

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra antropologie a genetiky člověka

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Antropologie a genetika člověka



Bc. Milena Hovhannisyan

Polymorfismus rs1801282 v genu *PPARG* ve vztahu ke koncentraci a složení mastných kyselin u českých adolescentů

Polymorfism rs1801282 in the *PPARG* gene in relation to the concentration and composition of fatty acids in Czech adolescents

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí práce: RNDr. Markéta Vaňková, Ph.D.

Praha 2020

Prohlášení:

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

V Praze 8.6. 2020

Podpis

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala RNDr. Markétě Vaňkové, Ph.D. za vedení diplomové práce, Ing. Martinu Hillovi, DrSc. za pomoc se statistickým zpracováním, Mgr. et Mgr. Tereze Metelcové za editaci a podporu, a v neposlední řadě ostatním pracovníkům Oddělení molekulární endokrinologie Endokrinologického ústavu.

Abstrakt

Prevalence obezity a diabetu 2. typu v adolescentní populaci narůstá. Podle předchozích studií polymorfismus v *PPARG* rs1801282 (Pro12Ala) se pojí s rozvojem obezity, hypertenze, inzulinové rezistence, hyperlipémie a dalších markerů diabetu 2. typu. Data byla nasbírána v rámci projektu COPAT (*Childhood Obesity Prevalence and Treatment*). Soubor 2246 českých adolescentů ve věku 13-17 let byl genotypizován pomocí metody RT-PCR. 735 jedinců z tohoto souboru bylo podrobeno dalšímu antropometrickému a klinickému měření a biochemickým testům. Byla také nasbírána data o jejich nutričním příjmu a stravovacím návykům. Naším cílem bylo 1) určit efekt polymorfismu na antropometrické, klinické a biochemické parametry, 2) určit efekt interakce genotyp-fenotyp na lipidové spektrum. Frekvenci alely *Ala* jsme stanovili 15 %. Alela *Ala* asociovala s nižší hladinou c-peptidu nalačno ($p=0,006$) a hladinou inzulinu nalačno ($p=0,035$). U obézních přenašečů alely *Ala* jsme detekovali vyšší hladiny triacylglycerolů a fosfolipidů ω -3 polynenasycených mastných kyselin než u štíhlých přenašečů *Ala* či obézních *Pro* homozygotů.

Klíčová slova: PPAR γ 2, Pro12Ala, mastné kyseliny, obezita, projekt COPAT

Abstract

The prevalence of obesity and type 2 diabetes in the adolescent population has been steadily rising. According to the previous studies, the rs1801282 (Pro12Ala) polymorphism in the *PPARG* gene is connected to the development of obesity, hypertension, insulin resistance, hyperlipemia, and other markers of type 2 diabetes. Data collection was undertaken as part of the COPAT project (*Childhood Obesity Prevalence and Treatment*). A sample of 2246 Czech adolescents aged 13-17 was genotyped using RT-PCR. 735 individuals from this sample were subjected to further anthropometric and clinical measurements, and biochemical testing. Data on their nutritional intake and dietary habits were collected as well. Our goal was to 1) determine the effect of the polymorphism on the anthropometric, clinical and biochemical parameters, 2) determine the effect of the genotype-phenotype interaction on the lipid spectra. We measured the frequency of *Ala* allele as 15%. *Ala* allele was associated with lower fasting c-peptide ($p=0,006$) and fasting insulin levels ($p=0,035$). In obese *Ala* carriers we detected higher levels of phospholipid and triacylglycerol ω -3 polyunsaturated fatty acid than in lean *Ala* carriers or obese noncarriers.

Keywords: PPAR γ 2, Pro12Ala, fatty acids, obesity, COPAT project

Obsah

1. Úvod	8
2. Cíle práce	9
3. Literární přehled	10
3.1. PPAR – Receptory aktivované peroxisomovými proliferátory	10
3.2. PPAR γ	10
3.3. Struktura receptoru PPAR γ	12
3.4. Polymorfismus v rs1801282	13
3.5. Mechanismus aktivace receptoru	15
3.6. Ligandy PPAR γ 2	16
3.6.1. Polynenasycené mastné kyseliny	16
3.6.2. Eikosanoidy	17
3.6.3. Syntetické ligandy	18
3.7. Cílové geny	19
3.7.1. ADIPOQ/Adiponektin	19
3.7.2. CD36/Translokáza mastných kyselin/FAT	20
3.7.3. OLR1/LOX1/ oxLDL receptor 1	21
3.7.4. LXRA/LXR- α	21
3.7.5. CEBPA/CCAAT/Enhancer Binding Protein α	22
3.7.6. GLUT4/Glukózový Transportér 4	23
3.7.7. LPL/Lipoprotein lipáza	23
3.7.8. FABP4/Fatty Acids Binding Protein 4	24
3.8. Onemocnění asociovaná s polymorfismem v rs1801282	24
3.8.1. Obezita	24
3.8.2. Metabolický syndrom	25
3.8.3. Diabetes mellitus 2. typu	26
3.8.4. Kardiovaskulární onemocnění	26
3.8.1. Nádorová onemocnění	27
4. Soubor	28

4.1.	Projekt COPAT	28
4.2.	Demografie souboru.....	28
5.	Metodika.....	29
5.1.	Antropometrické vyšetření.....	29
5.2.	Biochemické vyšetření	29
5.3.	Dotazník jídelních zvyklostí	32
5.4.	Molekulárně-genetická analýza	32
5.4.1.	Izolace DNA	32
5.4.2.	Genotypizace	32
5.5.	Statistická analýza.....	34
5.5.1.	Skóre směrodatné odchylky.....	34
5.5.2.	Testování statistických hypotéz	35
5.5.3.	Deskriptivní statistika	35
5.5.4.	Frekvenční analýza	36
5.5.5.	Kruskalův-Wallisův test	37
5.5.6.	Dvoufaktorová analýza rozptylu.....	37
6.	Výsledky.....	38
6.1.	Frekvenční analýza.....	38
6.1.1.	Hardyho-Weinbergova rovnováha.....	38
6.1.2.	Závislost výskytu nadváhy na genotypu.....	39
6.2.	Analýza rozptylu	39
6.2.	Dvoufaktorová ANOVA	51
7.	Diskuze	54
8.	Závěr.....	58
	Seznam zkratk	59
	Použitá literatura	60

1. Úvod

Obezita je v současnosti jednou z nejrozšířenějších civilizačních chorob, s kterou se pojí řada komorbidit (Brannsether *et al.*, 2016). Zejména centrální obezita predikuje poruchy lipidového a glukózového metabolismu, kardiovaskulárních onemocnění, karcinomů a poruch pohybového aparátu. Při nevhodné životosprávě a genetické zátěži obezita často vede k rozvoji metabolického syndromu a diabetu 2. typu. Od roku 1975 se prevalence obezity v celosvětovém měřítku ztrojnásobila. Celosvětový nárůst případů nadváhy a obezity u dětí a adolescentů ve stejném časovém úseku referuje WHO jako podobně strmý (Obesity and overweight, 2020).

Spolu s obezitou souvisí zvýšení prevalence diabetu 2. typu. Toto závažné chronické onemocnění, které bylo dříve typické pro pokročilý věk, se nyní objevuje u stále mladších jedinců a z dlouhodobého hlediska představuje zátěž pro zdravotnictví. Narůstá tak potřeba včas identifikovat ohrožené jedince a zahájit preventivní opatření (Brannsether *et al.*, 2016).

Multifaktoriální dědičnost obezity a diabetu 2. typu je předmětem výzkumu posledních 30 let (Grundy, 1998). Jedním z transkripčních faktorů řídících glukózový a lipidový metabolismus je PPAR γ (receptor aktivovaný peroxisomovými proliferátory γ). Jeho hlavními přirozenými ligandy jsou nenasycené mastné kyseliny. Jako exogenní ligandy jsou pak pacientům s diabetem 2. typu předepisovány thiazolidindionové preparáty za účelem zvýšení citlivosti na inzulin. Polymorfismus v genu *PPARG2* rs1801282 (Pro12Ala) se v evropské populaci vyskytuje ve frekvenci 12 % (gnomAD, 2019). Tato alternativní varianta vykazuje nižší transkripční aktivitu. Přesto se alela *Ala* u některých přenašečů projevuje jako ochranný faktor proti rozvoji obezity a metabolického syndromu. Některé studie však poukazují na alelu *Ala* jako na rizikový faktor.

Tato diplomová práce se zaměřila na vliv polymorfismu *PPARG2* rs1801282 v populaci českých adolescentů. Tato věková skupina je bohužel ve většině studií zabývajících se PPAR γ opomíjena, přestože právě v tomto věku je nejúčinnější prevence. Výzkum byl proveden pod záštitou Endokrinologického ústavu v Praze. Využili jsme materiál a data získaná z projektu COPAT (Childhood Obesity Prevalence and Treatment), financovaného z Norských fondů.

2. Cíle práce

Prevalence obezity a diabetu 2. typu v posledních letech významně roste. Na vzniku a rozvoji těchto onemocnění se podílí jak faktory genetické, tak i vlivy prostředí, jako např. fyzická aktivita, stres a také jídelní chování.

Mastné kyseliny jsou jednou z významných složek potravy, která má vliv na inzulínovou senzitivitu a funkci β -buněk pankreatu. Řada studií v posledních letech ukázala, že jednotlivé typy mastných kyselin ovlivňují glukózový a lipidový metabolismus různými mechanismy.

Mastné kyseliny, především mononenasyčené a polynenasycené mastné kyseliny, jsou přirozenými ligandy jaderného receptoru PPAR γ 2 (receptor aktivovaný peroxisomovými proliferátory γ 2), který figuruje jako transkripční faktor řady dalších genů účastnících se udržení správné hladiny lipidů a glukózy v krvi, a hraje roli v inzulínové sensitivitě periferních tkání. Polymorfismus rs1801282 (Pro12Ala) je studován v souvislosti s poruchami glukózové tolerance včetně diabetu mellitu 2. typu, dále u poruch lipidového spektra, u obezity a dalších metabolických onemocnění.

Dosavadní poznatky neprokázaly shodnou spojitost polymorfismu rs1801282 s dietními zvyky, přestože vliv polymorfismu rs1801282 lze v interakci gen-strava předpokládat.

Cíle práce:

1. Stanovit a porovnat frekvence genotypů a alel polymorfismu rs1801282 u souboru 2247 nepříbuzných adolescentů s nadváhou a obezitou a souboru náhodných českých adolescentů.
2. Zjistit vliv polymorfismu rs1801282 na antropometrická, klinická a biochemická data u vybraného vzorku 735 probandů ve věku 13-17 let; z toho 378 dívek a 376 chlapců.
3. U tohoto souboru provést analýzu závislosti genotyp – fenotyp:
 - a. vliv genotypu na parametry glukózového a lipidového metabolismu
 - b. vliv genotypu na složení volných mastných kyselin

3. Literární přehled

3.1. PPAR – Receptory aktivované peroxisomovými proliferátory

PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) označuje rodinu jaderných receptorů, které fungují jako transkripční faktory regulující expresi řady genů. Existují tři základní izotypy PPAR, jejichž geny jsou lokalizovány na různých chromozomech – PPAR α , PPAR β/δ a PPAR γ (Tyagi *et al.*, 2011).

PPAR byly objeveny v devadesátých letech 20. století u hlodavců (Isseman, 1990). Jednotlivé izotypy pak byly poprvé popsány u žab rodu *Xenopus* (Dreyer *et al.*, 1992). Název vychází z pozorování u hlodavců, kdy aktivace PPAR vedla k proliferaci peroxisomů, a to zejména v jaterní tkáni. U člověka však k tomuto efektu po podání proliferátorů nedochází. PPAR izotypy namísto toho řídí především metabolismus sacharidů a lipidů. Dále mají úlohu v protizánětlivých procesech, nádorovém bujení a autoimunitních onemocněních.

PPAR receptory patří do receptorové superrodiny NR1 spolu s receptory pro vitamín D, tyreoidální hormony a kyselinu retinovou (Guidetopharmacology.org, 2019). Pro tuto skupinu receptorů je charakteristická tvorba heterodimeru s retinoidním X receptorem (Yu *et al.*, 1991).

PPAR receptory vykazují vysokou vzájemnou sekvenční podobnost. Strukturně se jedná o typické jaderné receptory s šesti funkčními doménami (Brunmeir & Xu, 2018). Díky 60-80% shodě v doméně vázající ligandy PPAR receptory sdílejí podstatnou část agonistů.

3.2. PPAR γ

Gen pro tento receptor se u člověka nachází na krátkém raménku 3. chromozomu, v oblasti 3p25 (Greene *et al.*, 1995). Lidský *PPARG* se skládá celkem z devíti exonů. Alternativním sestřihem mezi počátečními exony vzniká několik možných mRNA pro tento receptor. Tři 5' terminální exony jsou označeny jako A1, A2 a B. Zbylé exony, které kódují vlastní polypeptid, nesou číselná označení 1-6 (viz obrázek 1). Startovací kodon ATG se v exonu vyskytuje dvakrát – v exonu B a 1 (Zhou, Wilson & Medh, 2002). Exprese jednotlivých izoform je tkáňově specifická.

PPAR γ 1 je kódován exony A1, A2 a exony 1-6. Polypeptidový řetězec čítá celkem 477 aminokyselin. V nejvyšší míře je zastoupen v hnědé a bílé tukové tkáni. Expresi v tlustém a slepém střevě je oproti expresi v tukové tkáni zhruba třetinová. V kosterním svalstvu, plicích a srdci je exprese o jeden řád nižší. Dále byla exprese receptoru zaznamenána v makrofázích a β buňkách pankreatu (Dubois *et al.*, 2000). Kromě adipogeneze se podílí také na protizánětlivé odpovědi (Heming *et al.*, 2018). V myocytech PPAR γ 1 nasedá na responsivní element zvyšující aktivitu promotoru pro PPAR γ 2. To může vést ke steatóze svalstva a zpomalení bazálního metabolismu (Luo *et al.*, 2015).

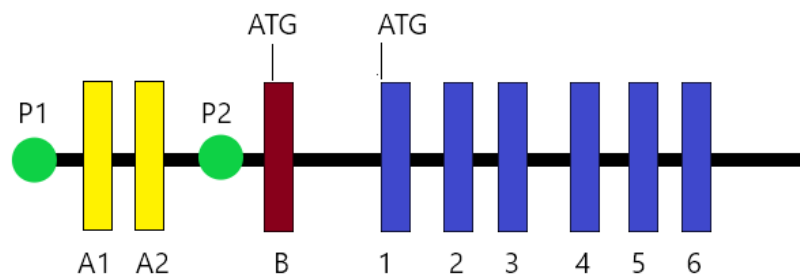
PPAR γ 2 je kódován exony B a 1-6. Translací exonu B získává polypeptid na N-konci o 28 aminokyselin navíc oproti ostatním izoformám (Stumvoll & Haring, 2002). Tato izoforma je za fyziologických podmínek exprimována primárně v tukové tkáni. U potkanů byla mRNA této izoformy detekována v nižší míře v kosterním svalstvu a játrech (Lee *et al.*, 2018). U člověka však byla v jedné studii zaznamenána pouze v tukové tkáni (Loviscach *et al.*, 2000). Předchozí studie zaznamenaly lidskou expresi PPAR γ 2 také v játrech a střevech (Fajas *et al.*, 1997).

Rozdílné výsledky mohly být zapříčiněny steatózou jater způsobenou stravou s vysokým obsahem tuků (Inoue *et al.*, 2005; Westerbacka *et al.*, 2007; Yamazaki *et al.*, 2011). Jiné studie u lidí zaznamenaly expresi PPAR γ 2 v endoteliálních progenitorových buňkách a v srdci (Aprile *et al.*, 2014).

Úroveň exprese PPAR γ 2 pozitivně koreluje s oxidací glukózy a negativně s oxidací mastných kyselin u silně obézních jedinců (Cortes de Oliveira *et al.*, 2018). V této studii byl také zaznamenán pokles exprese PPAR γ 2 po 6 týdnech nízkokalorické diety (1200 kcal/den).

PPAR γ 3 je kódován exony A2 a 1-6. Poloha ATG kodonu v exonu 1 pak udává výsledný protein jako totožný s PPAR γ 1. PPAR γ 3 je exprimován v makrofázích, tlustém střevě a bílé tukové tkáni (Tyagi *et al.*, 2011).

