotrieny (LTB), tukové buňky prostaglandiny (PGE), atd. Konverze AA a EPA na eikosanoidy zahrnuje dvě hlavní enzymové aktivity (cyklooxygenázovou a lipoxygenázovou), které jsou společné pro oba prekurzory.

2. 3. 2. Změna vlastností membrán

LC-PUFA se vyskytují v různých třídách lipidů, především ve fosfolipidech (PL), základních součástech buněčných membrán, a také v esterech cholesterolu. Mastné kyseliny řady n-3 jsou významně zastoupeny v mozkové kůře, sítnici a ve spermiích (Žák et al., 2005).

Po inkorporaci do PL jsou schopny měnit jejich strukturu (tloušťku) a fyzikálně–chemické vlastnosti (fluiditu) a následně ovlivnit strukturu i funkci s nimi asociovaných proteinových struktur (enzymy, iontové kanály, přenašeče, signální funkce) (Žák et al., 2005).

Suplementací n-3 PUFA experimentálními zvířaty se zjistilo, že byla ovlivněna aktivita proteinkinasy C (PKC). Uvažuje se, že suplementace n-3 PUFA by mohla zásahem do aktivit druhých posílů – diacylglycerolů a inositoltrifosfátu ovlivnit inzulinovou rezistenci (Žák et al., 2005).

2. 3. 3. Modulace genové transkripce

Vysoce nenasycené n-3 a n-6 LC-PUFA (20-22C) působí jako modulátory genové transkripce. Předpokládá se, že mohou ovlivňovat následující transkripční faktory:

1. receptory aktivované peroxizomálními proliferátory (PPAR)- α , β/δ , γ_1 , γ_2
2. jaterní X-receptory (LXR) typu α a β
3. jaterní nukleární faktor-4 α (hepatic nuclear factor HNF)
4. transkripční faktor SREBP-1 a -2 (sterol regulatory element-binding protein)

Ve vztahu k metabolismu a působení n-3 PUFA jsou nejvíce prozkoumány jaderné receptory - PPAR. Aktivace všech tří izoform probíhá v několika krocích. Po vazbě PPAR s jeho ligandem (např. fibrát, n-3 PUFA) se vytváří heterodimer s jaderným receptorem. Tím je receptor 9-cis retinové kyseliny (9-cis retinoic acid receptor-RXR). Výsledný heterodimer (PPAR α /RXR) se váže na odpovídající sekvence DNA (peroxisome proliferator response elements - PPRE) a potencuje nebo potlačuje expresi cílových genů interferencí s jadernými faktory (Žák et al., 2005).

Popsané skupiny PPAR jsou kódovány ze separátních genů. **PPAR α** je exprimován převážně v játrech, dále v srdci, střevě, ledvinách (Braissant et al., 1996) a v hnědé tukové tkáni (Jones et al., 1995). Zvyšuje expresi přenašečů pro transport MK do nitra buněk FABP-1, translokasu MK (FAT), acyl-CoA syntasu, karnitinpalmitoyltransferasu-1 (CPT-1). Zvyšuje se exprese enzymů účastnících se ketogeneze a mitochondriální β - oxidace. Jako aktivátory se uplatňují leukotrieny (LTB4)

a LC-PUFA (n-3>n-6). Působí hypotriglyceridimicky v důsledku zvýšené exprese liproteinlipázy (LPL). N-3 PUFA působí protizánětlivě přes tento jaderný receptor, protože heterodimer PPAR α /RXR interferuje s jaderným faktorem NF κ B (Žák et al., 2005).

Exprese **PPAR β/δ** je zajišťována ve většině tkání a orgánů. Izoformy β/δ se podílejí na diferenciaci svalů, kůže, tukové tkáně, buněk centrálního nervového systému i jater (Žák et al., 2005).

PPAR γ je přítomen především v tukové tkáni a ve střevě (Žák et al., 2005), dále se exprimuje v kosterním svalu, játrech a pankreatu (Kintscher a Law, 2004). Aktivuje se PGJ2 (Žák et al., 2005), n-3 PUFA a TZD (Kintscher a Law, 2005). Reguluje uskladňování TG, diferenciaci adipocytů, glycidový a lipidový metabolismus (Žák et al., 2005).

Druhou skupinou transkripčních faktorů jsou **LXR**, které aktivují lipogenezi a syntézu TG (asi nepřímo přes SREBP-1c). Aktivací 7 α -hydroxylasy cholesterolu (CYP7A) ovlivňují katabolismus cholesterolu za vzniku žlučových kyselin (Žák et al., 2005).

Třetí skupinou transkripčních faktorů, jejichž aktivitu ovlivňují MK, je **HNF- 4 α** . Thioestery acyl CoA syntetizované z PUFA inhibují HNF- 4 α (Žák et al., 2005). HNF- α se podílí na syntéze cholesterolu, syntéze a sekreci apolipoproteinů a mikrozomální β -oxidaci MK. Fibráty vazbou na PPAR α a vznikem komplexu PPAR α /RXR kompetují s HNF-4 α o specifické vazebné sekvence a inhibují transkripci cílových genů (apo CIII, apo B100, syntéza žlučových kyselin) (Žák et al., 2005).

SREBP jsou poslední skupinou transkripčních faktorů . **SREBP -1a** a **SREBP-2** ovlivňují geny zapojené do metabolismu a syntézy cholesterolu. Např.: HMG-CoA syntasu, HMG-CoA reduktasu, farnesylpyrofosfát syntasu, skvalen syntasu a LDL-receptor. Aktivací **SREBP-1c** je exprimována řada genů syntézy MK a TG jako je acetyl-CoA karboxylasa, FA syntasa, stearoyl CoA desaturasa a glycerol-3-fosfát acyltransferasa. Je regulován dostupností substrátů a inzulinem. Neesterifikované LC-PUFA zpětnovazebně ovlivňují koncentraci SREBP-1 a -2 několika mechanismy – zvyšují proteolýzu jeho prekurzorů, inhibují jejich transkripci a zvyšují katabolismus mRNA SREBP (Žák et al., 2005).

2. 4. Zdroje n-3 a n-6 LC-PUFA

Z hlediska obsahu n-3 a n-6 LC-PUFA v dietě je důležité nejenom jejich absolutní množství, ale také jejich vzájemný poměr. V dnešní době je hlavním problémem vysoký poměr n-6/n-3 v dietě, který je asi 10:1-14:1 a stále stoupá. V mezolitu byl tento poměr nižší, zhruba 1:1 – 5:1. V současnosti tedy nestačí pouze zvýšit obsah n-3 LC-PUFA, ale zároveň je třeba snížit zastoupení n-6 PUFA v dietě (Flachs et al., v tisku).

N-6 PUFA jsou hojně obsaženy v běžně používaných olejích – slunečnicový (60% LA), sojový (50% LA) a kukuřice (40% LA) (Dlouhý a Marhol, 1999). **N-3 PUFA** (ALA) jsou zastoupeny v rostlinných olejích, lněném a řepkovém. Další oleje, sojový, konopný a oleje ze pšeničných klíčků a vlašských ořechů obsahují ALA, ale také vysoké množství LA (Dlouhý a Marhol, 1999). Hlavním potravinovým zdrojem n-3, EPA a DHA je maso mořských ryb, paryb a dalších mořských živočichů. Nejvíce EPA, DHA (2 - 4 g/100 g masa) mají tučné ryby: losos, makrela, tuňák, sardinka, sled' a mečoun. Méně pak ryby s bílým masem: treska, mořská štika (hejk), mořský okoun, platýz (halibut), plachetník. A dále konzervovaný tuňák a také žralok (Flachs et al., v tisku). Dalším zdrojem n-3 LC PUFA jsou koncentráty s vysokým obsahem purifikovaných EPA a DHA. Patří mezi dietetika, doplňky stravy. V ČR je na trhu MaxiCor Omega 3 Forte (SVUS Pharma a. s., ČR), který obsahuje 0,225 g EPA a 0,17 g DHA v tobolce (0,5 g) (internet - 1). Omacor (Pronova Biocare a. s., Norsko) byl zaregistrován jako lék ve skupině hypolipidemik v ČR v 2005. Každá tobolka (1 g) obsahuje 0,46 g EPA a 0,38 g DHA (internet – 2).