Oproti ostatním izotypům, které především řídí spalování tuků, PPAR γ účinkuje opačným směrem. Jeho hlavní úlohou v organismu je řízení diferenciací adipocytů, ukládání lipidů a udržování citlivosti na inzulin (Chui *et al.*, 2005; Auwerx, 1999). PPAR γ 2 vykazuje vyšší transkripční aktivitu než PPAR γ 1 (Feige *et al.*, 2006). V průběhu adipogeneze exprese této izoformy následuje expresi PPAR γ 1 (Nakachi *et al.*, 2008).



Obrázek 1 Schéma exonů v genu *PPARG*. P1 a P2: promotory, žlutě: počáteční exony A1 a A2 pro mRNA *PPARγ1/3*, červeně: exon B pro mRNA *PPARγ2*, modře: společné exony 1-6

V lidských makrofázích THP-1 byly detekovány tři další izoformy, jejichž mRNA nese kromě výše zmíněných exonů též exony C a D v 5'UTR oblasti po podání troglitazonu a specifického prostaglandinu. Oba ligandy zároveň v makrofázích inhibovaly expresi *PPARγ1* a *PPARγ2* (Chen, Jimenez & Medh, 2006).

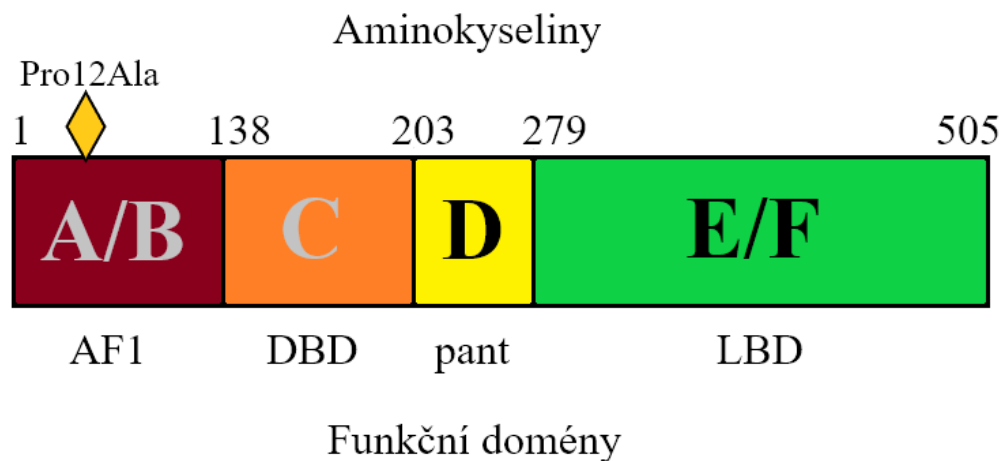
Byly také nalezeny alternativní čtecí rámce, které translatují část intronu za exonem 4, v němž je lokalizován stop kodon. Výsledné dominantně negativní proteiny postrádají E/F doménu (viz dále) a nejsou schopné vázat ligand (Sabatino *et al.*, 2005). Tyto alternativní varianty se vyskytují v různých tkáňových liniích a úroveň jejich exprese se mění v závislosti na fázi diferenciaci buněk (Aprile *et al.*, 2014). U obézních jedinců je exprese těchto alternativních variant zvýšená, čímž se zpětně potlačuje funkce variant hlavních (Aprile *et al.*, 2018). U některých z těchto alternativních variant je přítomen právě exon B.

3.3. Struktura receptoru *PPARγ*

PPARγ je strukturou typický zástupce superrodiny jaderných receptorů NR1 (viz obrázek 2). Skládá se celkem ze šesti funkčních domén (Brunmeir & Xu, 2018).

- A/B variabilní doména, která se nachází na N-konci, funguje jako na ligandu nezávislý aktivační faktor 1 (AF-1), kde se váží kofaktory.

- C region, který funguje jako DNA vázající doména (*DNA-binding domain*, DBD), nese dva zinkové prsty typu C4. Váže se na příslušné PPAR responsivní elementy (PPRE) v promotorových oblastech cílových genů.
- D úsek slouží jako pantová oblast spojující regiony C a E. Dodává struktuře stabilitu a flexibilitu nutnou pro správnou funkci receptoru.
- E region je ligand vázající doménou (*Ligand-binding domain* LBD). Jedná se o hydrofobní kapsovitý útvar, do něhož zapadá ligand. Podílí se na dimerizaci s retinoidním X receptorem (RXR).
- F region na C-konci nese AF-2. V tomto místě se na receptor váží kofaktory.



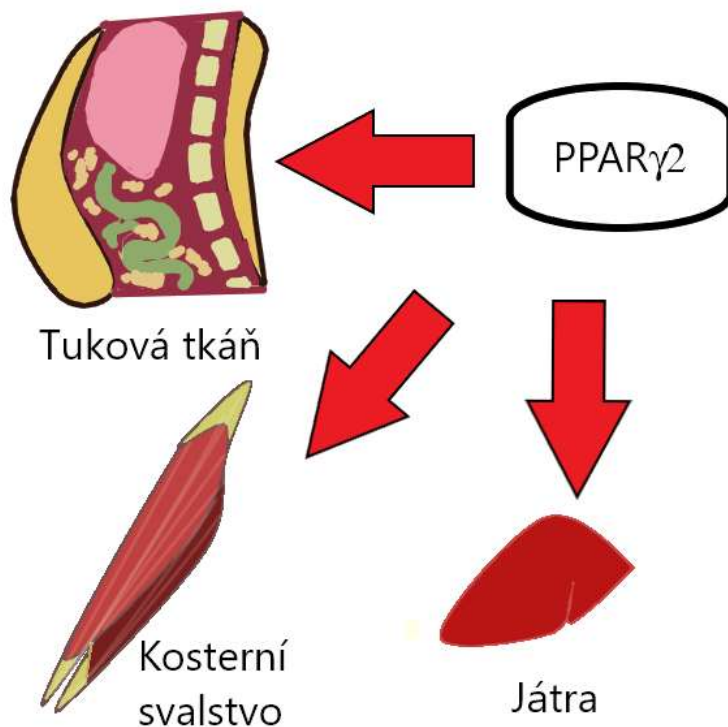
Obrázek 2 Struktura lidského PPAR γ 2 receptoru

A-F: regiony, 1-505: pořadí aminokyselin v řetězci od N-konce, kosočtverec: pozice polymorfismu rs1801282 (Pro12Ala).

3.4. Polymorfismus v rs1801282

Epidemiologicky nejvýznamnějším polymorfismem v genu *PPRG2* je rs1801282 v kodonu 12. exonu B. Jedná se o jednonukleotidový polymorfismus se záměnou alaninu (CCA) za prolin (GCA) v N-terminální oblasti v A/B doméně s AF-1 (Yen *et al.*, 1997; Zarebska *et al.*, 2014).

Výskyt v bělošské populaci se pohybuje kolem 13 % (gnomAD, 2019). Protože se polymorfismus nachází v exonu, který je exprimován pouze v izoformě PPAR γ 2, jeho efekt se projevuje téměř výhradně v adipocytech a v omezené míře v játrech a kosterním svalstvu (viz obrázek 3).



Obrázek 3 Lokalizace exprese PPAR γ 2.

Minoritní alela *Ala* má podle některých studií za efekt snížení transkripční aktivity receptoru (Deeb *et al.*, 1998, Stumvoll & Haring, 2002). Celkově je u jedinců s alelou *Ala* pozorována nižší hladina inzulínu v krvi a vyšší inzulínová senzitivita, což se projevuje zejména u jedinců s vyšším indexem tělesné hmotnosti BMI. Mechanismus protektivního účinku polymorfismu není zatím uspokojivě vysvětlen, nicméně byla pozorována interakce mezi tukovým profilem stravy a genotypem, kdy protektivní účinek alely závisel na zvýšeném podílu mononenasycených mastných kyselin ve stravě (Heikkinen *et al.*, 2009).

V mnoha studiích byla minoritní alela popsána jako ochranná vůči obezitě, hypertenzi, diabetu a metabolickému syndromu. Tato skutečnost se však na první pohled vylučuje s pozorovaným pozitivním účinkem antidiabetických thiazolidindienových léčiv, které prostřednictvím aktivace PPAR γ senzitivizují tukovou tkáň vůči inzulínu.

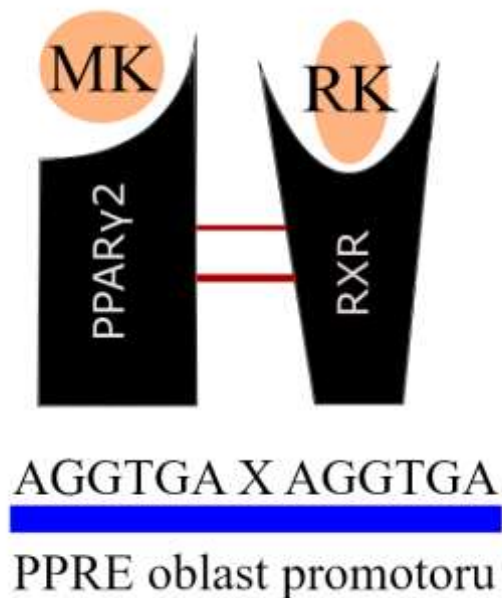
Důvodů, proč k tomuto dochází může být několik. Transportéry mastných kyselin, jejichž exprese je řízená PPAR γ 2, přispívají k jejich zvýšené koncentraci v jádře. Jelikož mastné kyseliny inhibují vlastní transkripci genu *PPARG*, u *Ala* homozygotů je tato negativní zpětná vazba oslabena (Armoni *et al.*, 2007).

Jak bylo prokázáno ve studii Armonioho, transaktivační aktivita PPAR γ 2 vůči glukózovému receptoru Glut4 závisí na typu ligandu. Bylo by tedy logické, kdyby přirozeně slabší inhibiční aktivita u *Ala* varianty a iniciace transkripce *GLUT4* pomocí thiazolidindionů ústily ve stejný efekt (Armoni *et al.*, 2003; Liao *et al.*, 2007).

3.5. Mechanismus aktivace receptoru

Funkce PPAR γ 2 je řízena přítomností ligandů a kofaktorů. Stejně jako ostatní členové NR1 superrodiny i PPAR γ 2 vytváří heterodimer s RXR, s kterým se váže na DNA v oblasti PPRE (viz obrázek 4). Sekvence PPRE má zpravidla podobu AGGTCA v přímé repetici oddělené jedním libovolným nukleotidem (Brunmeir & Xu, 2018). PPAR γ 2 se v buňce nachází vždy v jádře na místě PPRE oblasti.

PPAR γ :RXR heterodimer v inaktivním stavu váže na AF-2 korepresory jako např NCoR či SMART. Po navázání ligandu dochází ke změně konformace receptoru a výměně represorů za aktivátory. RXR naváže kyselinu retinovou a následuje transkripce cílového genu (Seiri *et al.*, 2019).



Obrázek 4 Schéma heterodimeru PPAR γ 2:RXR a PPRE. MK: mastná kyselina, RK: retinová kyselina, modře: DNA

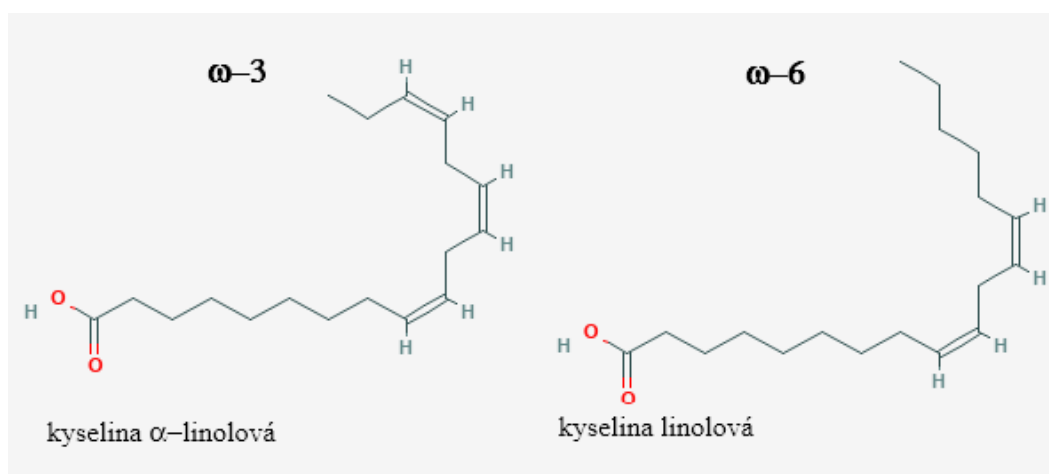
3.6. Ligandy PPAR γ 2

Jako ligandy PPAR γ 2 v *in vitro* studiích byla identifikována celá řada mastných kyselin a jejich derivátů (Varga, Czimmerer & Nagy, 2011). Nicméně, tyto studie testovaly reakci receptorů na ligandy v mikromolárních koncentracích. Testy *in vitro* také nesledovaly enzymatické zpracování mastných kyselin, které v buňkách může vyústit ve vlastní ligand. Nelze proto s jistotou považovat výčet ligandů za konečný. Situaci dále komplikuje promiskuita receptoru, kdy na LBD příležitostně nasedají i jiné než hlavní ligandy (Varga, Czimmerer & Nagy, 2011).

Za hlavní přirozené ligandy receptoru PPAR γ 2, na kterých se studie shodují, se považují především volné ω -3 a ω -6 polynenasycené mastné kyseliny, eikosanoidy a jejich další deriváty (Seiri, Abi & Soukhtanloo, 2019).

3.6.1. Polynenasycené mastné kyseliny

Polynenasycené mastné kyseliny jsou látky hydrofobní povahy. Dělí do dvou kategorií podle pozice první nenasyčené vazby vůči methylovému konci řetězce. Kyselina α -linolová je esenciální ω -3 mastnou kyselinou, kyselina linolová je esenciální ω -6 mastnou kyselinou (viz obrázek 5). Činností enzymů desaturáz a elongáz jsou z těchto kyselin syntetizovány všechny ostatní polynenasycené mastné kyseliny (Pavithra *et al.*, 2017). Pro správnou funkci organismu je klíčový dostatečný příjem těchto látek ve stravě (Nasri *et al.*, 2017, Hooper *et al.*, 2018). Především ω -3 kyseliny se podílí na regulačních odpovědích organismu (Nasri *et al.*, 2017).



Obrázek 5 Esenciální polynenasycené kyseliny (PubChem, 2020).

Ω -6 mastné kyseliny jsou často spojovány s rizikem kardiovaskulárních chorob; tento vztah je však zpochybňován (Hooper *et al.*, 2018). Nicméně, některé studie poukazují na snížení biologické dostupnosti ω -3 mastných kyselin při zvýšené koncentraci ω -6 (Taha *et al.*, 2014).

Ve studii z roku 1999 výzkumníci testovali vazebnou aktivitu mastných kyselin vůči PPAR receptorům (Xu *et al.*, 1999). PPAR γ oproti α a β/δ vykazovala výrazně nižší citlivost vůči nasyceným mastným kyselinám. Pozdější studie (viz tabulka 1) však zaznamenala také vazebnou aktivitu u kyseliny palmitové, byť slabou (Yu *et al.*, 2004).