2. 5. Rizika spojená s konzumací EPA a DHA

Doporučená denní dávka pro normální dospělou populaci se pohybuje mezi 1 - 2 g n-3 PUFA, z toho 0,2 - 0,55 g pro EPA a DHA a zbytek pro jejich prekurzor, ALA. Maximální doporučená (bezpečná) dávka podle „US Food and Drug Administration“ je 3 g EPA a DHA na osobu za den. Těhotné ženy, ženy plánující těhotenství a kojící matky by měly přijímat podobná množství n-3 LC-PUFA jako normální populace. Podle Evropského úřadu pro kontrolu bezpečnosti potravin (EFSA) konzumace jedné nebo (preferenčně) dvou porcí tučných ryb (porce 130 g) týdně zajistí dostatečný přísun LC-PUFA řady n-3, jinak se můžou projevit nežádoucí účinky jako dyspepsie a nauzea.

Vzhledem k tomu, že dochází ke kontaminaci životního prostředí xenobiotiky (PCB, dioxiny, DDT, hexachlorbenzen) se tyto látky akumulují v tukové tkáni mořských tučných ryb. Alkylderiváty rtuti (metylrť) se váží v těle na bílkoviny, jejich hromadění v těle je nezávislé na obsahu tuku, proto jsou jimi postiženy nejvíce mořské dravé ryby (mečoun, tuňák) a žralok, kteří stojí na vrcholu potravního řetězce. Podle EFSA jsou nejvíce kontaminované ryby z Baltského moře (Flachs et al., v tisku).

Z toho vyplývá maximální doporučený příjem mořských tučných ryb (lososa a dalších) 4 porce týdně a 1 porce dravých (mečouna) či žraloka týdně (Flachs et al., v tisku). Zvýšený přísun n-3, n-6 PUFA vede ke zvýšenému počtu dvojných vazeb, a tím i ke zvýšení substrátové nabídky peroxidace lipidů (Žák et al., 2005). Proto je nutné zvýšit příjem antioxidantů např. vitamínu E (internet – 3). Avšak zvýšený příjem n-3 PUFA v potravě ve srovnání s řadou n-6 vede ke zvýšení transkripce antioxidantních enzymů – odpráhuujícího proteinu 2 (UCP2), superoxidodismutasy (SOD), glutathion transferasy a snížené transkripci enzymů podílejících se na produkci reaktivních kyslíkatých a dusíkatých látek (RONS – reactive oxygen and nitrogen substance) (Žák et al., 2005).

Studiem populací Inuitů v Grónsku, kde je dlouhodobý denní příjem EPA a DHA často více než 4,5 g se zjistil nežádoucí účinek, tj. středně zvýšená krvácivost (Flachs et al., v tisku).

3. IR a vztah n-3 LC-PUFA k metabolickému syndromu

Obezita s přednostním hromaděním tuku v abdomenu (androidní, centrální, viscerální obezita), DM II., hypertenze a dyslipidémie se často vyskytují společně, jsou součástí metabolického syndromu. Genetická možnost rozvoje metabolického syndromu je pravděpodobná u 40% populace, na druhou stranu je metabolický syndrom indukován vnějšími faktory, jako je nadměrný přísun energie, nedostatek fyzické aktivity, což vede k obezitě (Svačina, 2004). Podle nejnovější definice, která byla formulována v roce 2005 organizací „International Diabetes Federation“ metabolický syndrom vyžaduje přítomnost centrální obezity (obvod pasu u mužů a u žen 94 cm, resp. 80 cm, hodnoty platné pro evropské etnikum) a minimálně dva z dalších faktorů, kterými jsou:

- a) hypertriglyceridémie (hladina TG v plazmě $>150\text{mg/dl}$, tedy $1,7\text{ mmol/l}$ nebo specifická léčba tohoto stavu)
- b) nižší HDL – (cholesterol $<40\text{ mg/dl}$, tedy $1,03\text{ mmol/l}$ u mužů a 50 mg/dl , tedy $1,29\text{ mmol/l}$ u žen , nebo specifická léčba tohoto stavu)
- c) hypertenze (systolický a diastolický tlak ≥ 130 , resp. 85 mm Hg , nebo léčba již diagnostikované hypertenze)
- d) glykémie na lačno $\geq 100\text{ mg/dl}$, tedy $5,6\text{ mmol/l}$, nebo již diagnostikovaný DM II. (Alberti et al., 2005).

Definice metabolického syndromu má praktický význam, protože jeho diagnóza značí riziko dosud nerozpoznaného dalšího onemocnění, např. DM II. nebo CVD. Existence společných genetických podkladů a patofyziologie onemocnění, sdružených v metabolickém syndromu, také implikuje jejich společnou prevenci a léčbu (Flachs et al., v tisku).

3. 1. Inzulinová rezistence a obezita

Inzulin je peptidický hormon, který za fyziologických podmínek inhibuje aktivitu hormon senzitivní lipázy (HSL) v tukové tkáni, čímž snižuje uvolňování mastných kyselin, ale i glycerolu do krevní plazmy (Mayes, 2002d). Pokud dojde ke snížení schopnosti inzulinu inhibovat in vivo jaterní produkci glukózy a stimulovat transport a utilizaci glukózy v periferních tkáních včetně kosterního svalu a tukové tkáně, pak vzniká IR, která je většinou spojena s centrální obezitou. Pokusy na zvířatech i klinické populační studie u lidí ukazují, že příjem n-3 LC-PUFA ovlivňuje alespoň za určitých podmínek, jak obezitu, tak IR (Delarue et al., 2004; Lombardo a Chicco, 2006).

Příčiny vzniku IR jsou různé. Genetické, tak i vnější, např. indukce vysokotukou dietou (Storlien et al., 1987, 1991) či dieta s vysokým obsahem cukrů (Flachs et al., v tisku). V případě DM II. se hovoří o postreceptorové poruše, na podkladě poruchy převodu inzulinového signálu do jádra (Svačina, 2004). V poslední době se ukazuje, že za poruchou inzulinové signalizace stojí prozánětlivé cytokiny sekretované adipocyty (Hotamisligil et al., 1993). Podrobněji v kapitole 4.

Na myším modelu bylo pozorováno, že vysokotuká dieta neindukuje jenom IR, ale také obezitu. Přítomnost n-3 LC-PUFA ve vysokotuké dietě omezuje akumulaci tuku především v abdomenu (Růžičková et al., 2004). Na systémové úrovni se tyto efekty projevují snížením plasmatických koncentrací TG, NEFA, inzulinu a změnami koncentrací adipokinů, především vzestupem hladin adiponektinu (Flachs et al., 2006).