Tabulka 1 Vazebná aktivita vybraných ligandů PPAR γ

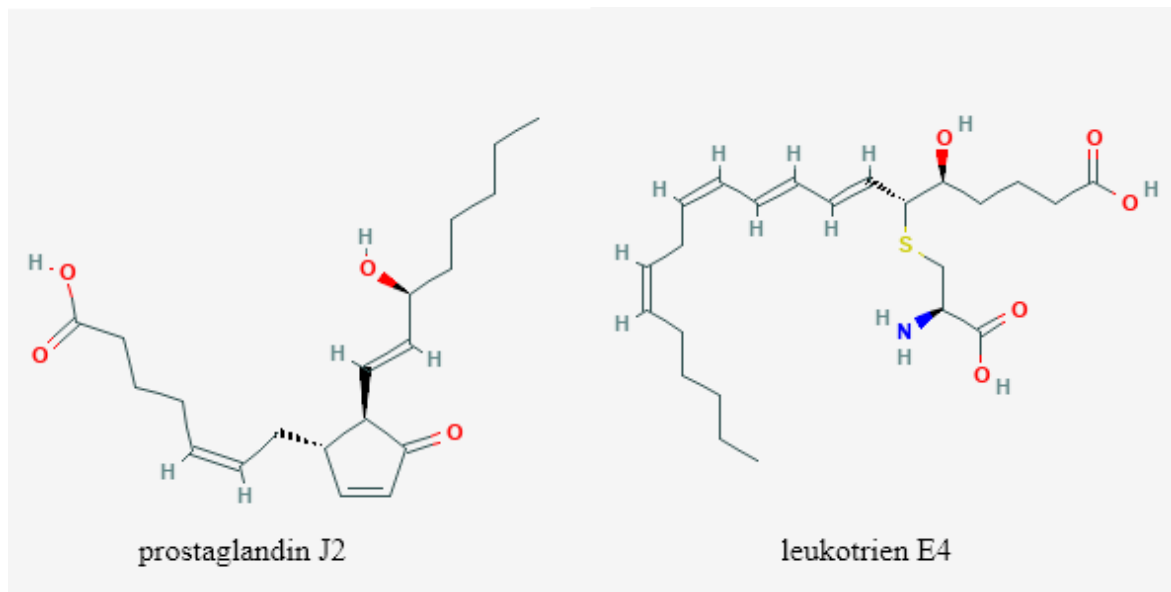
Kyselina	Kategorie	IC ₅₀ (μ M)
laurová	SFA	30
myristová	SFA	21 \pm 12
palmitová	SFA	30
stearová	SFA	30
arachidová	SFA	30
palmitolejová	MUFA	6,4 \pm 1,22
olejová	MUFA	4,1 \pm 0,7
α -linolová	ω -3 PUFA	6,0 \pm 1
EPA	ω -3 PUFA	1,6 \pm 0,2
linolová	ω -6 PUFA	6,2 \pm 1,1
γ -linolová	ω -6 PUFA	2,2 \pm 0,5
DGLA	ω -6 PUFA	2,4 \pm 0,3
arachidonová	ω -6 PUFA	1,6 \pm 0,2

IC₅₀: poloviční inhibiční koncentrace, zde minimální koncentrace pro navázání se na receptor, SFA: nasycená mastná kyselina, MUFA: mononenasyčená mastná kyselina, PUFA: polynenasycená mastná kyselina, EPA: kyselina eikosapentaenová, DGLA: kyselina dihomogamma-linolová

3.6.2. Eikosanoidy

Eikosanoidy jsou signální molekuly vznikající oxidací mastných kyselin, především kyseliny arachidonové. Patří mezi ně celá řada prozánětlivých mediátorů – prostaglandiny, leukotrieny (viz obrázek 5), kyselina hydroxyeikosatetraenová a kyselina hydroxyoktadekadienová. Ty v buňkách nasedají buďto na receptory spřažené s G-proteiny

nebo na PPAR receptory. V případě aktivace PPAR receptoru dochází k expresi genů s **protizánětlivým efektem** jako například adiponektin (Seiri, Abi & Soukhtanloo, 2019).



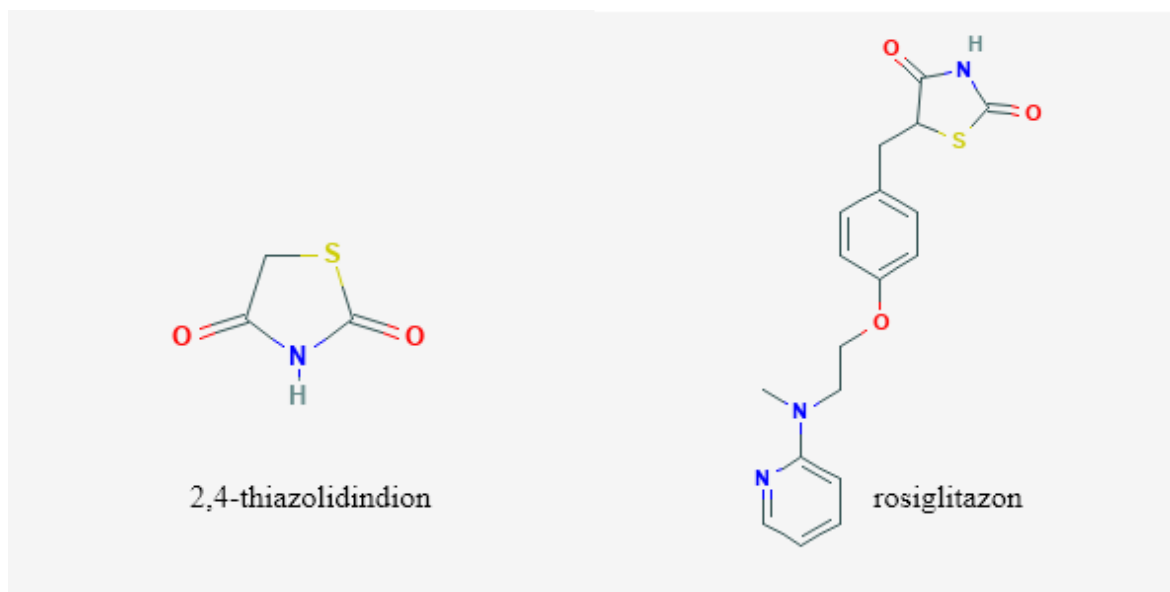
Obrázek 6 Eikosanoidy (PubChem, 2020).

3.6.3. Syntetické ligandy

Thiazolidindiony (viz obrázek 6) jsou umělými ligandy využívanými v léčbě diabetu (Lehmann *et al.*, 1995). Jedná se o skupinu látek s thiazolidindionovým kruhem. Mezi thiazolidindiony (TZD) patří například troglitazon či rosiglitazon (Chandra *et al.*, 2008). Aktivací PPAR γ zvyšují inzulínovou senzitivitu tkání.

Dalšími exogenními agonisty jsou tyrozinové deriváty, které však přes výrazně vyšší afinitu k receptoru nepřekonávají antidiabetický účinek TZD. Oproti polynenasyceným mastným kyselinám aktivace receptoru TZD vede k vyššímu nárůstu hmotnosti. V současné době se ustupuje od klinického využívání TZD léčiv kvůli nežádoucím účinkům v podobě hepatotoxicity a jiné.

Jako další exogenní ligandy PPAR γ i RXR byly identifikovány i kontaminanty životního prostředí, organocínové sloučeniny (Hiromori *et al.*, 2009).



Obrázek 7 Thiazolidindion a jeho derivát, rosiglitazon užívaný k léčbě diabetu 2. typu (PubChem, 2020).

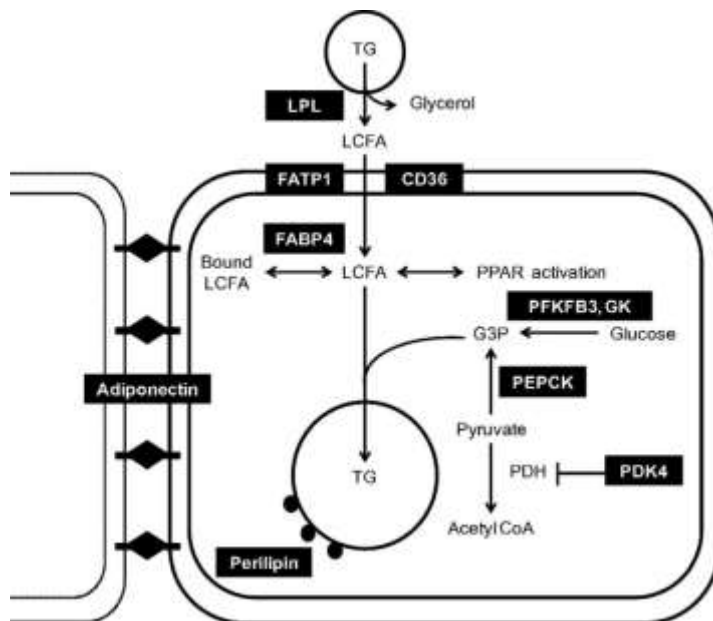
3.7. Cílové geny

PPAR γ 2 působí jako transkripční faktor pro celou řadu genů účastnících se procesů lipidového metabolismu, glukoneogeneze a diferenciacie adipocytů z mezenchymálních kmenových buněk (Heo *et al.*, 2015). Zde jsou uvedené jen vybrané cílové geny, které přímo ovlivňují tukovou tkáň (viz obrázek 7). Podrobnější výčet cílových genů uvádí review z roku 2014 (Nakamura, Yudell & Loor, 2014).

3.7.1. ADIPOQ/Adiponektin

Exprese *ADIPOQ* probíhá téměř výhradně v adipocytech a výsledný protein je uvolňován do krve. U obézních jedinců jsou hladiny adiponektinu v plazmě snižené navzdory vyššímu poměru tukové tkáně (Kadowaki *et al.*, 2006). V případě stravy s vysokým podílem tuků dochází k produkci adiponektinu i ve svalové tkáni, pravděpodobně prostřednictvím transdiferenciacie vyvolané PPAR γ (Luo *et al.*, 2015).

Adiponektin je produkován ve výrazně vyšším množství než ostatní adipokiny. Adiponektinová signalizace je řízena souhrou PPAR α i γ , kdy aktivace PPAR α řídí expresi adiponektinového receptoru (Tsuchida *et al.*, 2005). U člověka PPAR γ spouští transkripci adiponektinu přímo (Maeda *et al.*, 2001; Takata *et al.*, 2004) a teoreticky nepřímo prostřednictvím C/EBP- α (Seo *et al.*, 2004).



Obrázek 8 Funkce produktů cílových genů PPAR γ 2 v adipocyty (Nakamura, Yudell & Loor, 2014). Produkty cílových genů PPAR γ 2 jsou označeny černě. Mastná kyselina s dlouhým řetězcem (LCFA) je transportována z lipoproteinu prostřednictvím lipoprotein lipázy (LPL) do adipocyty. Transport do adipocyty probíhá pomocí transportázy mastných kyselin (FATP1) a translokázy mastných kyselin (CD36). Mastná kyselina se dále účastní buď aktivace PPAR receptorů v jádře, nebo se zabuduje do tukových kapének ve formě triacylglycerolu. Podobně se konzervuje nadbytečná energie sacharidů ve formě tuku prostřednictvím 6-fosfofrukto-2-kinázy/fruktóza-2,6-bifosfatáza 3 (PFKFB3) a fosfoenolpyruvát karboxykinázy (PEPCK).

Adiponektin v cílových tkáních prostřednictvím receptoru aktivuje AMP-aktivovanou proteinovou kinázu, která potlačuje glukoneogenezi v játrech (Berg *et al.*, 2001; Kubota *et al.*, 2007). Ve svalech stimuluje oxidaci mastných kyselin a příjem glukózy (Fruebis *et al.*, 2001; Yamauchi *et al.*, 2002). V hypotalamu stimulace adiponektinem vyvolává pocit hladu (Kubota *et al.*, 2007).

3.7.2. CD36/Translokáza mastných kyselin/FAT

Jedná se o integrální membránový glykoprotein, který řídí transport lipidů skrz membránu pomocí endocytózy. CD36 se spolupodílí na široké škále procesů v organismu, od angiogeneze a imunitní odpovědi, po příjem lipidů a detekci tuků v chuťových pohárcích (Pepino *et al.*, 2014, Pioltine *et al.*, 2016).

K expresi dochází primárně v tukové tkáni, srdci, placentě, slezině a plicích. CD36 mRNA byla také detekována v Langerhansových ostrůvcích pankreatu (Noushmehr *et al.*, 2005). Cyklus acetylace a deacetylace reguluje jeho funkci (Pepino *et al.*, 2014).

Za glukolipotoxických podmínek je deacetylací receptor aktivován, čímž je podpořena akumulace lipidů v beta buňkách pankreatu (Khan & Kowluru, 2018). Zároveň CD36 reguluje aktivitu AMP-aktivovanou kinázou, která ovládá glukózový a lipidový metabolismus v periferních tkáních (Samovski *et al.*, 2014).

Zvýšená exprese CD36 ve viscerálním tuku je spojována s rozvojem obezity a metabolickým syndromem u žen (Choromańska *et al.*, 2019). U jedinců se zvýšenými hladinami oxidovaného LDL dochází k tvorbě aterosklerotických plaků prostřednictvím CD36 (Park, 2014).

3.7.3. *OLR1/LOX1/ oxLDL receptor 1*

Receptor 1 pro oxidovaný LDL spadá do kategorie scavenger receptorů třídy E. Jeho gen *OLR1* byl identifikován jako cílový gen PPAR γ (Chui *et al.*, 2005). Stejně jako CD36 se účastní transportu lipidů skrz membránu. Oba receptory jsou schopné rozeznat řadu ligandů, jako například modifikované HDL a LDL cholesteroly, které receptory pro nativní LDL neváží (Chui *et al.*, 2005). Jako scavenger receptor se účastní endocytózy a následné proteolýzy ligandu (Sawamura *et al.*, 1997).

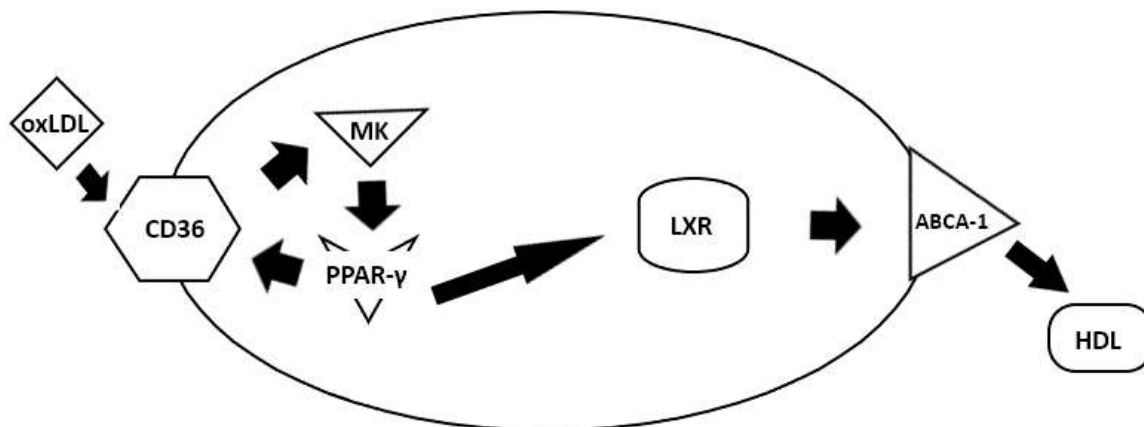
Protein je exprimován na povrchu makrofágů, v placentě, játrech a v mozku (Ncbi.nlm.nih.gov, 2020). V tukové tkáni je exprese za běžných okolností minimální, přesto v hypertrofických adipocytech hraje klíčovou úlohu, kdy zásobuje buňky cholesterolem (Chui *et al.*, 2005). V hypertrofických adipocytech je relativní nedostatek cholesterolu, neboť dochází k jeho redistribuci z cytoplasmatické membrány do obalu tukových kapének (Guerre-Millo *et al.*, 1994). Receptor tak udržuje schopnost adipocytu pojmout další triacylglyceroly. Nicméně, vlastní akce receptoru spouští sekreci prozánětlivých cytokinů, což přispívá k rozvoji metabolického syndromu (Takanabe-Mori *et al.*, 2010).

Exprese *ORL1* je indukována hyperglykemií, prozánětlivými cytokiny a přítomností oxidovaného LDL, který vzniká reakcí běžného LDL a např. kyslíkových radikálů za stresových podmínek (Yan, Mehta & Hu, 2011). Zvýšená exprese je zaznamenána u kardiovaskulárních onemocnění (Zhao *et al.*, 2018; Jin & Cong, 2019).

3.7.4. *LXRA/LXR- α*

Stejně jako PPAR, i jaterní receptor X- α (dále LXR- α) spadá do NR1 superrodiny jaderných receptorů a utváří po aktivaci heterodimer s RXR. Jedním z jeho cílových genů je *ABCA1*, který kóduje protein pro ATP-vázající kazetový transportér A-1 (Ogata *et al.*, 2009), který

zprostředkovává transport lipidů z buňky ven ve formě HDL (viz Obrázek 8). U bělošské populace byly detekovány protektivní polymorfismy v genu *ABCA1* proti rozvoji diabetu a hyperlipidémie (Yan *et al.*, 2019).



Obrázek 8 Proces signalizace pro produkci HDL-cholesterolu v adipocyty. Oxidovaný LDL vstupuje do buňky prostřednictvím např. CD36. Uvolněná mastná kyselina aktivuje PPAR. Ten funguje jako transkripční faktor jak pro CD36 tak i pro LXR. Vlastní LXR pak figuruje jako transkripční faktor pro ABCA-1.

3.7.5. CEBPA/CCAAT/Enhancer Binding Protein α

PPAR γ figuruje jako jeden z klíčových transkripčních faktorů podílejících se na adipogenezi. Tato skutečnost je zprostředkována proteiny z rodiny C/EBP, které plní úlohu transkripčních faktorů interagujících s PPAR γ (Koutnikova & Auwerx, 2001; Rosen, 2005; Xi *et al.*, 2016; Hong *et al.*, 2018).

C/EBP- α je exprimován v řadě tkání, především v podkožním tuku a játrech (Proteinatlas.org, 2019). Transkripce *CEBPA* je spuštěna v pozdní fázi diferenciaci adipocytu a setrvává zvýšená po dobu života buňky (Rosen, 2005). Koregulace C/EBP- α s PPAR γ je nutná pro další expresi adipocytárních genů, jejichž výsledným efektem je udržení inzulín-řízeného glukózového transportu (El-Jack *et al.*, 1999, Wu *et al.*, 1999).

Výsledný protein, C/EBP- α , řídí hladinu leptinu (Miller *et al.*, 1996). Spolu s PPAR γ iniciuje transkripci *FABP4* (Tontonoz *et al.*, 1994). Na myších bylo také potvrzeno, že C/EBP- α je nutný pro vývoj funkční bílé tukové tkáně (Linhart *et al.*, 2001).

Expresí C/EBP- α je přímo úměrná hladinám lipidů v adipocytech (Satoh *et al.*, 2019). U myší s knockoutovaným *cebpa* genem, ale aktivním *pparg* sice dochází k diferenciaci adipocytů, avšak výsledná tuková tkáň vykazuje inzulínovou rezistenci (Rosen, 2005). Myší

mláďata s knockoutovaným *cebpa* genem krátce po narození umírají na těžkou hypoglykémii (Wang *et al.*, 1995). Exprese inzulínového receptoru je do jisté míry podmíněna přítomností C/EBP- α (El-Jack *et al.*, 1999).



Obrázek 9 Posloupnost transkripčních faktorů v průběhu adipogeneze.

Modře jsou označeny stadia buňky, bíle transkribované TF. Diferenciace preadipocytu je zahájena HMGA2, který aktivuje transkripci C/EBP-/. Ty nasedají na CCAAT box v promotoru genu pro PPAR γ 2.

3.7.6. GLUT4/Glukózový Transportér 4

GLUT4 kóduje inzulínem regulovaný glukózový transportér 4 typický pro buňky kosterního svalstva a adipocyty. Promotorová oblast se dělí do dvou domén, na něž nasedají různé transkripční faktory. Samotný gen vykazuje vysokou mezidruhovou homologii.

Funkcí Glut4 je transport glukózy do buňky, čímž je zajištěn přísun energie a stabilizace glykémie. Přítomnost transportéru na membránách je regulována inzulínovou signální drahou (Chiang *et al.*, 2001; Ijuin & Takenawa, 2012).

Zda k iniciaci transkripce vlivem PPAR γ dojde, záleží na několika podmínkách. Typ ligandu ovlivní, zda bude transkripce inhibována či iniciována (Armoni *et al.*, 2003). Je také třeba zdůraznit přímý a nepřímý efekt PPAR γ , kdy vlastní PPAR γ transkripci GLUT4 obvykle inhibuje (Liao *et al.*, 2007). Produkty jeho dalších cílových genů, LXRA a CEBPA, však transkripci GLUT4 podporují (Im *et al.*, 2007). Regulaci dále komplikuje přítomnost volných mastných kyselin, které inhibují aktivitu vlastního promotoru PPARG (Armoni *et al.*, 2007).

3.7.7. LPL/Lipoprotein lipáza

Lipoprotein lipáza je produkována především v tukové tkáni. V nižších hodnotách se tento enzym vyskytuje v srdci a plicích (Ncbi.nlm.nih.gov, 2020). Přítomnost proteinu byla zaznamenána i v placentě, kde umožňuje transport mastných kyselin z mateřské krve do krve plodu (Heerwagen *et al.*, 2018).

Funkcí tohoto enzymu je hydrolýza triacylglycerolů v chylomikronech a VLDL částicích za produkce volných mastných kyselin, čímž je uvolňuje pro další zpracování v buňce (Kolehmainen *et al.*, 2003).

3.7.8. FABP4/Fatty Acids Binding Protein 4

FABP4, často označovaný také jako aP2, je protein charakteristický pro tukovou tkáň. Řídí transport hydrofobních molekul z cytoplazmy do jádra buňky (Krušinová & Pelikánová, 2008). Zprostředkovává tak přenos ligandů pro PPAR receptory přes jadernou membránu (Böhme *et al.*, 2008; Hughes *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2004).

Transkripčními faktory pro jeho expresi jsou PPAR γ a C/EBP α . Zvýšená hladina FABP4 v séru vede k aortální rigiditě (Swoboda *et al.*, 2018, Tseng *et al.*, 2019) a ateroskleróze (Xiao *et al.*, 2018). U probandů s diabetem byla zaznamenána signifikantní korelace mezi hladinou FABP4 a inzulinu, inzulinovou rezistencí a c-reaktivního proteinu (Xiao *et al.*, 2018). Hladiny FABP4 v perikardiální tekutině jsou oproti séru zvýšené u pacientů s ischemickou chorobou srdeční (Elie *et al.*, 2018).

3.8. Onemocnění asociovaná s polymorfismem v rs1801282

3.8.1. Obezita

Obezita označuje stav patologicky zvýšené tělesné hmotnosti charakteristický hypertrofií tukové tkáně. Metod diagnostiky obezity je více; nejčastěji se však používá index tělesné hmotnosti (BMI). WHO definuje obezitu jako BMI ≥ 30 kg/m². BMI však nenese informaci o distribuci tukové tkáně (Nielsen *et al.*, 2018). Další diagnostickou možností je obvod pasu a jeho poměr vůči obvodu boků (WHR) a výšce (WHtR). Pro děti a dospívající se z důvodu změn tělesných proporcí v průběhu růstu používá SD skóre uvedených veličin (Brannsether *et al.*, 2016).

Tuková tkáň je hormonálně aktivní (Berg, Combs & Scherer, 2002). Za předpokladu, že je jedinec obézní v období dětství či puberty, vychýlené hladiny steroidních hormonů mají za dopad předčasné uzavření epifýz (De Leonibus, Marcovecchio & Chiarelli, 2012). S rostoucí prevalencí obezity tak tělesná výška začíná podléhat negativnímu sekulárnímu trendu. (Brener *et al.*, 2017)

Tuková tkáň produkuje řadu cytokinů s **prozánětlivými i protizánětlivými** účinky (Choromańska *et al.*, 2019, Ohashi *et al.*, 2014). S rostoucí hmotností, kdy adipocyty hypertrofují a stávají se postupně dysfunkčními, stoupá poměr prozánětlivých cytokinů.

Tento jev časem může vyústit v metabolický syndrom (viz dále). Zároveň, u obézních jedinců dochází ke snížení produkce adiponektinu, což představuje další zdroj dysregulace organismu (Scherer, 2005).

S obezitou se pojí zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění, hormonálních poruch, diabetu 2. typu a metabolického syndromu. Zároveň je zde vysoká komorbidita s psychiatrickými a nádorovými onemocněními (Blüher, 2019).

V dánské longitudinální studii byl pozorován rozdílný vliv genotypu na změny tělesné hmotnosti v závislosti na BMI, kdy normosteničtí *Ala* homozygoti měli signifikantně nižší roční přírůstky hmotnosti v porovnání s jedinci s alelou *Pro*. Obézní *Ala* homozygoti naopak měli výrazně rychlejším nárůstem hmotnosti (Ek *et al.*, 1999). Podobné výsledky byly pozorovány u obézních brazilských mužů, kdy přítomnost *Ala* alely doprovázela zvýšená adipozita oproti homozygotům s *Pro* (Rodrigues *et al.*, 2018).

3.8.2. Metabolický syndrom

Mezinárodní diabetická federace (IDF) definuje metabolický syndrom jako soubor symptomů, kdy je vždy přítomna abdominální obezita a jsou splněny alespoň dvě z podmínek: zvýšená koncentrace triacylglycerolů a glukózy nalačno, snížená hladina HDL-cholesterolu a hypertenze (viz tabulka 2).

Tabulka 2 Kritéria diagnostiky metabolického syndromu u evropské populace podle standardů IDF

Triacylglyceroly (mmol/l)	≥1,7
Glykémie (mmol/l)	≥5,6/DM2 diagnóza/léčba
HDL-cholesterol (mmol/l)	<1,03♂/1,29♀/ léčba
Krevní tlak (mmHg)!	≥ 130TKS/85TKD/léčba
Obvod pasu* (cm)	≥94♂/80♀

TKS: krevní tlak systolický, TKD: krevní tlak diastolický. *U dětí do 16 let věku je jako hranice obezity stanoven 90. percentil (Idf.org, 2019).

Metabolickému syndromu předchází **inzulinová rezistence**. Jedná se o stav vyčerpání schopnosti organismu reagovat na inzulínový podnět. To nastává při chronicky zvýšené hladině kortizolu následkem zánětu či stresu, což zabraňuje játrům a svalům efektivně využít glukózu v krvi (Samad *et al.*, 2011). Nedostatek energie tak játra kompenzují glukoneogenezí. Zvýšená glykémie stimuluje sekreci inzulínu v pankreatu. Při dlouhodobém setrvání tohoto stavu pak inzulínové receptory přestávají reagovat

na stimulus. U zdravých jedinců adiponektin inhibuje glukoneogenezi, a naopak stimuluje příjem glukózy ve svalech (Hajer, van Haeften & Visseren, 2008).

Patologické hladiny triacylglycerolů a HDL-cholesterolu jsou přímým důsledkem porušené schopnosti tukové tkáně uchovávat mastné kyseliny vázané v triacylglycerolech. Za fyziologického stavu adipocyty mají dostatečnou kapacitu pro ukládání, což je umožněno neustálou diferenciací buněk tukové tkáně. V případě, kdy adipocyty v podkožním tuku již nejsou dále schopny ukládat lipidy ve formě triacylglycerolů, dochází k ektopické akumulaci tuku. Viscerální tuk je oproti podkožnímu tuku aktivnější v produkci cytokinů (Hajer, van Haeften & Visseren, 2008).

Nelze však s jistotou tvrdit, že komponenty metabolického syndromu jsou vždy spojeny s obezitou. U lidí trpících lipodystrofií jsou tkáně inzulin-rezistentní a vykazují řadu příznaků metabolického syndromu, aniž by u nich byla přítomná hypertrofie tukové tkáně (Petersen *et al.*, 2002).

3.8.3. *Diabetes mellitus 2. typu*

Diabetes mellitus 2. typu (DM2) tvoří až 90 % případů diabetu po celém světě. Pro DM2 je typická nadváha a inzulinová rezistence spolu se sníženou funkcí β -buněk pankreatu. Nastává tak **hyperglykémie**, která je hlavním diagnostickým kritériem DM2.

Přestože je DM2 asociována s obezitou, zdá se, že podmínkou pro rozvoj onemocnění je především malfunkce adipocytů. I u štíhlých jedinců s DM2 dochází k hypertrofii adipocytů (Acosta *et al.*, 2015).

V posledních dekádách přibývají děti a dospívající s DM2 (Arslanian, 2002). Oproti dospělým je jejich klinická prezentace charakteristická absencí ketonů v moči. Prevalence v této věkové kategorii je vyšší u mimoevropských populací. Dívky jsou postiženy častěji než chlapci. Dětské pacienty s DM2 mají ve více než 75 % případů výskyt choroby v rodině (Reinehr, 2013).

3.8.4. *Kardiovaskulární onemocnění*

Nestabilní angina pectoris byla v polské studii překvapivě asociována s alelou *Ala* (Maciejewska-Skrendo *et al.*, 2019). Přestože přítomnost alely *Ala* pozitivně ovlivňuje klinické parametry (BMI, cholesterol), lze předpokládat, že snížená exprese cílových genů,

kteřé by omezily tvorbu aterosklerotických plaků, má za následek částečnou obstrukci věnčitých tepen.

Vztah mezi *Ala* a nemocí věnčitých tepen však není přímočarý. U bělošské populace je *Ala* rizikovou pro rozvoj nemocí věnčitých tepen, zatímco u asijské populace tento vztah nebyl prokázán (Wu *et al.*, 2012). Je však otázkou, zda je rozdíl mezi populacemi náhodný, geneticky podmíněný, či způsobený odlišnou životosprávou.

3.8.1. Nádorová onemocnění

Přestože je exprese PPAR γ 2 obvykle omezená na tukovou tkáň, játra a kosterní svalstvo, některé studie poukazují na možnou spojitost polymorfismu v rs1801282 s nádorovými onemocněními jiných orgánů. Alela *Ala* se ukazuje být rizikovým faktorem pro rozvoj karcinomu žaludku u asijské i evropské populace (Zhao *et al.*, 2015) a pankreatu (Fesinmeyer *et al.*, 2009). Naopak pro Evropany se alela *Ala* ukazuje být protektivní proti rakovině tlustého střeva (Wang *et al.*, 2015).

4. Soubor

4.1. Projekt COPAT

Projekt COPAT (Childhood Obesity Prevalence and Treatment), financovaný z Norských fondů, byl realizován v Endokrinologickém ústavu v Praze mezi lety 2009 a 2010. Jako cíle si vytyčil zmapování přístupů k diagnostice a léčbě dětské obezity, screening výskytu abdominální obezity a metabolického syndromu u adolescentů a sledování efektivity léčby obezity a identifikaci faktorů pro její rozvoj.

4.2. Demografie souboru

Soubor sestával ze dvou částí – epidemiologické a intervenční. Společným vstupním kritériem byl věk probandů mezi 13 a 17 roky.

Epidemiologická část sestávala z 1533 adolescentů. Sběr dat probíhal v ordinacích praktických lékařů pro děti a dorost z celé České republiky. Věk byl jediným kritériem pro zařazení do této části studie.

Intervenční část sestávala z 562 obézních adolescentů. Obezita, resp. nadváha a obezita, byla pro potřeby projektu definována jako stav, kdy BMI přesahuje 90. percentil dle pohlaví a věku (Bláha *et al.*, 2005). Sběr dat probíhal v lázeňských zařízeních zaměřených na léčbu obezity. Ze souboru byli vyřazeni probandi s endokrinopatiemi a probandi užívající léky ovlivňující hmotnost.

Genotypizace byla provedena u probandů z epidemiologické i intervenční části. Celkem se jednalo o 2246 adolescentů.

Asociační studie byla provedena u vybraných probandů epidemiologické části. Celkem se jednalo o 754 jedinců, z toho 378 dívek a 376 chlapců.

5. Metodika

5.1. Antropometrické vyšetření

Stanovení tělesné konstituce probandů bylo výchozím krokem pro popis výzkumného souboru. Pro tento účel byly změřeny tyto antropometrické a klinické parametry: 1. výška, 2. hmotnost, 3. obvod pasu, 4. obvod boků, 5. krevní tlak, 6. zastoupení tukové tkáně.

- **Tělesná výška** byla změřena pomocí stadiometru, od podložky po nejvyšší bod temene hlavy s přesností měření 1 mm. Měření probíhalo ve vzpřímené poloze vestoje. Při měření se proband dotýkal hýžděmi a lopatkami stěny. Paty a špičky měl přitom přitisknuté k sobě. Paže proband ponechal volně svěšené podél těla.
- **Tělesná hmotnost a zastoupení tukové tkáně** byly měřeny pomocí bioimpedanční váhy Tanita SC240MA BIA (Bioelectrical Impedance Analysis).
- **Obvody pasu a boků** byly změřeny pomocí pásové míry s přesností na 1 mm. Měření probíhala vestoje. Obvod pasu byl měřen vodorovně v polovině vzdálenosti mezi *crista iliaca* a posledním žebrem. Obvod hýždí byl měřen v úrovni největšího vyklenutí hýžděového svalstva.
- **Index tělesné hmotnosti BMI** podle vzorce m/d^2 , kdy m představuje hmotnost a d výšku. Jelikož probandi byli adolescenti v různých stupních tělesného vývoje, byly BMI a obvod pasu vztaženy k věku.
- **WHR** (*waist to hip ratio*) vyjadřuje poměr obvodu pasu a boků.
- **WHtR** (*waist to height ratio*) vyjadřuje poměr pasu a výšky.