Řada studií provedených na laboratorních hlodavcích dokládá preventivní účinek n-3 LC-PUFA na rozvoj IR indukované, jak dietou s vysokým obsahem sacharózy/fruktózy (Flachs et al., v tisku), tak tuků (Storlien et al., 1987; Růžičková et al., 2004). O tom, že složení tuků v dietě výrazně ovlivňuje rozvoj obezity a IR, svědčí pokusy Storliena a kol. na potkanech (Storlien et al., 1987, 1991). Tito autoři ukázali, že náhrada pouhých 6% LA obsažené v rostlinném oleji v dietě (ve které byl tento olej jedinou lipidovou složkou a tvořil 59% energetického obsahu) za EPA a DHA brání rozvoji IR, která se jinak objeví již po několika týdnech působení této vysokotuké diety. N-3 LC-PUFA brání rozvoji IR v hyperinzulinemických podmínkách tak, že napomáhají inzulinu potlačit jaterní tvorbu glukózy a zlepšují nasměrování glukózy do periferních tkání (Storlien et al., 1987). Pokusy na myších a potkanech prokázaly, že příjem saturovaných mastných kyselin stimuluje ukládání tuku mnohem více, než příjem PUFA, zejména EPA a DHA (Růžičková et al., 2004). Například u myší lze výrazně omezit rozvoj obezity indukované dietou s vysokým obsahem tuku

(35%) substitucí 15% tuku v dietě za EPA a DHA (Růžičková et al., 2004; Flachs et al., 2005). Pokusy na myších z laboratoře Dr. Kopeckého ukázaly, že dojde-li již k nahromadění tuku v těle, mají EPA a DHA výrazně menší schopnost redukovat jeho množství než v případě, kdy tyto látky brání rozvoji obezity (Flachs et al., v tisku). Studie na zdravých dobrovolnících ukazuje, že nahrazení 6 g lipidů v dietě za rybí olej vedlo ke zvýšení basální oxidace lipidů. Množství tělesného tuku se snížilo, aniž by se změnila tělesná hmotnost (Couet et al., 1997).

Několik klinických studií na malém počtu osob naznačuje, že vyšší dávky EPA a DHA (větší než 2g/den) by mohly pomáhat redukovat nadváhu u obézních pacientů (Flachs et al., v tisku; Kunešová et al., 2006; Mori et al., 1999) zejména v kombinaci s omezením kalorického příjmu (Mori et al., 1999; Kunešová et al., 2006).

Ačkoliv mechanismus, jakým n-3 LC-PUFA zlepšuje citlivost k inzulinu u výše uvedených modelů není zcela jasný, společným jmenovatelem jejich působení je prevence ukládání TG a vzestup metabolitů LC-PUFA v játrech a kosterním svalu (Storlien et al., 1991).

3. 2. Perinatální působení n-3 LC-PUFA a dlouhodobé efekty ve vztahu k obezitě a IR

Zjistilo se, že LC-PUFA ovlivňují plod, novorozence i kojence. Jejich nutriční vlivy se projevují i v pozdějším věku (Flachs et al., v tisku). Rychlost vzniku AA a DHA u fetů a novorozenců je zanedbatelná (Genzel-Boroviczeny et al, 1997), proto jsou odkázáni na přísun těchto látek přes placentu od matky hlavně v posledním trimestru těhotenství (Haggarty et al., 1999). Po narození tyto kyseliny získávají z mateřského mléka. Problém nastává u předčasně narozených jedinců, a u dětí, kteří nejsou kojeni mateřským mlékem, ale dostávají standardní umělou výživu pro donošené novorozence, kde tyto látky chybí (Genzel-Boroviczeny et al, 1997). N-3 LC-PUFA jsou důležité pro rozvoj mozku během fetálního, tak postnatálního období. DHA je potřebná pro maturaci sítnice a zrakové kůry (Uauy a Dangour, 2006). Nedávná metaanalýza poukazuje na nižší incidenci obezity dětí školního věku, jež byly kojeny mateřským mlékem na místo umělé výživy (Flachs et al., v tisku). Populační studie na kanadských indiánech ukázala, že kojení delší než 12 měsíců snižuje riziko vzniku DM II. před 18. rokem o 80% (Flachs et al., v tisku). Pokusy na myších podporují domněnku, že protektivní vliv kojení na obezitu spočívá zejména v poměru n6/n-3 ve výživě. V poslední době dochází k výraznému zvýšení poměru n-6/n-3 v potravě, čímž se mění složení mateřského mléka, a tak by se mohla zvýšit incidence obezity u dětí (Massiera et al., 2003). Efekt kojení ve výše uvedených studiích pravděpodobně souvisí i s jinými faktory než s obsahem LC-PUFA v mléce (např. obsahem bílkovin) (Flachs et al., v tisku) a nebo závisí na genetické výbavě specifické pro určitou lidskou populaci.

3. 3. Vliv n-3 LC-PUFA na citlivost k inzulinu

3. 3. 1. Působení n-3 LC-PUFA v tukové tkáni

Metabolické vlastnosti tukové tkáně se liší v závislosti na převládajícím typu adipocytů a na anatomickém uložení v těle. Podle morfologie adipocytů rozlišujeme bílou tukovou tkáň (BTT) s unilokulárními adipocyty, která je zásobárnou chemické energie v podobě uskladněných TG. Druhým typem je hnědá tuková tkáň. (HTT) s multilokulárními adipocyty, která funguje jako termogenní orgán. U člověka HTT rychle ubývá v prvním roce života, ale nezaniká úplně. Roztroušené ostrůvky multilokulárních adipocytů zůstávají roztroušeny v BTT. (Kopecký a Flachs, 2004)

Cílem EPA, DHA v tukové tkáni je jaderný receptor PPAR γ (Flachs et al., 2006), který je též vazebným místem pro antidiabetika ze skupiny thiazolidindionů (TZD) (Kintscher a Law, 2005). Vazbou uvedených ligandů na receptor dojde k jeho aktivaci a následné stimulaci exprese genů nezbytných pro diferenciaci tukové buňky, zejména genů pro přenašeče mastných kyselin a pro lipogenezi. V adipocytech je však aktivována i oxidace mastných kyselin, možná prostřednictvím PPAR α a PPAR δ (Flachs et al., v tisku). Flachs a kol. na myších modelech ukázali, že EPA a DHA zvyšují v tukové tkáni myši tvorbu mitochondrií, čímž stoupá oxidační kapacita buněk. Specificky ve viscerální tukové tkáni (ale ne v podkoží) je aktivován i gen pro enzym CPT, nezbytný pro transport mastných kyselin do mitochondrií a tím i pro β - oxidaci mastných kyselin. Zvýšení oxidace lipidů v adipocytech zřejmě přispívá u těchto zvířat k protektivnímu vlivu EPA a DHA na obezitu indukovanou vysokotukovou dietou (Flachs et al., 2005), i k hypolipidemickému účinku EPA, DHA a TZD. Protektivní vliv n-3 LC-PUFA na obezitu u myši je vyšší u DHA než u EPA a pouze v případě DHA je pravděpodobně spojen i s inhibicí proliferace tukových buněk (Růžičková et al, 2004).

Protože malé buňky mají větší kapacitu „vyčistit“ mastné kyseliny než hypertrofované adipocyty, předpokládá se, že malé buňky fungují jako „pufr“ pro lipidy a omezují tak lipotoxické poškození ve svalu a dalších tkáních (Kintscher a Law, 2005).

EPA a DHA aktivují expresi a vyplavování adiponektinu z tukové tkáně během indukce IR u myši krmených vysokotukovou dietou (Flachs et al., 2006). Neví se, zda i EPA a DHA působí na adiponektin a další adipokiny u obézních a inzulinorezistentních zvířat a lidí podobně jako TZD. Efekt n-3 LC-PUFA na citlivost k inzulinu v tukové tkáni závisí nejenom na jejich vlivu na biofyzikální vlastnosti membrán a na sekreci adipokinů (Flachs et al., v tisku). Tyto látky také ovlivňují transkripci genu pro Glut 4 (Růžičková et al., 2004) a transport glukózy do

buněk. Exprese a transport jsou inhibovány u krys a myší krmených vysokotukovou dietou paralelně s navozením IR. Přídavek EPA a DHA do diety této inhibici brání (Lombardo a Chicco, 2006).