WHR i WHtR hodnoty slouží jako ukazatele abdominální obezity, která patří mezi hlavní rizikové faktory metabolického syndromu.

5.2. Biochemické vyšetření

Biochemická analýza periferní krve zahrnovala hodnoty: 1. glukózového metabolismu, 2. lipidového metabolismu 3. c-reaktivního proteinu (hsCRP), 4. jaterních enzymů a 5. spektra mastných kyselin.

Pro vyloučení probíhajícího zánětu, který by zkreslil výsledky, byly stanoveny hladiny hsCRP. Jaterní enzymy alaninaminotransferáza (ALT), aspartátaminotransferáza (AST) a γ -glutamyltransferáza (GMT) byly stanoveny pro vyloučení patologie jater, která by ovlivnila parametry glukózové a lipidové homeostáze.

Odběry probíhaly nalačno. Biochemická vyšetření byla provedena na Oddělení klinické biochemie Endokrinologického ústavu. Pro stanovení sledovaných hodnot byly použity následující metody.

- **Glykémie:** enzymatická referenční metoda za použití hexokinázy (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim). Opakovatelnost CV 1,0 %, mezilehlá přesnost CV 1,3 %.
- **Inzulín:** ECLIA (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim). Opakovatelnost CV 3,7 %, mezilehlá přesnost CV 4,6 %.
- **C-peptid:** ECLIA (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim). Opakovatelnost CV 3,2 %, mezilehlá přesnost CV 4,7 %.
- **Triacylglyceroly:** enzymatický kolorimetrický test (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim). Opakovatelnost CV 0,9 %, mezilehlá přesnost CV 2,0 %.
- **Celkový cholesterol:** enzymatický kolorimetrický test (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim). Opakovatelnost CV 1,1 %, mezilehlá přesnost CV 1,6 %.
- **HDL-cholesterol:** homogenní enzymatický kolorimetrický test. (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim). Opakovatelnost CV 1 %, mezilehlá přesnost CV 1,5 %.
- **HsCRP:** imunoturbidimetrie na latexových částicích (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim).
- **LDL-cholesterol:** Celkový cholesterol – HDL-cholesterol – $\frac{\text{Triacylglyceroly}}{2,2}$.
- **ALT (alaninaminotransferáza):** absorpční spektrofotometrie s pyridoxal P podle IFCC (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim).
- **AST (aspartátaminotransferáza):** absorpční spektrofotometrie s pyridoxal P podle IFCC (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim).
- **GMT (γ -glutamyltransferáza):** absorpční spektrofotometrie podle IFCC (Roche, Cobas 6000, Roche Diagnostics, Mannheim).

Index inzulínové rezistence

Inzulínová rezistence byla hodnocena pomocí indexu HOMA R (*Homeostatic model assessment*,) vypočítaného podle vzorce:

$$HOMA R = \frac{c_{glukóza} \times c_{inzulín}}{22,5},$$

kde $c_{glukóza}$ představuje glykémii nalačno, $c_{inzulín}$ představuje hladinu inzulinu nalačno.

Spektrum mastných kyselin

Lipidy byly extrahovány z krevní plasmy metodou Folcha (Folch et al, 1957) dichlormetanem místo chloroformu (Carlson, 1985). Frakce esterů cholesterolu (CE), fosfolipidů (PL) a triacylglycerolů (TG) byly separovány pomocí chromatografie na tenké vrstvě. Bližší popis postupu je popsán v práci Hlavatého (Hlavatý *et al.*, 2015).

Jednotlivé mastné kyseliny byly rozřazeny podle přítomnosti, počtu a lokalizace dvojných vazeb v řetězci do skupin mastných kyselin nasycených, mononenasycených a polynenasycených (viz tabulka 3). V další statistice se pracuje s hodnotami těchto souhrnných kategorií.

Tabulka 3 Přehled detekovaných mastných kyselin

Nasycené MK		Mononenasycené MK	
Triviální název	Řetězec	Triviální název	Řetězec
Laurová	12:00	Myristolová	14:1 n-5
Myristová	14:00	cis-7-hexadekanoová	16:1 n-9
Palmitová	16:00	Palmitolejová	16:1 n-7
Stearová	18:00	Olejová	18:1 n-9
Arachidová	20:00	Vakcenová	18:1 n-7
		Eikosanová	20:1 n-9
Ω-3 polynenasycené MK		Ω-6 polynenasycené MK	
Triviální název	Řetězec	Triviální název	Řetězec
α-Linolová	18:3 n-3	Linolová	18:2 n-6
EPA	20:5 n-3	γ-Linolová	18:3 n-6
DPA	22:5 n-3	Eikosadienová	20:2 n-6
DHA	22:6 n-3	DGLA	20:3 n-6
		Arachidonová	20:4 n-6
		Adrenová	22:4 n-6
		Osbondová	22:5 n-6

Fosfolipidová frakce ukazuje na složení membrán nezávisle na stravě. Zvýšené hladiny fosfolipidů nenasyčených mastných kyselin jsou indikátorem pozitivní inzulinové senzitivity (Riserus *et al.*, 2009). Estery cholesterolů mohou poukazovat na endogenní lipogenezi (Hlavatý *et al.*, 2015). Triacylglyceroly, fosfolipidy i estery cholesterolů jsou indikátory stravy (Brynes *et al.*, 2000, Marklund *et al.*, 2017).

5.3. Dotazník jídelních zvyklostí

Pro informace o stravě byli rodiče probandů požádáni o záznamy o sněžených potravinách. Z těchto údajů byly vypočítány průměrné hodnoty přijatých nutrientů pro každého probanda. Kromě sacharidů, proteinů a tuků byl sledován i příjem vápníku a vlákniny. Dále byl stanoven průměrný energetický příjem probanda.

Probandi byli také požádáni o vyplnění Třífaktorového dotazníku jídelních zvyklostí podle Stunkarda (Stunkard & Messick, 1985).

Výstupem byly skóre hladu, restriktce a disinhibice. Skóre hladu popisuje vnímavost jedince vůči pocitu hladu. Skóre restriktce vyjadřuje míru aktivního sebeovládání jedince ve stravování. Skóre disinhibice vyjadřuje ztrátu zábran jedince v příjmu potravy.

5.4. Molekulárně-genetická analýza

5.4.1. Izolace DNA

Pro potřeby genotypizace byla DNA izolována z leukocytů periferní krve kitem QuickGene DNA whole blood kit L (KURABO industries, Osaka) na přístroji QuickGene (FujiFilm Life Science).

Prvním krokem metody je lýze buněk, kdy činností proteáz a detergentů obsažených v pufru dochází k rozrušení membrány. V přítomnosti chaotropních solí se lipidy a denaturované proteiny shlukují k sobě. Do směsi je po inkubaci přidán 99% etanol.

Uvolněná DNA se pak zachytí na porózní membráně kolonky. Pro vyčištění DNA je kolonka opakovaně promývána pufrem, který odstraní nežádoucí zbytky. DNA se následně uvolní z membrány elučním pufrem.

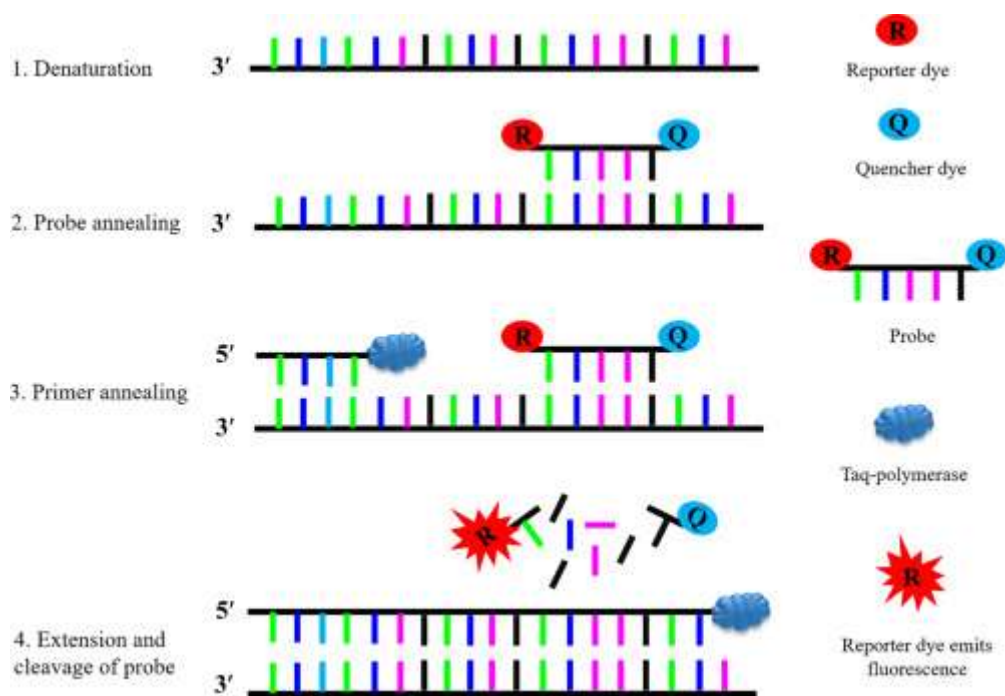
Po stanovení koncentrace extrahované DNA a ověření čistoty na spektrofotometru (NanoPhotometer P330) je eluát s DNA naředěn na pracovní koncentraci 10 ng/μl. Pracovní vzorky DNA jsou uchovávány v DNA bance při -20°C.

5.4.2. Genotypizace

Pro detekci polymorfismu rs1801282 v genu *PPARG* byla použita metoda Real-time PCR na přístroji Light Cycler 480 (Roche, USA).

TaqMan sondy (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA) mají na svém 5' konci fluorescenční barvu (reporter) a na 3' konci tzv. zhášec (quencher). V neaktivním stavu jsou

sondy složené do vlásenkové struktury, kdy se reportér dostává do blízkosti zhášedce, což inhibuje jeho fluorescenční aktivitu. V průběhu PCR sondy hybridizují s DNA. Exonukleázová aktivita *Taq* DNA polymerázy ve směru 5' – 3' degraduje sondu a uvolní reportér (viz obrázek 10). Přístroj měří fluorescenci po celou dobu polymerázové reakce. Míra fluorescence je přímo úměrná množství amplifikované DNA.



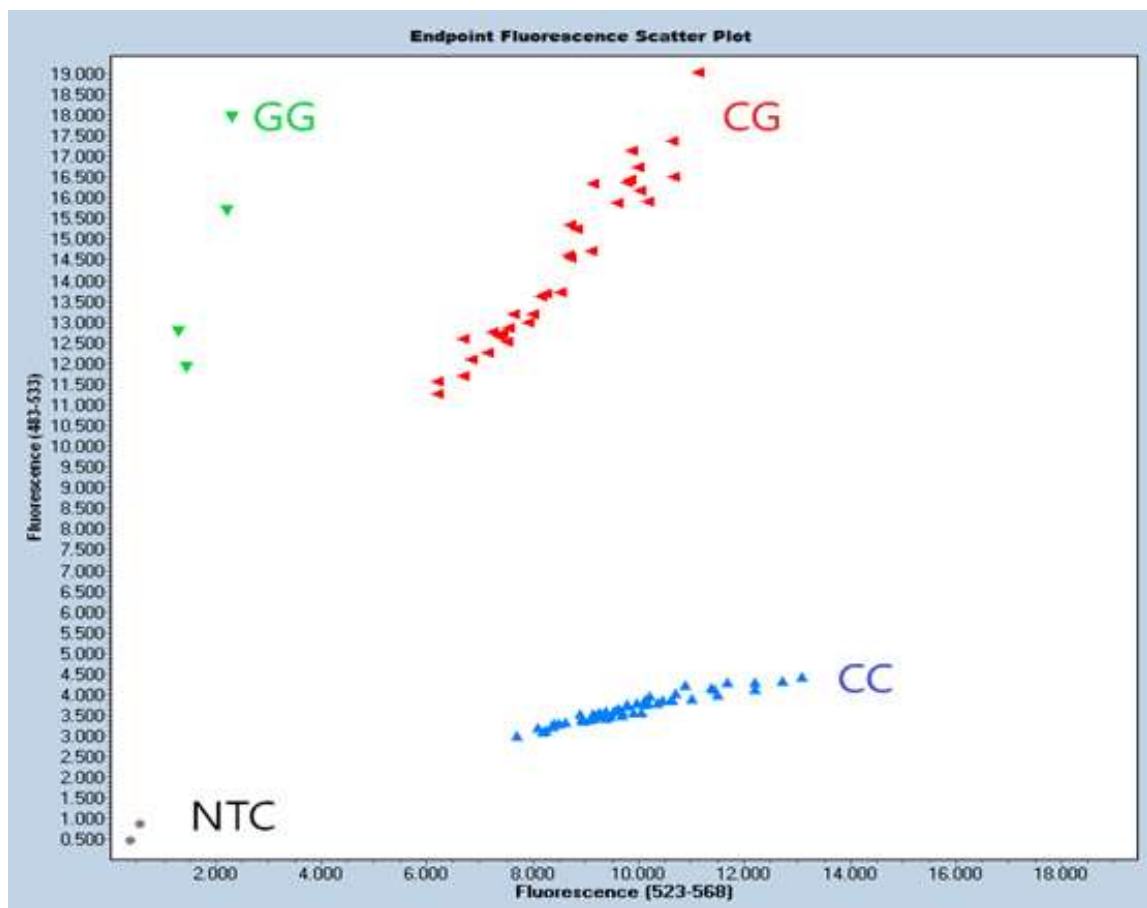
Obrázek 10 Princip metody Real-time PCR (Roy et al., 2019)

R: reportér, Q: zhášedce, K uvolnění reportéru dochází v momentu, kdy jej od sondy odstřihne Taq polymeráza

Postup

1. Příprava reakční směsi: 20 μ l TaqMan rs1801282 Genotyping Assay 40x, 180 μ l sterilní vody, 200 μ l TaqMan Genotyping Master Mix 2x
2. Příprava 96jamkové destičky: 1,5 μ l DNA (voda u negativních kontrol), 4 μ l reakční směsi
3. Přelepění desky fólií pro real-time PCR, stočení a vložení do cycleru
4. Denaturace při 95 °C po dobu 5 minut
5. 50 cyklů při 60 °C po dobu 1 minuty a 95 °C po dobu 15 sekund.

Metoda endpoint genotyping vychází ze závěrečného měření fluorescence z real-time PCR. Pro rozlišení alel zde byly použity dvě rozdílně značené sondy, které se váží specificky podle alely na DNA. Sonda s chromoforem FAM (483-533 nm) emituje azurové světlo. Sonda s chromoforem Hex (523-568 nm) světlo zelené. Analýzou poměru detekovaných vlnových délek jsou stanoveny genotypy. V případě polymorfismu rs1801282 v genu *PPARG* se jedná o homozygoty GG (*Ala*), CC (*Pro*) a heterozygoty CG.



Obrázek 11 Vizualizace výstupu Endpoint genotyping. NTC: negativní kontroly, modrá: Pro homozygoti CC, zelená: Ala homozygoti GG, červená: heterozygoti CG

5.5. Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena v programech NCSS 2004 (East Kaysville, Utah, USA), Microsoft Office Excel (2003 a 2007) a Statgraphics Centurion 18 v. 18.1.02 (The Plains, Virginia, USA).

5.5.1. Skóre směrodatné odchylky

Věkové rozpětí probandů se pohybovalo mezi 13 a 17 lety. Jelikož je tento věkový interval charakteristický intenzivním růstem a tělesným vývojem, bylo nutné zohlednit naměřené

antropometrické údaje vůči věku probanda. Pro tento účel bylo vypočítáno **SD-skóre**, které udává, o kolik směrodatných odchylek SD se proband X_i liší od průměru referenčního souboru \bar{X} ve své věkové kategorii. Výpočet se provádí podle vzorce

$$SDS = \frac{X_i - \bar{X}}{SD\bar{x}}.$$

5.5.2. Testování statistických hypotéz

Hypotézy

Pro testování hypotéz jsou v této práci porovnávány hodnoty sledovaných parametrů (hladiny glukózy v krvi, cholesterolu atd.) mezi dvěma populacemi. Hodnoty – mediány, četnosti, rozptyly – pak určují konkrétní test, který je použit v daném případě.