3. 3. 2. Působení n- 3 LC-PUFA v játrech

Játra jsou ústředním metabolickým a detoxikačním orgánem, podílí se na udržování glykémie, vytvářejí i odbourávají triacylglyceroly, lipoproteiny a cholesterol, za normálních okolností váží až 40% inzulinu. Hepatocyty jsou (na rozdíl od myocytů a adipocytů) volně prostupné pro glukózu a transport glukózy do jater je nezávislý na inzulinu. Snižují nároky na oxidační kapacitu svalů, protože metabolisují laktát uvolněný ze svalu a tukové tkáně na glukózu (Kopecký a Flachs, 2004). Ukazatelem IR je větší jaterní produkce glukózy (Svačina, 2004).

Nejvýznamnější efekty n-3 LC- PUFA jsou spojeny s aktivací PPAR α , který je stimulem pro zvýšení exprese genů nezbytných pro oxidaci lipidů v peroxisomech a mitochondriích. Snížením exprese transkripčního faktoru SREBP-1, inhibují lipogenní geny a snižují tvorbu mastných kyselin, TG i VLDL (Lombardo a Chicco, 2006), viz *obr. 4*.

V pokusech na potkanech bylo prokázáno, že EPA a DHA stimuluje aktivitu AMPK (AMP-aktivovaná proteinkináza) v jaterních buňkách. Fosforylací pomocí AMPK se inaktivuje ACC (acetyl-CoA karboxylasa), klesá exprese FAS (syntasa mastných kyselin) a stoupá CPT-1 v játrech (Suchánková et al., 2005). To potencuje metabolické vlivy n-3 LC-PUFA zprostředkované přes PPAR α a SREBP-1. V důsledku všech těchto změn klesá obsah TG v hepatocytech a stoupá citlivost hepatocytů k inzulinu. Na úrovni celého organismu se metabolické ovlivnění jater projeví zejména poklesem VLDL-TG. To je u lidí nejvýraznějším projevem příjmu EPA a DHA (Flachs et al., v tisku).

3. 3. 3. Působení n- 3 LC-PUFA ve svalu

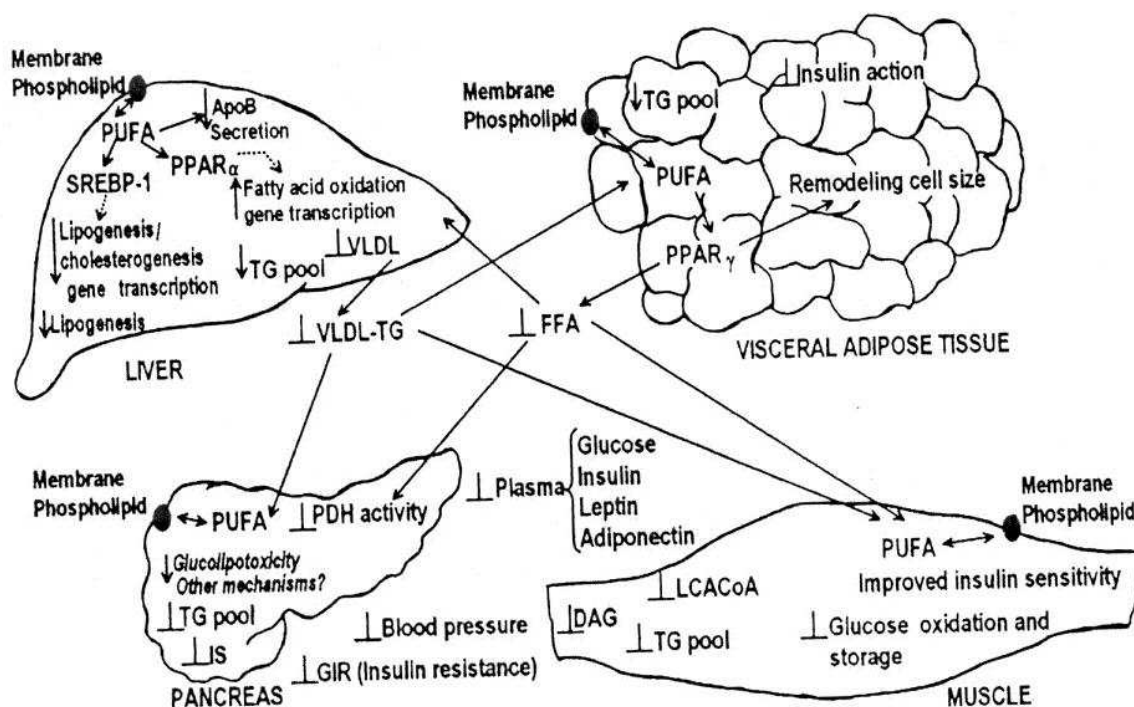
Hlavními energetickými zdroji kosterního svalu jsou glukóza přijímaná z krve nebo uvolňovaná z glykogenu, mastné kyseliny a ketonové látky. Svaly se spolu s játry podílí na kontrole glykemie, avšak nejsou glukoneogenním orgánem, protože nemohou exportovat glukózu do krve. Jsou též hlavním místem metabolismu aminokyselin, a v případě negativní energetické bilance jsou i hlavním zdrojem proteinů v těle.

V kosterním svalu rozlišujeme 2 typy svalových vláken, glykolytická (vlákna typu II), nezbytná zejména pro krátkodobý a intenzivní svalový výkon probíhající z velké části anaerobně. energii spotřebovávají hlavně z glukózy. Oxidativní vlákna (vlákna typu I) zajišťují zejména dlouhotrvající svalovou práci, energetickým zdrojem jsou mastné kyseliny a ketolátky. V klidu je hlavním energetickým zdrojem glukóza, ale její zásoby vydrží max. na 24 hod. Již po několikahodinovém hladovění se aktivuje oxidace mastných kyselin vyplavených z tukové tkáně. Také v případě svalové práce o vyšší intenzitě jsou přednostně mobilizovány energetické zásoby glykogenu, teprve po 2 hod se začínají oxidovat mastné kyseliny. Při dlouhotrvající práci o nižší intenzitě jsou mastné kyseliny hlavním energetickým zdrojem po celou dobu výkonu. Přednostně jsou oxidovány mastné kyseliny uvolňované z endogenních TG v myocytech. Až 25% glycerolu v krvi pochází z lipolýzy ve svalech. Na rozdíl od tukové tkáně není lipolýza inhibována inzulinem, takže za hladovění vlivem poklesu krevních hladin inzulinu, aktivita LPL ve svalu stoupá a v tukové tkáni klesá (Kopecký a Flachs, 2004).

Na rozdíl od přímých účinků n-3 LC PUFA na genovou expresi a metabolismus v tukové tkáni, játrech a také sekreci adipokinů, ve svalech zřejmě převažují nepřímé účinky těchto látek. Preventivní vliv EPA a DHA na rozvoj IR ve svalech hlodavců krměných vysokotukovou dietou koreluje se snižováním obsahu TG v této tkáni (Storlien et al., 1991). Pravděpodobně je to díky hypolipidemickému působení EPA a DHA, které závisí na změnách lipogeneze v játrech a indukci oxidace mastných kyselin v tukové tkáni (*viz výše*). Indukce uvolňování adiponektinu z tukové tkáně vlivem EPA a DHA (a také vlivem TZD) vede ke stimulaci AMPK ve svalu. AMPK stimuluje oxidaci mastných kyselin i vstup glukózy do myocytů. EPA a DHA však mohou ovlivňovat citlivost svalu k inzulinu také přímým působením na PPAR γ ve svalu (Flachs et al., v tisku). Prevence IR ve svalech hlodavců krměných vysokotukovou dietou koreluje s obsahem n-3 LC-PUFA ve fosfolipidech v této tkáni (Storlien et al., 1991).