Nulová hypotéza H_0 předpokládá, že mezi dvěma populacemi není v rámci sledovaného parametru μ žádný významný rozdíl.

$$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$$

Alternativní hypotéza H_A předpokládá, že se obě populace v rámci sledovaného parametru mezi sebou liší.

$$H_A: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$$

Hladina významnosti α

Hladina významnosti α stanovená experimentátorem určuje pravděpodobnost chyby I. typu, kdy je nesprávně zamítnuta H_0 . Tato hodnota je pak porovnávána s p-hodnotou použitého testu, která určuje pravděpodobnost náhodného výsledku. Pokud je p-hodnota nižší než α , je výsledek přijat jako významný a H_0 se zamítá.

Zde je α stanovena jako 0,05, čili 5% pravděpodobnost náhodného významného rozdílu mezi populacemi při platné H_0 .

5.5.3. Deskriptivní statistika

Míry polohy

Mezi popisy míry polohy souboru dat se mimo jiné řadí aritmetický průměr, modus a medián. Pro data s nenormálním rozdělením je nejvhodnější použití mediánu pro jeho

robustnost; odlehlé hodnoty nevychylují výsledek jako např. aritmetický průměr. Lze jej jednoduše charakterizovat jako 50. percentil.

Normalita distribuce souboru

Použití statistických metod často závisí na distribuci sledovaných četností. Z tohoto důvodu bylo nutné jako první krok stanovit normalitu distribuce v rámci každého sledovaného parametru.

Normální distribuční křivka má vždy koeficienty šikmosti a špičatosti rovné nule. Pokud koeficient šikmosti δ nesplňuje podmínku, nabývá křivka asymetrického charakteru. Koeficient špičatosti τ pak určuje rozložení četností velmi vysokých a velmi nízkých hodnot. Normální distribuce četností dovoluje použití parametrických metod. Pokud je normalita zamítnuta, přistupuje se k použití neparametrických metod, zde Kruskal-Wallisův test.

Boxova-Coxova transformace dat

V případě, kdy je nutná aplikace parametrických metod u souborů s nenormálním rozdělením, přistupuje se k transformaci dat. Cílem je nalezení právě takové transformace exponentem λ , při které platí symetrické rozdělení s normální distribucí.

Pro Boxovu-Coxovu transformaci je charakteristická spojitost v okolí nuly a srovnatelná měřítka po transformaci. Transformace byla provedena v programu a Statgraphics Centurion 18 v. 18.1.02 (The Plains, Virginia, USA).

5.5.4. Frekvenční analýza

5.5.4.1. Hardy-Weinbergova rovnováha

Hardy-Weinbergova rovnováha (HWE) vyjadřuje vztah mezi očekávanými a pozorovanými frekvencemi alel a genotypů. Očekávané četnosti jsou vypočítány pomocí rovnic

$$p + q = 1$$

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1,$$

kdy p a q vyjadřují frekvence alel. Druhá rovnice pak popisuje očekávané rozložení genotypů v populaci. Z rovnic vyplývá, že za rovnovážného stavu se frekvence alel a genotypů napříč generacemi nemění.

5.5.4.2. *Analýza kategoriálních znaků*

Závislost výskytu dvou kategoriálních (nominálních) znaků je zjištěna χ^2 testem, který porovnává frekvence mezi dvěma a více soubory. Hodnota χ^2 je vypočítána podle následující rovnice, kde O představuje pozorované četnosti a E četnosti očekávané.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Výsledná hodnota je následně porovnána s kritickou hodnotou pro příslušnou hladinu významnosti α a stupně volnosti. Pro 1 stupeň volnosti a α 0,05 platí pro zamítnutí H_0 $\chi^2 > 3,841$.

5.5.5. *Kruskalův-Wallisův test*

Kruskalův-Wallisův test je neparametrickou metodou pro soubory s nenormální distribucí, která slouží jako obdoba parametrické analýzy rozptylu. Na rozdíl od klasické analýzy rozptylu je jeho výchozí hodnotou pořadí. Určuje významnost rozdílů mezi dvěma a více na sobě nezávislých souborů.

5.5.6. *Dvoufaktorová analýza rozptylu*

Analýza rozptylu či ANOVA je parametrickou metodou, která slouží k určení významnosti rozdílů rozptylů dvou a více souborů prostřednictvím druhé mocniny průměrné odchylky. Pracuje s kontinuálními daty v normálním rozdělení.

Pro porovnání vlivu dvou nezávislých proměnných (genotyp a obezita) na závislou proměnnou se přistupuje ke dvoufaktorové analýze rozptylu (two-way ANOVA).

Tato metoda sleduje efekt dvěma způsoby zároveň. Odděleně, kdy jedna z nezávislých proměnných je považována za rušivou složku, a společně, kdy sleduje jejich vzájemnou interakci.

6. Výsledky

6.1. Frekvenční analýza

6.1.1. Hardyho-Weinbergova rovnováha

Pro stanovení Hardyho-Weinbergovy rovnováhy bylo genotypizováno 2246 nepříbuzných jedinců. Pro zpracování dat byl použit Excel 2007 a internetový kalkulátor HW rovnováhy Oege.org.

Tabulka 4 Genotypizace souboru 2246 adolescentů

<i>PPARG2 rs1801282</i>	<i>Počet</i>	<i>%</i>
CC	1601	71,3
CG	597	26,6
GG	48	2,1
Σ	2246	100

Tabulka 5 HWE souboru 2246 adolescentů

<i>PPARG2 rs1801282</i>	<i>E_i</i>	<i>O_i</i>
CC	1606,46	1601
CG	586,09	597
GG	53,46	48

$p = 0,85; q = 0,15$

$\chi^2 = 0,78$ $p = 0,63$

E_i: očekávané četnosti, *O_i*: pozorované četnosti, *p*: alela C/Pro, *q*: alela G/Ala

Zhodnocení: V souboru bylo detekováno 71,3 % majoritních homozygotů CC, 26,6 % heterozygotů CG a 2,1 % minoritních homozygotů GG (viz tabulka 4). Frekvence minoritní alely G se rovná 15 % (viz tabulka 5), čímž se blíží frekvenci pozorované v širší evropské populaci (10 % až 13 %). Zjištěné frekvence odpovídají HWE.

6.1.2. Závislost výskytu nadváhy na genotypu

Samotný soubor, který podléhá další analýze, byl zahrnut v genotypizovaném souboru. Výpočty byly provedeny v programu Excel 2007. Protože minoritních homozygotů byl v souboru nedostatek, byli spolu s heterozygoty zahrnuti do skupiny přenašečů *Ala* (CG/GG genotyp).

Tabulka 6 Závislost výskytu nadváhy na genotypu

<i>PPARG2</i> rs1801282	GG/CG	%	CC	%
Nadváha a obezita	55 (51,39)	7,5	124 (127,61)	16,9
Normostenie	156 (159,61)	21,2	400 (396,39)	54,4
Σ	735			

$\chi^2 = 0,4712$ $p = 0,4924$

Kritérium nadváhy je BMI > 90. percentil. Očekávané četnosti jsou uvedené v závorkách.

Zhodnocení

Z celkového počtu 735 probandů pouze 7,5 % všech probandů bylo přenašeči *Ala* s nadváhou (viz tabulka 6). Výsledek χ^2 testu se rovná 0,4712. P-hodnota není statisticky významná. Nebyla zaznamenána souvislost mezi polymorfismem v *PPARG2* rs1801282 a rozvojem nadváhy.

6.2. Analýza rozptylu

Měřené údaje byly vztaženy vůči třem faktorům – pohlaví, nadváze a genotypu. Rozděleny byly do několika kategorií – antropologické a klinické parametry, biochemické parametry, spektra mastných kyselin a nutričních údajů.

Pro ověření normality dat byly nejprve u všech údajů testovány koeficienty šikmosti špičatosti v programu Statgraphics Centurion 18 v. 18.1.02 (The Plains, Virginia, USA). U podstatné většiny údajů oba testy vyšly v hodnotách příliš vzdálených nule. Normalita souboru byla tedy zamítnuta. Pro další statistiku byl proto použit neparametrický Kruskalův-Wallisův test v programu NCSS 2004 (East Kaysville, Utah, USA).

Po mocninné transformaci dat pak byly parametrickou ANOVA vypočítány p-hodnoty adjustované na věk, BMI SDS a BMI SDS spolu s věkem.

Zhodnocení vlivu pohlaví:

Vliv pohlaví je signifikantní u většiny klinických a biochemických parametrů (viz tabulka 7). Signifikantní vliv nebyl zaznamenán u hodnot diastolického krevního tlaku, inzulinémie, HOMA R a c-reaktivního proteinu. Vliv pohlaví na obvod pasu dosahuje významnosti při adjustaci na BMI SDS a BMI SDS kombinované s věkem.

Nutriční příjem a stravovací návyky byly mezi pohlavími signifikantně odlišné s výjimkou skóre dysinhibice a procentuálního zastoupení tuku ve stravě (viz tabulka 8). Zastoupení sacharidů ve stravě ztrácí signifikanci při adjustaci na BMI SDS a BMI SDS s věkem.

Vliv pohlaví na spektrum mastných kyselin (viz tabulka 9) je signifikantní především u cholesteresterové frakce, kde všechny detekované složky dosáhly p-hodnoty nižší než 0,05. V rámci triacylglycerolové frakce dosáhly statisticky významného rozdílu jenom ω 6-polynenasycených mastných kyselin. Ve fosfolipidové frakci jsou statisticky významné nasycené mastné kyseliny při adjustaci na BMI SDS a BMI SDS s věkem.

Zhodnocení vlivu nadváhy:

Vliv nadváhy a obezity na výši parametrů je signifikantní u všech antropometrických a klinických parametrů. (viz tabulka 10) U biochemických parametrů dosahují signifikance všechny, pouze závislost glykémie na nadváze ztrácí signifikanci při adjustaci na věk. Mediány všech klinických a biochemických hodnot nepřekračují fyziologické hladiny.

Nutriční příjem a stravovací návyky (viz tabulka 11) vykazují signifikantní souvislost s nadváhou ve skóre restriktce, absolutního příjmu tuků a sacharidů a poměrného zastoupení proteinů ve stravě. Také rozdíl v příjmu energie mezi probandy s nadváhou a normostenickými probandy byl vyhodnocen jako signifikantní. Adolescenti se zvýšenou hmotností v dotazníku jídelních zvyklostí dosáhli vysokých skóre restriktce. Také jejich příjem energie byl významně nižší než u jejich normostenických vrstevníků. Příjem tuků a sacharidů je signifikantně vyšší u normostenických probandů. Poměrné zastoupení proteinů ve stravě však bylo vyšší u probandů s nadváhou.

Vliv nadváhy na spektrum mastných kyselin byl zaznamenán ve fosfolipidové a triacylglycerolové frakci (viz tabulka 12). V rámci cholesteresterové frakce nebyla signifikantní ani jedna ze skupin mastných kyselin. Ve fosfolipidové frakci byly rozdíly

signifikantní všechny s výjimkou ω -3 polynenasycených kyselin. Ve frakci triacylglycerolů byly signifikantní tytéž rozdíly s výjimkou kyselin mononenasycených.

Probandi s nadváhou měli vyšší zastoupení nasycených kyselin a nižší zastoupení mononenasycených a ω -6 polynenasycených. V zastoupení ω -3 polynenasycených mastných kyselin nebyly mezi skupinami probandů žádné signifikantní rozdíly.

Zhodnocení vlivu genotypu:

Genotyp má signifikantní vliv na hladinu c-peptidu bez ohledu na BMI SDS a věk a hladinu inzulínu po adjustaci na BMI SDS v kombinaci s věkem. Obě hodnoty byly vyšší u majoritních homozygotů. Antropometrické a klinické parametry nevykazují na genotypu závislost (viz tabulka 13).

Nutriční příjem a jídelní zvyklosti se mezi přenašeči *Ala* a majoritními homozygoty významně liší pouze v zastoupení proteinů ve stravě (viz tabulka 14).

Spektrum volných mastných kyselin se mezi skupinami signifikantně liší pouze ve fosfolipidové frakci (viz tabulka 15). Zastoupení nasycených mastných kyselin bylo vyšší u majoritních homozygotů. Poměr polynenasycených kyselin vůči nasyceným byl vyšší u přenašečů *Ala*.

Tabulka 7 Měřené parametry v závislosti na pohlaví

Antropometrické a klinické parametry	Chlapci n=368			Dívky n= 367			P	Věk*	BMI SDS*	Věk a BMI SDS*
	MDN	LCL	UCL	MDN	LCL	UCL				
Věk (roky)	16,5	15,7	17,1	16,4	15,6	17,2	-	-	-	-
WHtR	0,43	0,40	0,47	0,42	0,40	0,45	0,003	0,004	0,005	0,005
WHR	0,80	0,78	0,83	0,74	0,71	0,77	0,000	0,000	0,000	0,000
Pas SDS	0,465	-0,300	1,170	0,550	-0,140	1,170	0,204	0,206	0,000	0,000
BMI SDS	0,360	-0,365	1,315	0,300	-0,420	1,130	-	-	-	-
Celkový tuk [%]	16,1	13,5	19,8	25,5	21,7	29,6	-	-	-	-
TKS (mm Hg)	128	121	138	118	110	125	0,000	0,000	0,000	0,000
TKD (mm Hg)	79	73	85	80	73	86	0,573	0,563	0,522	0,505
<i>Biochemické parametry</i>										
Glukóza (mmol/l)	5,1	4,8	5,3	4,8	4,5	5,0	0,000	0,000	0,000	0,000
C-peptid (nmol/l)	0,70	0,58	0,84	0,74	0,64	0,87	0,011	0,011	0,001	0,001
Inzulin (mIU/l)	9,6	7,0	12,7	9,8	7,4	13,1	0,397	0,342	0,076	0,102
HOMA R (mIU.mmol.l ⁻²)	2,15	1,57	2,95	2,09	1,51	2,86	0,443	0,645	0,806	0,785
Cholesterol celkový (mmol/l)	3,79	3,29	4,33	4,29	3,84	4,89	0,000	0,000	0,000	0,000
HDL cholesterol (mmol/l)	1,27	1,09	1,46	1,52	1,33	1,81	0,000	0,000	0,000	0,000
LDL cholesterol (mmol/l)	2,12	1,75	2,61	2,39	1,97	2,90	0,000	0,000	0,000	0,000
Triacylglyceroly (mmol/l)	0,83	0,63	1,11	0,91	0,67	1,22	0,013	0,009	0,004	0,003
ALT (μkat/l)	0,32	0,26	0,42	0,25	0,21	0,32	0,000	0,000	0,000	0,000
AST (μkat/l)	0,43	0,39	0,50	0,36	0,32	0,42	0,000	0,000	0,000	0,000
GMT (μkat/l)	0,27	0,22	0,36	0,21	0,17	0,26	0,000	0,000	0,000	0,000
hsCRP (mg/l)	0,6	0,4	1,5	0,8	0,4	1,9	0,214	0,201	0,091	0,059

WHtR: podíl pasu vůči výšce, WHR: podíl pasu vůči bokům, TKS: krevní tlak systolický, TKD: krevní tlak diastolický, HOMA R: homeostatický model inzulínové rezistence, ALT: alaninaminotransferáza, AST: aspartátaminotransferáza, GMT: glutamyltransferáza, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: horní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p-hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.