3. 3. 4. Působení n-3 LC-PUFA na pankreas

Chronické zvýšení hladin NEFA v plazmě vede k lipotoxickému poškození β -buněk pankreatu a porušení sekrece inzulinu. U potkanů k tomu dojde při dyslipidémii indukované dietou s vysokým obsahem sacharózy. Pokusy na izolovaných pankreatických ostrůvcích potkana inkubovaných s n-3 LC-PUFA in vitro naznačily, že také EPA a DHA by mohly sekreci inzulinu snižovat (Flachs et al., v tisku). V pokusech na celém zvířeti se to však nepotvrdilo, protože příjem n-3 LC-PUFA formou rybího tuku v dietě normalizoval v β -buněk obsah TG a aktivitu PDH i glukózou-stimulovanou sekreci inzulinu (Lombardo a Chicco, 2006).



Obrázek 4: Možný mechanismus, kterým působí n-3 PUFA (EPA, DHA) z rybích olejů na zlepšení či reverzi metabolických abnormalit indukovaných dlouhodobým příjmem vysokocukerné diety. Lombardo, YB., Chicco, AG. 2006. Review. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. *J. Nutr. Biochem.* 17, 1 – 13

3. 4. Prevence a reverze IR vlivem n-3 LC-PUFA

3. 4. 1. Prevence a reverze IR vlivem n-3 LC-PUFA u zvířat

Na rozdíl od pokusů, které jasně prokazují preventivní vliv n-3 LC-PUFA viz výše na rozvoj IR a obezity u zvířat, výsledky experimentálních snah zvrátit již rozvinutou IR pomocí n-3 LC-PUFA nejsou jednoznačné. Většina těchto prací vychází z modelu IR indukované u laboratorního potkana dietou s vysokým obsahem sacharózy (Lombardo a Chicco, 2006). Podávání n-3 LC-PUFA ve formě rybího oleje (16% energetického obsahu diety) po dobu dvou měsíců vedly u tohoto modelu k normalizaci hladin TG a NEFA v plasmě, obsahu TG a syntézy glykogenu ve svalu a k normalizaci glukózové tolerance a citlivosti k inzulinu. Jiná studie na tomto modelu však účinek rybího oleje (6% energetického obsahu diety) podávaného po dobu 5 týdnů na citlivost k inzulinu neprokázala (Flachs et al., v tisku).

3. 4. 2. Prevence a reverze IR vlivem n-3 LC-PUFA u lidí

Studie na zdravých lidech s normální glukózovou homeostázou naznačují, že n-3 LC-PUFA by mohly bránit rozvoji IR a glukózové intolerance (Feskens et al., 1995; Flachs et al., v tisku). Podávání 6 g rybího oleje/den (1,1 g EPA a 0,7 g DHA) po dobu 3 týdnů u mladých zdravých osob vedlo ke snížení inzulinémie v průběhu orálního glukózového tolerančního testu o 40%, a to při nezměněné glykemické odpovědi (Delarue et al., 1996). Z epidemiologických studií prováděných Feskensem a spol. vyplývá, že zvýšený příjem mořských ryb vedl u starších osob ke snížení relativního rizika porušené glukózové tolerance o 60% (Flachs et al., v tisku) a negativně koreloval s hodnotou glykémie 2 hodiny po zátěži glukózou (Feskens et al., 1995). Podávání rybího oleje navodilo vyšší celotělovou oxidaci MK (Couet et al., 1997). Ne všechny studie na zdravých jedincích však prokázaly pozitivní efekt n-3 LC-PUFA na citlivost k inzulinu. Množství 3,6 g n-3 LC-PUFA v dietě s vysokým obsahem satureovaných nebo mononenasycených MK neovlivnila citlivost k inzulinu (Vessby et al., 2001).

Z hlediska účinků n-3 LC-PUFA na glukózovou homeostázu diabetiků jsou výsledky málo povzbudivé. Meta-analýza osmnácti studií na pacientech s diabetem či metabolickým syndromem ukázala, že ačkoliv n-3 LC-PUFA ve srovnání s placebem významně snižovaly koncentraci TG v plasmě (v průměru o 32 %), n-3 LC-PUFA neovlivnily hladiny celkového cholesterolu, HDL-C, LDL-C, HbA1c, ani glykémie na lačno. Analýza 4 studií neprokázala vliv na hladiny inzulinu a IR (Flachs et al., v tisku). Jen málo studií přineslo pozitivní výsledky (Mori et al., 1999; Flachs et al., v tisku).

Nadějí do budoucna jsou kombinace n-3 LC-PUFA s TZD. Mohl by se tak utlumit jejich negativní účinek na vzrůst hmotnosti, který se objevuje při léčbě pacientů s DM II (Adams et al., 1997). Další možnou kombinací jsou n-3 LC-PUFA s aspirinem či kalorickou restrikcí. Pokusy na laboratorních potkanech a myších naznačují, že vysoké dávky aspirinu by mohly IR zlepšovat (Yuan et al., 2001).

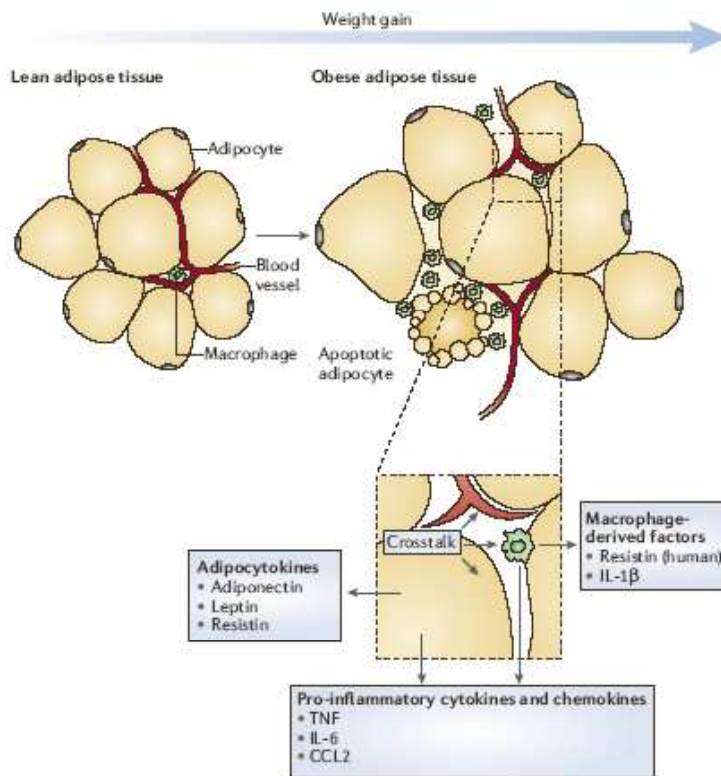
4. Obezita a zánět

4. 1. Sekreční funkce adipocytů

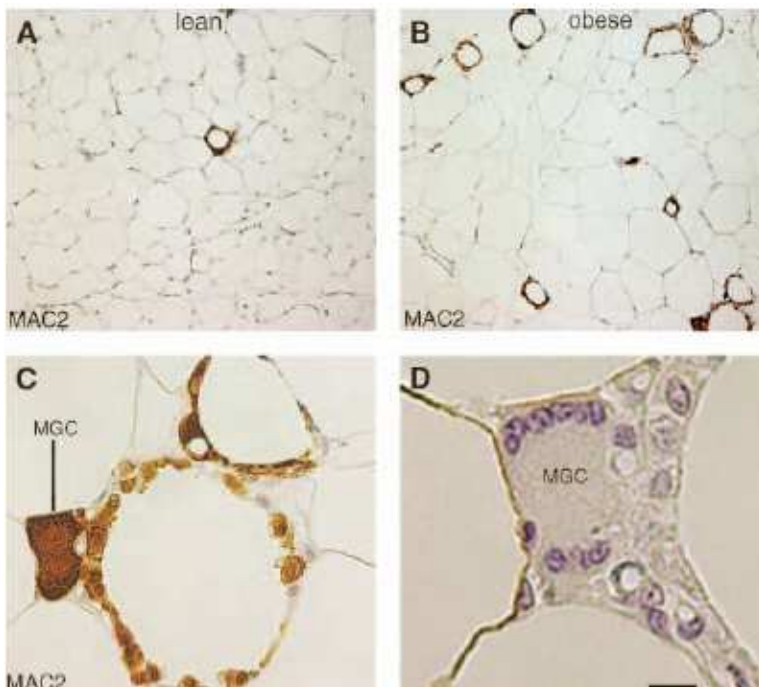
Hotamisligil se spolupracovníky byl první, kdo si povšiml na myším modelu obezity a diabetu zvýšené exprese TNF- α v souvislosti mezi obezitou a IR (Hotamisligil et al., 1993). Jedním z možných mechanismů, který by vysvětloval vznik IR indukované zánětem je TNF- α , viz kapitola 4. 2. To je v souladu s tvrzením, že u obézních a inzulinorezistentních jedinců jsou zvýšené koncentrace biomarkerů zánětu: TNF- α , IL-6 a C-reaktivní proteinu (CRP) (Tilg a Moschen, 2006).

Velikost adipocytů a BMI obézních myší a lidí pozitivně koreluje s množstvím makrofágů a/nebo makrofágových prozánětlivých genů (Weisberg et al., 2003), což potvrzuje studie Cintiho a spolupracovníků z 2005. Zjistili, že více jak 90% makrofágů přítomných v BTT obézních myší a lidí je lokalizována v místech smrti adipocytů. Frekvence počtu umírajících adipocytů koreluje se zvětšující se velikostí tukové buňky u obézních myší a lidí (Cinti et al., 2005).

Nyní k mechanismu. Viz Obr. 5. Makrofágy infiltrují do BTT poté, co hypertrofovaný adipocyt praskne (Cinti, 2006) a vylijí se z něj prozánětlivé cytokiny. Jako TNF- α , IL-6 a chemoatraktanty, hlavně CCL2 = MCP1. Vylévají se též adipocytokiny, viz kapitola 4. 3. (Tilg a Moschen, 2006). Zbylé adipocyty také sekretují chemoatraktanty (Cinti, 2006). Makrofágy sfúzují za vzniku mnohojaderných obřích buněk (multinucleate giant cells MGCs) a obklopi zbylé adipocyty za tvorby korony, crown-like structure (CLS). Vychytává zbylé kapénky lipidů (Cinti et al., 2005), viz obr. 6. Makrofágy se v BTT aktivují, produkují prozánětlivé cytokiny (Xu et al., 2003), které zde vyvolávají chronický mírný zánět (Wellen a Hotamisligil, 2005).



Obrázek 5- Tuková tkáň:buněčné komponenty a syntetizované molekuly. **Tilg H., Moschen, AR.** 2006. Review. Adipocytokines:mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity, *Nature* 6, s. 772-783



Obrázek 6: Makrofágy v BTT lokalizují CLS kolem jednotlivých adipocytů. S nárůstem obezity se frekvence CLS zvyšuje. Světelná mikroskopie viscerální BTT. **Cinti S., Mitchell G., Barbatelli, G. et al.** 2005. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans, *J. lip. Res.* 46, 2347 - 2355

A- Adipocyt neobézní myši, B-D-Adipocyt obézní myši s MGC. MAC - 2 (makrofágový antigen-2) (hnědě) značí aktivované makrofágy. D. Mnohočetná jádra (modře) v MGC .

4. 2. Možný mechanismus vzniku IR indukované zánětem

Jak jsem již zmínila výše, jedním z možných mechanismů, který by vysvětloval vznik IR indukované zánětem je TNF- α . Exprimuje se po aktivaci jaderného faktor κ B (NF κ B). TNF- α aktivuje serin/threonin proteinové JUN N-terminální kinasy (JNK). NF κ B je aktivní jen tehdy, je-li aktivní inhibitor kinasy β (IKK β) jaderného faktoru κ B (Tilg a Moschen, 2006).

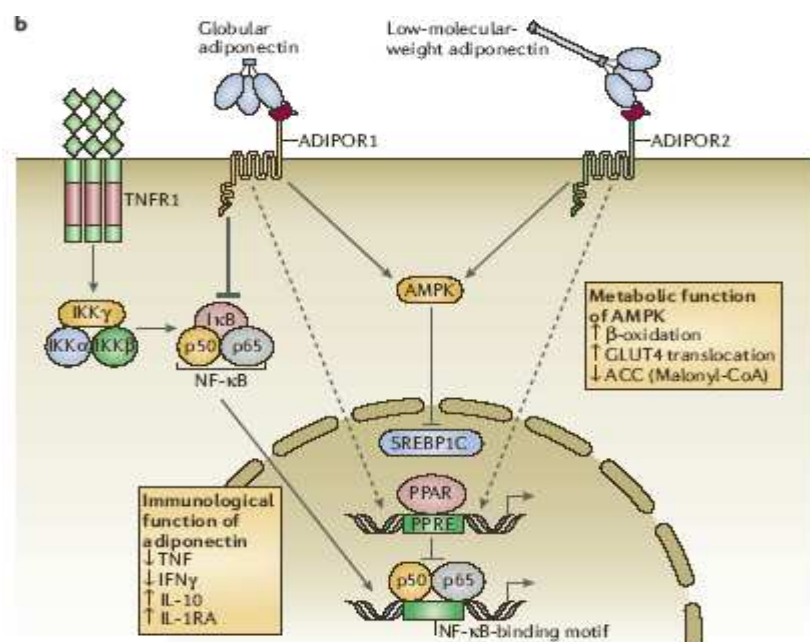
V poslední době se JNK jeví jako centrální metabolický regulátor. JNK se aktivuje stresem v ER, cytokiny a mastnými kyselinami. Naopak mastné kyseliny n-3 LC-PUFA potlačují její aktivitu (Todoric et al., 2006). Aktivovaná JNK fosforyluje Ser 307 substrátu inzulinového receptoru 1 (IRS1) (Wellen a Hotamisligil, 2005), který je jedním z hlavních mediátorů inzulinové signalizace (Tilg a Moschen, 2006). Inzulinový receptor fosforyluje za fyziologických podmínek tyrozinové zbytky IRS na specifických motivech, čímž zvyšuje afinitu vazby IRS ke specifickým molekulám (Yoshiaki et al., 2001). Po fosforylaci na jiném aminokyselinovém zbytku IRS se změní inzulinová signální dráha, což by mohlo vysvětlovat vznik IR za tohoto stavu.

4. 3. Funkce adipocytokinů

Tuková tkáň interaguje s imunitním systémem prostřednictvím cytokinů, ale i adipocytokinů, jako jsou **adiponektin**, **leptin**, **rezistin** a visfatin, které jsou zároveň považovány za hlavní spojovníky obezity s IR a zánětlivými onemocněními (Wellen a Hotamisligil, 2005).

Adiponektin stimuluje lidské monocyty, makrofágy a dendritické buňky k produkci protizánětlivých cytokinů: IL-10 a receptoru antagonisty IL-1 (IL-1RA). Dále potlačuje produkci IFN- γ aktivovanými makrofágy (Tilg a Moschen, 2006). Z toho vyplývá jeho protizánětlivý účinek.