Tabulka 8 Nutriční příjem probandů a jejich stravovací návyky v závislosti na pohlaví

	<i>Chlapci</i> <i>n=368</i>			<i>Dívky</i> <i>n= 367</i>			<i>P</i>	<i>Věk*</i>	<i>Věk a</i> <i>BMI</i>	
	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>			<i>SDS*</i>	<i>SDS*</i>
Skóre restrikce	2	1	5	4	2	8	0,000	0,000	0,000	0,000
Skóre dysinhibice	3	2	4	3	1	5	0,508	0,511	0,575	0,509
Skóre hladovění	3	2	6	3	1	5	0,017	0,017	0,011	0,011
Sacharidy (g)	327	266	431	258	205	316	0,000	0,000	0,000	0,000
% Sacharidy	52,7	48,4	56,2	53,0	49,2	56,6	0,032	0,043	0,053	0,053
Proteiny (g)	90	74	110	65	54	77	0,000	0,000	0,000	0,000
% Proteiny	13,9	12,6	15,5	13,7	12,2	15,3	0,014	0,014	0,024	0,025
Tuky (g)	95	76	118	71	56	89	0,000	0,000	0,000	0,000
% Tuky	33,3	29,8	36,8	33,2	29,6	36,5	0,662	0,661	0,661	0,660
Energie (kJ/den)	10770	8854	13637	8249	6697	9767	0,000	0,000	0,000	0,000
Příjem vápníku (mg/den)	895	636	1174	657	514	856	0,000	0,000	0,000	0,000
Vláknina (g/den)	11	8	15	9	7	12	0,000	0,000	0,000	0,000

*Skóre restrikce, dysinhibice a hladovění: výsledky dotazníku jídelních zvyklostí, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: horní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p -hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.*

Tabulka 9 Spektrum mastných kyselin v závislosti na pohlaví

	Chlapci n=368			Dívky n= 367			P	Věk*	BMI SDS*	Věk a BMI SDS*
	MDN	LCL	UCL	MDN	LCL	UCL				
<i>Cholesteroly MK</i>										
% SFA	12,93	11,73	14,17	12,72	11,51	13,87	0,043	0,025	0,040	0,023
% MUFA	24,03	22,47	25,52	23,51	22,17	25,27	0,023	0,024	0,025	0,027
% PUFA ω6	61,82	59,69	64,37	62,66	60,01	64,63	0,012	0,012	0,010	0,010
% PUFA ω3	0,76	0,51	1,06	0,80	0,57	1,12	0,039	0,038	0,027	0,026
PUFA Σ/SFA	4,80	4,26	5,56	5,02	4,45	5,60	0,009	0,009	0,008	0,008
ω6/ω3	82,17	59,27	118,70	77,94	55,22	111,07	-	-	-	-
<i>Fosfolipidy MK</i>										
% SFA	43,55	42,58	44,50	43,70	42,83	44,59	0,141	0,139	0,034	0,033
% MUFA	13,22	12,55	13,86	13,09	12,39	13,88	0,493	0,492	0,405	0,401
% PUFA ω6	39,24	37,79	40,28	39,02	37,75	40,17	0,618	0,610	0,500	0,533
% PUFA ω3	3,76	3,31	4,36	3,82	3,33	4,34	0,393	0,391	0,311	0,306
PUFA Σ/SFA	0,99	0,94	1,04	0,99	0,94	1,03	0,223	0,267	0,095	0,091
ω6/ω3	10,44	8,94	11,99	10,31	8,96	11,72	0,232	0,228	0,232	0,186
<i>Triacylglyceroly MK</i>										
% SFA	31,22	29,27	33,45	31,51	29,36	33,65	0,173	0,172	0,142	0,141
% MUFA	46,32	44,39	48,17	46,63	44,62	48,37	0,611	0,610	0,635	0,635
% PUFA ω6	20,19	17,77	21,82	19,36	17,03	21,69	0,013	0,013	0,018	0,017
% PUFA ω3	1,48	1,11	1,92	1,40	1,09	1,83	0,464	0,466	0,528	0,531
PUFA Σ/SFA	0,70	0,58	0,80	0,67	0,54	0,79	0,095	0,093	0,078	0,076
ω6/ω3	13,06	10,61	17,78	13,25	10,87	16,81	0,842	0,849	0,924	0,918

SFA: nasycené mastné kyseliny, MUFA: mononenasycené mastné kyseliny, PUFA: polynenasycené mastné kyseliny, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: svrchní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p -hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.

Tabulka 10 Měřené parametry v závislosti na obezitě

<i>Antropometrické a klinické parametry</i>	<i>Nadváha a obezita</i>			<i>Normostenie</i>			<i>P</i>	<i>Věk</i>
	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>		
Věk (roky)	16,5	15,6	17,1	16,4	15,7	17,2	-	-
WHtR	0,49	0,47	0,52	0,41	0,40	0,43	0,000	0,000
WHR	0,81	0,78	0,85	0,76	0,73	0,80	0,000	0,000
Pas SDS	1,710	1,220	2,200	0,145	-0,455	0,695	0,000	0,000
BMI SDS	1,850	1,490	2,310	-0,010	-0,625	0,540	-	-
Celkový tuk [%]	28,2	22,8	32,5	18,6	14,6	24,0	-	-
TKS (mm Hg)	128	119	137	122	113	130	0,000	0,000
TKD (mm Hg)	82	76	86	79	73	85	0,002	0,002
<i>Biochemické parametry</i>								
Glukóza (mmol/l)	5,0	4,7	5,2	4,9	4,6	5,2	0,048	0,050
C-peptid (nmol/l)	0,82	0,70	1,00	0,69	0,59	0,80	0,000	0,000
Inzulín (mIU/l)	11,8	9,4	16,8	9,1	6,9	11,9	0,000	0,000
HOMA R (mIU.mmol.l⁻²)	2,62	2,04	3,69	1,96	1,43	2,66	0,000	0,000
Cholesterol celkový (mmol/l)	4,22	3,70	4,79	3,98	3,52	4,59	0,003	0,002
HDL cholesterol (mmol/l)	1,21	1,04	1,46	1,43	1,24	1,69	0,000	0,000
LDL cholesterol (mmol/l)	2,46	2,08	2,95	2,15	1,79	2,64	0,000	0,000
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,01	0,80	1,44	0,81	0,64	1,10	0,000	0,000
ALT (μkat/l)	0,36	0,26	0,48	0,27	0,23	0,33	0,000	0,000
AST (μkat/l)	0,42	0,36	0,50	0,40	0,35	0,46	0,005	0,005
GMT (μkat/l)	0,29	0,21	0,38	0,23	0,19	0,29	0,000	0,000
hsCRP (mg/l)	1,1	0,6	2,3	0,6	0,3	1,5	0,000	0,000

WHtR: podíl pasu vůči výšce, WHR: podíl pasu vůči bokům, TKS: krevní tlak systolický, TKD: krevní tlak diastolický, HOMA R: homeostatický model inzulínové rezistence, ALT: alaninaminotransferáza, AST: aspartátaminotransferáza, GMT: glutamyltransferáza, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: horní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p -hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.

Tabulka 11 Nutriční příjem probandů a jejich stravovací návyky v závislosti na obezitě

	<i>Nadváha a obezita</i>			<i>Normostenie</i>			<i>P</i>	<i>Věk*</i>
	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>		
Skóre restrikce	5	3	9	3	1	5	0,000	0,000
Skóre dysinhibice	3	2	5	3	1	4	0,184	0,181
Skóre hladovění	3	1	5	3	2	5	0,405	0,408
Sacharidy (g)	269	211	336	298	237	366	0,004	0,004
% Sacharidy	52,9	47,9	55,9	53,0	48,9	56,6	0,279	0,280
Proteiny (g)	73	56	93	76	63	94	0,084	0,083
% Proteiny	14,2	12,8	15,8	13,7	12,3	15,3	0,024	0,024
Tuky (g)	75	57	99	82	65	105	0,003	0,003
% Tuky	33,0	29,8	36,5	33,3	29,7	36,7	0,431	0,429
Energie (kJ/den)	8423	6969	11145	9371	7749	11515	0,010	0,006
Příjem vápníku (mg/den)	712	513	989	756	591	1017	0,069	0,070
Vláknina (g/den)	10	7	13	10	8	14	0,053	0,053

*Skóre restrikce, dysinhibice a hladovění: výsledky dotazníku jídelních zvyklostí, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: horní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p -hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.*

Tabulka 12 Spektrum mastných kyselin v závislosti na obezitě

	<i>Nadváha a obezita</i> <i>n=179</i>			<i>Normostenie</i> <i>n=556</i>			<i>P</i>	<i>Věk*</i>
<i>Cholesteroly MK</i>	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>		
% SFA	12,88	11,88	14,23	12,78	11,51	13,97	0,133	0,135
% MUFA	23,79	22,46	25,49	23,73	22,24	25,46	0,816	0,809
% PUFA ω6	62,04	59,30	64,42	62,51	59,88	64,60	0,346	0,314
% PUFA ω3	0,83	0,58	1,20	0,78	0,54	1,08	0,163	0,159
PUFA Σ/SFA	4,83	4,26	5,46	4,95	4,37	5,63	0,079	0,079
ω6/ω3	74,80	52,41	110,66	81,39	57,86	116,77	-	-
<i>Fosfolipidy MK</i>								
% SFA	44,02	43,07	44,71	43,51	42,57	44,47	0,003	0,003
% MUFA	12,96	12,22	13,64	13,23	12,54	13,93	0,003	0,003
% PUFA ω6	38,89	37,57	39,91	39,24	37,89	40,29	0,024	0,022
% PUFA ω3	3,78	3,40	4,41	3,78	3,30	4,30	0,150	0,149
PUFA Σ/SFA	0,97	0,93	1,01	0,99	0,95	1,04	0,017	0,013
ω6/ω3	10,09	8,80	11,64	10,44	9,04	11,82	0,030	0,033
<i>Triacylglyceroly MK</i>								
% SFA	32,02	30,01	34,53	31,17	29,18	33,27	0,005	0,006
% MUFA	46,10	44,32	48,14	46,64	44,78	48,31	0,136	0,136
% PUFA ω6	19,50	16,78	21,54	19,85	17,61	21,81	0,042	0,041
% PUFA ω3	1,45	1,12	1,91	1,44	1,09	1,87	0,606	0,608
PUFA Σ/SFA	0,66	0,24	0,77	0,69	0,58	0,80	0,010	0,012
ω6/ω3	13,42	10,51	16,65	13,16	10,88	17,40	0,583	0,580

*SFA: nasycené mastné kyseliny, MUFA: mononenasycené mastné kyseliny, PUFA: polynenasycené mastné kyseliny, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: horní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p -hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.*

Tabulka 13 Závislost parametrů na genotypu

<i>PPARG2</i> rs1801282	<i>GG/CG</i>			<i>CC</i>			<i>P</i>	<i>Věk*</i>	<i>BMI SDS*</i>	<i>Věk a BMI SDS*</i>
	<i>n=211</i>					<i>n=524</i>				
<i>Antropometrické a klinické parametry</i>	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>				
Věk (roky)	16,280	15,620	17,000	16,530	15,690	17,220	-	-	-	-
WHtR	0,430	0,400	0,470	0,420	0,400	0,450	0,557	0,493	0,983	0,612
WHR	0,780	0,740	0,820	0,780	0,740	0,810	0,563	0,588	0,935	0,957
Pas SDS	0,600	-0,160	1,270	0,510	-0,270	1,130	0,239	0,276	0,296	0,222
BMI SDS	0,330	-0,260	1,280	0,355	-0,425	1,210	-	-	-	-
Celkový tuk [%]	21,100	15,700	27,000	20,700	15,900	26,600	-	-	-	-
TKS (mm Hg)	123,000	114,000	133,000	124,000	115,000	132,000	0,587	0,460	0,937	0,898
TKD (mm Hg)	80,000	73,000	85,000	80,000	73,000	86,000	0,776	0,918	0,604	0,743
<i>Biochemické parametry</i>										
Glukóza (mmol/l)	4,920	4,690	5,130	4,890	4,625	5,180	0,476	0,627	0,508	0,654
C-peptid (nmol/l)	0,703	0,590	0,803	0,733	0,621	0,873	0,033	0,022	0,009	0,006
Inzulin (mIU/l)	9,350	7,110	12,190	9,740	7,275	13,210	0,072	0,052	0,053	0,035
HOMA R (mIU.mmol.l⁻²)	1,981	1,455	2,677	2,163	1,557	3,004	0,128	0,132	0,084	0,055
Cholesterol celkový (mmol/l)	3,990	3,540	4,630	4,055	3,580	4,620	0,895	0,983	0,767	0,775
HDL cholesterol (mmol/l)	1,420	1,170	1,670	1,380	1,165	1,610	0,162	0,149	0,073	0,073
LDL cholesterol (mmol/l)	2,230	1,810	2,700	2,225	1,890	2,755	0,811	0,900	0,619	0,710
Triacylglyceroly (mmol/l)	0,840	0,650	1,100	0,865	0,650	1,185	0,329	0,418	0,171	0,240
ALT (μkat/l)	0,290	0,240	0,360	0,280	0,230	0,370	0,668	0,462	0,923	0,700
AST (μkat/l)	0,400	0,350	0,470	0,400	0,350	0,470	0,822	0,759	0,874	0,805
GMT (μkat/l)	0,250	0,200	0,330	0,240	0,190	0,310	0,181	0,106	0,195	0,191
hsCRP (mg/l)	0,670	0,350	1,720	0,690	0,360	1,665	0,990	0,800	0,764	0,982

*WHtR: podíl pasu vůči výšce, WHR: podíl pasu vůči bokům, TKS: krevní tlak systolický, TKD: krevní tlak diastolický, HOMA R: homeostatický model inzulinové rezistence, ALT: alaninaminotransferáza, AST: aspartátaminotransferáza, GMT: glutamyltransferáza, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: horní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p -hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.*

Tabulka 14 Nutriční příjem probandů a jejich stravovací návyky v závislosti na genotypu

PPARG2 rs1801282	GG/CG n=211			CC n=524			P	Věk*	BMI SDS*	Věk a BMI SDS*
	MDN	LCL	UCL	MDN	LCL	UCL				
Skóre restrikce	3	2	7	3	1	6	0,084	0,075	0,149	0,122
Skóre dysinhibice	3	2	4	3	1	5	0,259	0,209	0,292	0,235
Skóre hladovění	4	2	6	3	2	5	0,317	0,287	0,266	0,246
Sacharidy (g)	289	230	375	290	224	362	0,984	0,990	0,622	0,636
% Sacharidy	53,3	49,3	56,5	52,8	48,5	56,4	0,484	0,432	0,413	0,411
Proteiny (g)	75	58	93	75	62	95	0,284	0,272	0,332	0,349
% Proteiny	13,7	12,2	15,0	13,9	12,5	15,6	0,023	0,022	0,011	0,011
Tuky (g)	82	65	106	80	63	103	0,972	0,960	0,832	0,836
% Tuky	33,0	29,8	36,9	33,2	29,6	36,6	0,888	0,897	0,888	0,897
Energie (kJ/den)	9115	7443	11622	9239	7540	11343	0,913	0,921	0,888	0,899
Příjem vápníku (mg/den)	731	545	989	756	583	1017	0,723	0,736	0,869	0,870
Vláknina (g/den)	11	8	15	10	8	13	0,422	0,419	0,366	0,370

Skóre restrikce, dysinhibice a hladovění: výsledky dotazníku jídelních zvyklostí, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: horní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p-hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.