Navíc inhibuje aktivaci NF κ B v endoteliálních buňkách a narušuje funkci makrofágů (Tilg a Moschen, 2006), viz *obr. 7*. Zvyšuje citlivost k inzulínu v tukové tkáni, zejména ve svalech a dalších tkáních. Ve svalu aktivuje AMPK. Pravděpodobně v souvislosti se zmenšováním adipocytů



a úbytku TT sekrece adiponektinu stoupá (Kopecký a Flachs, 2005). TNF- α a IL-6 potlačují transkripci genu pro adiponektin (Tilg a Moschen, 2006).

Obrázek 7:

Účinky různých adipocytokinů na monocyto-makrofágový systém. Tilg, H., Moschen AR. 2006.

Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity, Nature 6, 772 -783

Leptin je hormon vyplavovaný především z TT a GIT. Tlumí příjem potravy a zvyšuje oxidaci lipidů ve svalech, TT a játrech. Zvyšuje citlivost tkání k inzulínu (Kopecký a Flachs, 2005). Kromě těchto účinků má funkci prozánětlivého mediátoru, což vede ke stimulaci monocytů a makrofágů k produkci TNF, IL-6 a IL-12. V hepatocytech aktivuje NF κ B (Tilg a Moschen, 2006).

Rezistin je vyplavovaný z adipocytů (Kopecký a Flachs, 2005), ale i dalších buněk (hypotalamu, nadledvin, sleziny, kosterního svalu, pankreatu a GIT (Tilg a Moschen, 2006). U myši brzdí stimulační efekt inzulínu na transport glukózy do adipocytů a zřejmě i do dalších buněk. Vysoké hladiny rezistinu byly detekovány v krvi obézních myší. Mohl by být

důležitým faktorem pro asociaci obezity s diabetem (Kopecký a Flachs, 2005). Expres mRNA rezistinu se v lidské periferní krvi zvyšuje vlivem prozánětlivých cytokinů: IL-1, IL-6 a TNF. Indukce syntézy rezistinu může být oslabena pod vlivem PPAR γ agonistů, které se používají při léčbě DM II. Rezistin u lidí stimuluje syntézu TNF, IL-1, IL-6 a IL-12 u různých buněčných typů via aktivaci NF κ B (Tilg a Moschen, 2006).

4. 4. N-3 LC-PUFA jsou prevencí ke vzniku zánětu

Imunitní odpověď je modulována n-3 LC-PUFA, které mohou zlepšit citlivost k inzulinu, protože působí preventivně před vznikem zánětu, který byl v tukové tkáni vyvolán vysokotukovou dietou (Todoric et al., 2006).

Při pokusech na obézních diabetických myších db/db, u nichž byla obezita indukována HF/S dietou, došlo ke zvýšení exprese genů účastnících se zánětu. Současně se zvýšila fosforylace JNK. Zároveň tuková tkáň obsahovala značné množství makrofágů. Avšak podání n-3 LC-PUFA v HF dietě vedlo u obézních db/db myší (myši s chybějícím leptinovým receptorem) k úplné prevenci infiltrace makrofágů do BTT, redukci fosforylace JNK a normalizaci hladin adiponektinu v séru, aniž by došlo k úbytku hmotnosti. Podstatné je, že podání n-3 LC-PUFA odděluje obezitu od rozvoje zánětu v BTT a dalších komplikací s ní spojených, protože tyto děje jsou založeny na jiných mechanismech. Proto úbytek hmotnosti není jediným východiskem, jak zredukovat zánět v BTT (Todoric et al., 2006).

Klinické studie na populacích zdravých jedinců a osob s chronickým zánětem prokazují protizánětlivý účinek n-3 LC-PUFA, avšak pozitivní účinek na zlepšení citlivosti k inzulinu nebyl plně prokázán (Browning, 2003). Studie na adolescentech ukazuje, že jedinci s nadváhou, z nichž někteří měli metabolický syndrom, mají vyšší poměr SMK/PUFA ve fosfolipidech a cholesterolu, což pozitivně koreluje s množstvím IL-6 a CRP. U jedinců s normální hmotností jsou tendence opačné. Z toho vyplývá, že složení MK v plasmě souvisí s hmotností u zdravých adolescentů a vysoký příjem n-3 LC-PUFA může chránit obézní jedince před vznikem metabolického syndromu a chronického mírného zánětu (Klein-Platatz et al., 2005).

5. Závěr

Ukazuje se, že podávání n-3 LC-PUFA v různých formách, v podobě stravy z mořských ryb, rybích olejů nebo koncentrátů EPA a DHA má mnoho účinků v různých tkáních. Podle klinických studií provedených Delaruem a kol., 2004, Lombardem a Chiccem, 2006 mají n-3 LC-PUFA preventivní efekt na obezitu a IR. To potvrzují i studie na hlodavcích (Flachs et al., v tisku; Růžičková et al., 2004; Storlien et al., 1987). N-3 LC-PUFA v dávkování nad 2 g za den pomáhají redukovat nadváhu u obézních pacientů (Mori et al., 1999; Kunešová et al., 2006; Flachs et al., v tisku). Zvýšený příjem mořských ryb vedl u starších osob ke snížení rizika porušené glukóзовé tolerance (Flachs et al., v tisku) a negativně koreloval s hodnotou glykémie 2 hodiny po zátěži glukózou (Feskens et al., 1995). Schopnost n-3 LC-PUFA zvrátit rozvinutou IR u lidí je sporná. Tyto studie prokazují pozitivní účinek na IR vlivem n-3 LC-PUFA u diabetiků (Flachs et al., v tisku; Mori et al., 1999), avšak jiná studie tento fakt vylučuje (Flachs et al., v tisku). Vessby et al. neprokázal pozitivní efekt n-3 LC-PUFA na citlivost k inzulinu u zdravých jedinců. Ani studie na hlodavcích nejsou jednoznačné. Některé potvrzují reverzi IR vlivem n-3 LC-PUFA, avšak jiná studie nikoliv (Flachs et al., v tisku). Je dokázáno, že n-3 LC-PUFA tlumí zánět v BTT obézních myší (Todoric et al., 2006), což by mohlo vést ke zlepšení citlivosti k inzulinu. Klinické studie potvrzují protizánětlivý účinek n-3 LC-PUFA (Browning, 2003; Klein-Platat et al., 2005).

Ačkoliv je prokázáno mnoho pozitivních efektů n-3 LC-PUFA, otázka léčby rozvinutého DM II. zůstává stále otevřená, a proto je potřeba dalších studií, zejména na lidech s různým stupněm obezity a progresu DM II., které by sledovaly délku a optimální dávku. Vizí do budoucna jsou kombinace n-3 LC-PUFA s TZD, aspirinem či kalorickou restrikcí. Naše pracoviště se v současné době zabývá testováním těchto kombinací na myším modelu.

6. Seznam použité literatury

- Adams, M., Montague, CT., Prins, JB. et al.** 1997. Activators of Peroxisome Proliferator-activated Receptor Have Depot-specific Effects on Human Preadipocyte Differentiation. *J. Clin. Invest.* 100, 3149 - 3153
- Alberti, KG., Zimmet, P., Shaw, J.** 2005. The metabolic syndrome - a new worldwide definition. *Lancet* 366, 1059-1062
- Braissant, OF., Foufelle, CS., Dauca, M. et al.** 1996. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors: tissue distribution of PPAR α , β and γ in adult rat. *Endocrinology* 137, 354 - 366
- Browning, LM.** 2003. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and obesity-related disease. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 447 - 453
- Cinti S., Mitchell G., Barbatelli, G. et al.** 2005. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* 46, 2347 - 2355
- Cinti, S.** 2006. Morphology of the inflammatory state of the adipose organ in obese mice and humans. *Obesity and Metabolism* 2, 95 - 103
- Couet, C., Delarue, J., Ritz, P., et al.** 1997. Effect of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxidation in healthy adults. *Int. J. Obes.* 21, 637 - 643
- Delarue, J., Couet, C., Cohen, R. et al.** 1996. Effects of fish oil on metabolic responses to oral fructose and glucose loads in healthy humans. *Am. J. Physiol.* 270, E353-362
- Delarue, J., Lefoli, C., Corporeau, C., et al.** 2004. N-3 long chain polyunsaturated fatty acids: a nutritional tool to prevent insulin resistance associated to type 2 diabetes and obesity? *Reprod. Nutr. Dev.* 44, 289-299
- Dlouhý, P., Marhol, P.** 1999. Přehled složení mastných kyselin v rostlinných tucích a olejích. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa* 2, 211-217

- Feskens, E.J., Virtanen, S.M., Rasanen L. et al.** 1995. Dietary factors determining diabetes and impaired glucose tolerance. A 20-year follow-up of the Finnish and Dutch cohorts of the Seven Countries Study. *Diabetes Care* 18, 1104 - 1112
- Flachs, P., Horáková, O., Brauner, P. et al.** 2005. Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia* 48, 2365-2375
- Flachs, P., Mohamed-Ali, V., Horáková, O. et al.** 2006. Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed high-fat diet. *Diabetologia* 49, 394-397
- Flachs P., Kopecký J., Rossmeisl M.** V tisku. Vliv vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 na citlivost k inzulinu. In Pelikánová T. (Ed.), *Trendy soudobé diabetologie*. Praha: Galén
- Genzel-Boroviczeny, O., Wahle, J., Koletzko, B.** 1997. Fatty acid composition of human milk during the 1st month after term and preterm delivery. *Eur. J. Pediatr.* 156, 142 – 147
- Haggarty, P., Ashton, J., Joynson, M.** 1999. Effect of maternal polyunsaturated fatty acid concentration on transport by the human placenta. *Biol. Neonate* 75, 350 - 359
- Hotamisligil, GS., Shargill, NS., Spiegelman, BM.** 1993. Adipose expression of tumour necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259, 87-91
- Jones, PS., Savory, R., Barrat, P. et al.** 1995. Chromosomal localisation, inducibility, tissue-specific expression and strain differences in three murine peroxisome-proliferator-activated- receptor genes. *Eur. J. Biochem.* 233, 219 - 226
- Kintscher, U., Law, RE.** 2005. PPAR γ -mediated insulin sensitization: the importance of fat versus muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 288, E287-E291
- Klein-Platat, C., Drai, J., Oujaa, M. et al.** 2005. Plasma fatty acid composition is associated with the metabolic syndrome and low-grade inflammation in overweight adolescents. *Am. J. Clin. Nutr.* 82, 1151 - 1152
- Kopecký J., Flachs P.** Tkáňový metabolismus a obezita. In Hainer, V. (Ed.), *Základy klinické obezitologie*. Praha: Avicenum, 2004, 121 – 152

Kopecký J., Flachs P. Význam metabolismu tukové tkáně a svalů pro tvorbu tepla a hromadění tuku v těle. Doplnky k biochemii 3. část. Praha: Ústav lékařské chemie a biochemie UK – 2. Lékařské fakulty. 2005, 52 - 68

Kunešová, M., Braunerová, R., Hlavatý, P., et al. 2006. The influence of n-3 polyunsaturated fatty acids and very low calorie diet (VLCD) during a short-term weight reducing regimen on weight loss and serum fatty acid composition in severely obese women. *Physiol. Res.* 55, 63 – 72

Lombardo, YB., Chicco, AG. 2006. Review: Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and human. *J. Nutr. Biochem.* 17, 1 - 13

Massiera, F., Saint-Marc, P., Seydoux, J. et al. 2003. Arachidonic acid and prostacyclin signaling promote adipose tissue development: a human health concern? *J. Lipid Res.* 44, 271 - 279

Mayes, PA. (a) Fysiologicky významné lipidy. In Kraml, J. (Ed.), *Harperova biochemie*. Praha: H & H, 2002, 148 – 160

Mayes, PA. (b) Biosynthesa mastných kyselin. In Kraml, J. (Ed.), *Harperova biochemie*. Praha: H & H, 2002, 223 – 230

Mayes, PA. (c) Metabolismus nenasycených mastných kyselin a eikosanoidů. In Kraml, J. (Ed.), *Harperova biochemie*. Praha: H & H, 2002, 243 - 251

Mayes, PA. (d) Transport lipidů a jejich ukládání. In Kraml, J. (Ed.), *Harperova biochemie*. Praha: H & H, 2002, 262 – 278

Mori, TA., Bao, DQ., Burke, V. et al. 1999. 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.* 70, 817 - 825

Růžičková, J., Rossmeisl, M., Pražák, T. et al. 2004. Omega-3 PUFA of marine origin limit diet-induced obesity in mice by reducing cellularity of adipose tissue. *Lipids* 39, 1177-1185

Storlien, LH., Kraegen, EW., Chisholm, DJ. et al. 1987. Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats. *Science* 237, 885-888

- Storlien, LH., Jenkins, AB., Chisholm, DJ. et al.** 1991. 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* 40, 280-289
- Suchánková, G., Tekle, M., Saha, AK. et al.** 2005. Dietary polyunsaturated fatty acids enhance hepatic AMP-activated protein kinase activity in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 326, 851-858
- Svačina, S.** Obezita, metabolický syndrom X a diabetes 2. typu. In Pařízková, J. (Ed.), *Základy klinické obezitologie*. Praha: Avicenum, 2004, 49 –74
- Tilg, H., Moschen, AR.** 2006. Review. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity, *Nature* 6, 772 - 783
- Todoric J., Löffler M., Huber, J. et al.** 2006. Adipose tissue inflammation induced by high-fat diet in obese diabetic mice is prevented by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Diabetologia* 49, 2109 – 2119
- Uauy, R., Dangour, AD.** 2006. Nutrition in brain development and aging: role of essential fatty acids. *Nutr. Rev.* 64, S24 – 33
- Vessby, B., Unsitupa, M., Hermansen, K. et al.** 2001. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. *Diabetologia* 44, 312 - 319
- Weisberg, SP., McCann, D., Desai, M. et al.** 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 112, 1796-1808
- Wellen, KE., Hotamisligil, GS.** 2005. Review. Inflammation, stress, and diabetes. *J. Clin. Invest.* 115, 1111-1119
- Xu, H., Barnes, GT., Yang, Q., Tan, G. et al.** 2003. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 112, 1821-1830
- Yoshiaki, K., Nakae, J., Accili, D.** 2001. Clinical review 125. The insulin receptor and its cellular targets. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 972 – 979

Yuan, M., Konstantopoulos, N., Hansen, L.J. et al. 2001. Reversal of Diet-Induced Insulin Resistance: another Use for Aspirin? Reversal of Obesity- and Diet-Induced Insulin Resistance with Salicylates or Targeted Disruption of IKK β . *Science* 293, 1673 - 1677

Žák A., Tvrzická E., Zeman M., Vecka M. 2005. Patofyziologie a klinický význam vícenenasycených mastných kyselin řady n-3. *Časopis lékařů českých* 144, Supplementum 1, 6 – 18

Internet – 1 http://www.svus.cz/cz/pd/MaxiCor/maxicor_pribalovy_letak.pdf

Internet – 2 http://www.sukl.cz/_download/spc/SPC65815.doc

Internet – 3 http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/evm_e.pdf