Tabulka 15 Spektrum mastných kyselin v závislosti na genotypu

<i>PPARG2</i> rs1801282	<i>GG/CG</i> <i>n=211</i>			<i>CC</i> <i>n=524</i>			<i>P</i>	<i>Věk*</i>	<i>BMI</i> <i>SDS*</i>	<i>Věk a</i> <i>BMI</i> <i>SDS*</i>
	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>	<i>MDN</i>	<i>LCL</i>	<i>UCL</i>				
<i>Cholesteroly MK</i>										
% SFA	12,703	11,505	13,855	12,843	11,662	14,076	0,6037	0,5822	0,6238	0,6008
% MUFA	23,511	22,072	25,473	23,841	22,3495	25,4675	0,5006	0,5723	0,4784	0,5486
% PUFA ω6	62,584	59,929	64,626	62,2615	59,784	64,4545	0,3503	0,3638	0,3846	0,4866
% PUFA ω3	0,749	0,504	1,08	0,7995	0,5655	1,097	0,1454	0,1624	0,1164	0,1332
PUFA Σ/SFA ω6/ω3	4,938	4,395	5,673	4,926	4,291	5,5585	0,3835	0,3898	0,3896	0,3951
86,852	57,531	120,484	77,6515	56,814	111,011	-	-	-	-	-
<i>Fosfolipidy MK</i>										
% SFA	43,485	42,659	44,389	43,7175	42,6995	44,602	0,035	0,0993	0,0282	0,0449
% MUFA	13,073	12,383	13,863	13,197	12,5005	13,898	0,4021	0,3954	0,4588	0,5994
% PUFA ω6	39,361	37,688	40,497	39,084	37,7875	40,142	0,1386	0,1663	0,0676	0,0783
% PUFA ω3	3,785	3,248	4,393	3,7745	3,36	4,3175	0,5104	0,5235	0,4376	0,4562
PUFA Σ/SFA ω6/ω3	0,992	0,948	1,041	0,984	0,9405	1,029	0,0396	0,033	0,0335	0,0291
10,514	8,839	12,097	10,3495	8,979	11,6645	0,1131	0,1171	0,08	0,0857	
<i>Triacylglyceroly MK</i>										
% SFA	31,38	29,311	33,281	31,3135	29,3535	33,6305	0,3789	0,4012	0,2666	0,2874
% MUFA	46,624	44,773	48,317	46,5415	44,404	48,256	0,9971	0,9905	0,977	0,9732
% PUFA ω6	19,851	17,624	21,915	19,7665	17,313	21,7055	0,4955	0,535	0,3394	0,3768
% PUFA ω3	1,458	1,107	1,925	1,433	1,0815	1,8585	0,1855	0,1761	0,2101	0,1971
PUFA Σ/SFA ω6/ω3	0,68	0,574	0,803	0,681	0,555	0,7945	0,2195	0,2445	0,1868	0,2118
13,338	10,561	16,976	13,1585	10,849	17,3615	0,4713	0,435	0,5151	0,472	

*SFA: nasycené mastné kyseliny, MUFA: mononenasycené mastné kyseliny, PUFA: polynenasycené mastné kyseliny, MDN: medián, LCL: spodní limit 95% konfidenčního intervalu, UCL: horní limit 95% konfidenčního intervalu. Data byla zpracována pomocí Kruskalova-Wallisova testu při hladině významnosti $p < 0,05$, adjustované p -hodnoty byly vypočítány parametrickou ANOVA. Položky s * označují parametry adjustace.*

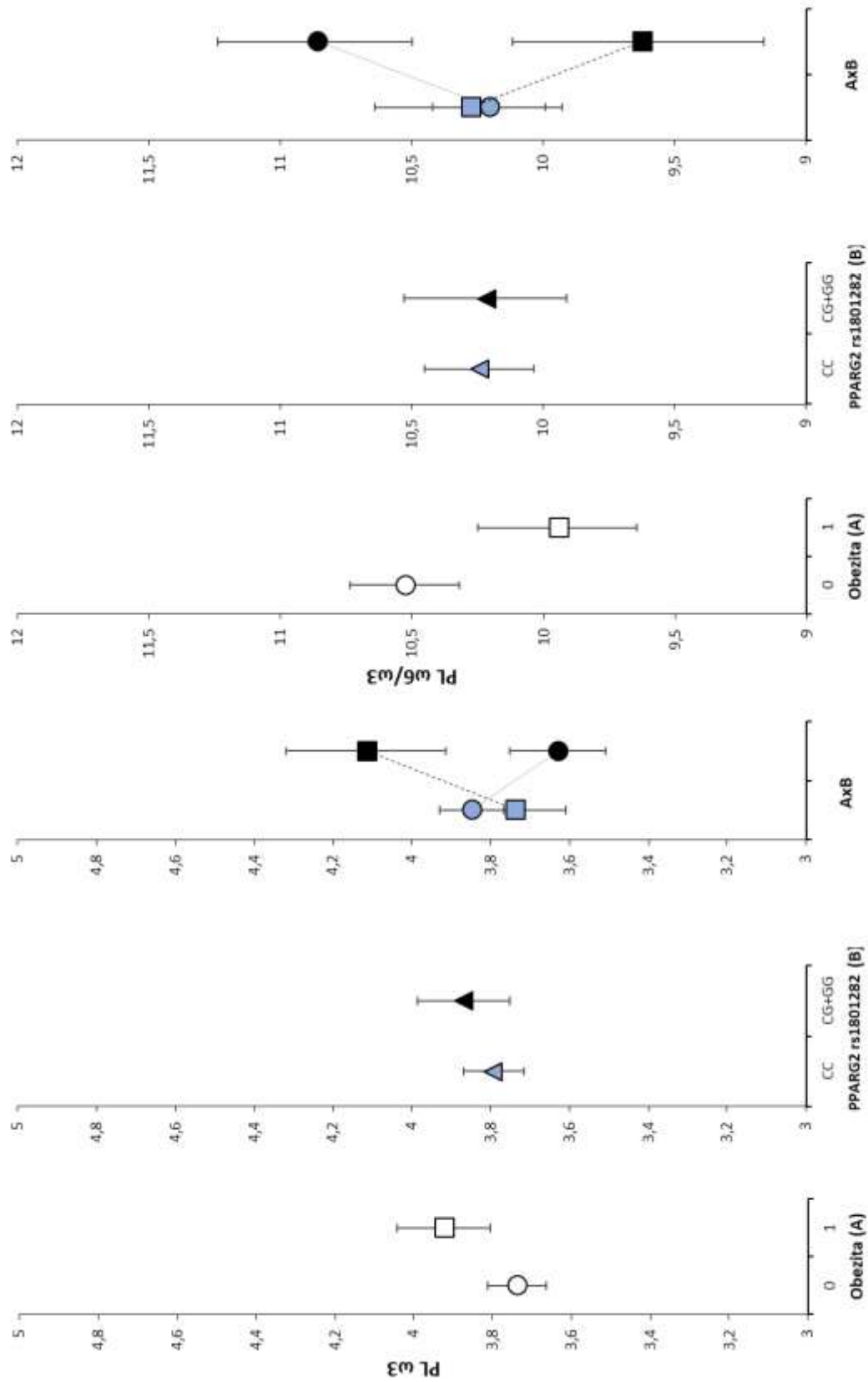
6.2. Dvoufaktorová ANOVA

Mocninná Box-Coxova transformace převedla data do normální distribuce. Z transformovaného souboru byly vyloučeny všechny odlehlé hodnoty, které nedovolovaly účinně převést data. Po provedení transformace byly vypočtené exponenty uplatněny na celý soubor i s odlehlými hodnotami.

Pomocí ANOVA byly hledány interakce mezi genotypem v polymorfismu *PPARG2* rs1801282 a jejich efektem na hladinu biochemické parametry a spektrum mastných kyselin. Soubor probandů byl rozdělen podle pohlaví. Výpočet byl adjustován vůči věku.

Zhodnocení:

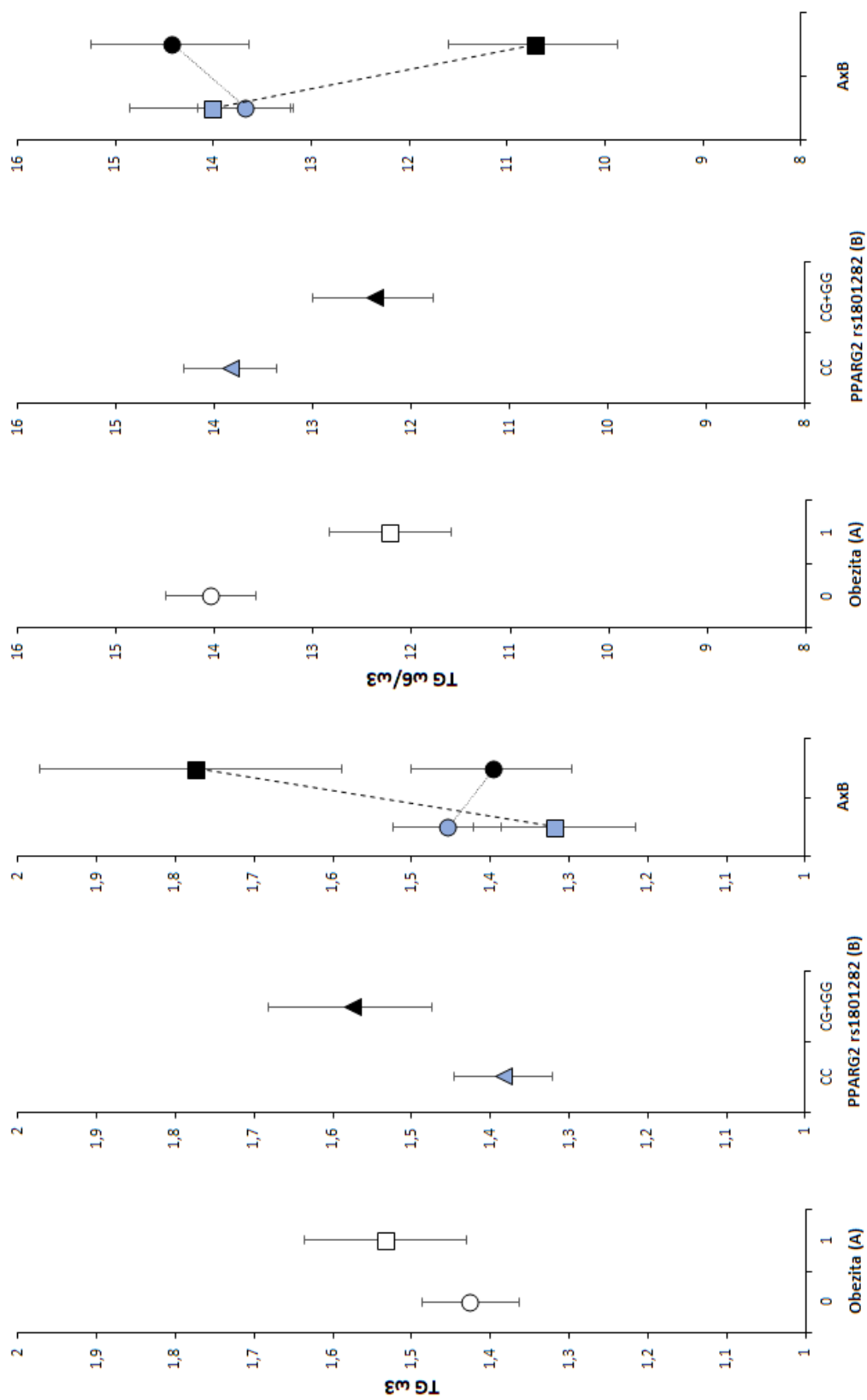
Statisticky významné efekty interakce mezi nadváhou a genotypem byly detekovány pouze u mužských probandů. Ve fosfolipidové i triacylglycerolové frakci byl vliv interakce signifikantní u koncentrace ω -3 polynenasycených mastných kyselin a poměru ω -6 vůči ω -3 polynenasyceným mastným kyselinám. Vyšší koncentrace ω -3 polynenasycených mastných kyselin je v obou případech u přenašečů *Ala* s nadváhou.



Obezita (A): F=4,7 p=0,03, PPARG2 rs1801282 (B): F=0 p=0,924, A×B: F=6 p=0,015, Vek: F=1,8 p=0,177

Obezita (A): F=3,4 p=0,065, PPARG2 rs1801282 (B): F=0,6 p=0,456, A×B: F=8,8 p=0,003, Vek: F=0,5 p=0,471

Obrázek 12 Interakce mezi nadváhou, genotypem a hladinou ω-3 polyenasycených mastných kyselin ve fosfolipidové frakci u mužských probandů. ○ – normostenie, □ – nadváha + obezita; modrá – majoritní homozygot, černá – přenašeč Ala



Obezita (A): F=10,3 p=0,001, PPARG2 rs1801282 (B): F=6,5 p=0,011, AxB: F=14,1 p<0,001, Věk: F=2,9 p=0,091

Obezita (A): F=1,6 p=0,212, PPARG2 rs1801282 (B): F=5 p=0,026, AxB: F=8,7 p=0,003, Věk: F=1,8 p=0,182

Obrázek 13 Interakce mezi nadváhou, genotypem a hladinou ω -3 polynenasycených mastných kyselin v triacylglycerolové frakci u mužských probandů. ○ – normostenie, □ – nadváha + obezita; modrá – majoritní homozygot, černá – přenašeč Ala

7. Diskuze

Obezita je v současnosti rozšířenou civilizační chorobou, která může vyústit v řadu závažných onemocnění drasticky snižujících kvalitu a délku života. Zvyšuje riziko rozvoje kardiovaskulárních a metabolických chorob, poruch pohybového aparátu, nádorových a v neposlední řadě psychiatrických onemocnění (Blüher, 2019).

Prevalence diabetu se 2. typu v posledních 40 letech narůstá současně s tím, jak se snižuje věk rozvoje onemocnění (Magliano *et al.*, 2019; Zheng, Ley & Hu, 2017). K tomuto fenoménu přispívají environmentální a genetické faktory (Zheng, Ley & Hu, 2017). Jedním z kandidátních genů, který je dáván do souvislosti s diabetem, je *PPARG*.

Polymorfismus v *PPARG2* rs1801282 je asociován s obezitou (Sözen *et al.*, 2018) a inzulinovou rezistencí, která vede k rozvoji onemocnění. Řada studií přitom ukazuje na rozporný efekt minoritní alely, jejíž účinek závisí na tělesné konstituci jedince. Výsledky na jedné straně poukazují na její ochranný efekt, na straně druhé se s alelou *Ala* pojí zvýšené riziko rozvoje obezity, metabolického syndromu a dalších přidružených onemocnění (Haluzík & Svačina, 2005).

Většina předchozích studií, u kterých byla potvrzena asociace mezi genotypem a obezitou, se zaměřovala na dospělé probandy (Rodrigues *et al.*, 2018, Blond *et al.*, 2019). Tato práce se oproti tomu zabývá efektem polymorfismu u adolescentů, u kterých byl dle našich výsledků zaznamenán jako výrazně slabší.

V diplomové práci se ukázal vliv nadváhy na měřené parametry (viz tabulky 10, 11, 12). Přestože průměrné hodnoty nepřekračují patologické hladiny, u probandů s nadváhou byly zvýšené všechny antropometrické parametry a krevní tlak. Dále se u probandů s nadváhou objevovala zvýšená inzulinová rezistence (HOMA R) a snížená hladina HDL. Tito probandi vykazovali zvýšenou restrikcí ve stravování oproti normostenickým jedincům; jejich energetický příjem byl uváděn jako signifikantně nižší. Nicméně, nelze vyloučit, že se jedná o změnu stravy, která je *následkem* zvýšené hmotnosti a nikoli její *příčinou*.

Výrazně slabší efekt jsme pozorovali u polymorfismu. V lipidovém spektru byly rozdíly zaznamenány pouze ve fosfolipidové frakci, kde nosiči *Ala* měli menší zastoupení nasycených mastných kyselin v séru (viz tabulka 15). Nepozorovali jsme však žádný významný rozdíl v BMI SDS.

Dvoufaktorová analýza rozptylu v této práci prokázala efekt minoritní alely pouze u mužských probandů v triacylglycerolové a fosfolipidové frakci (viz obrázek 12 a 13). U obézních jedinců s *Ala* alelou byl zvýšen poměr ω -3 polynenasycených mastných kyselin. Zatímco zastoupení triacylglycerolů vypovídá zejména o nutričním příjmu, fosfolipidy poukazují na zabudování ω -3 kyselin do membrán. To koreluje se zvýšenou inzulinovou senzitivitou jedinců (Riserus et al., 2009). U jedinců bez této alely byly rozdíly v sérových hodnotách menší.

Dánská studie provedená na 124 jedincích ve věku mezi 20-40 roky testovala změnu inzulinové senzitivity po 12 týdnech zvýšené fyzické aktivity. Cvičení mělo blahodárný efekt u obou variant genu. U přenašečů *Ala* bylo nicméně prokázáno až 1,3 x zlepšení inzulinové senzitivity oproti *Pro* homozygotům (Blond et al., 2019). V naší studii byly u nosičů alely *Ala* detekovány nižší hladiny c-peptidu a inzulinu, což naznačuje vyšší citlivost tkání na inzulin (viz tabulka 13). Podobné výsledky zaznamenaly studie ze Švédska (Montagnana et al., 2008) a Itálie (Buzetti et al., 2004) kde byla u přenašečů *Ala* vyšší inzulinová senzitivita. U italských probandů s *Ala* byly také zaznamenány nižší hladiny triacylglycerolů.

Na buněčné úrovni byl vliv polymorfismu testován na myších 3T3-L1 preadipocytech s importovaným lidským *PPARG* (Wan et al., 2019). Při koncentraci 50 μ mol/l kyseliny dokosahexaenové (DHA) v médiu *Ala* bránila akumulaci lipidových kapének v buňkách. Při vyšších koncentracích DHA *Ala* redukovala sekreci prozánětlivých cytokinů (TNF- α , resistin) a stimulovala sekreci cytokinů protizánětlivých (adiponektin). U našich probandů však nebyl zaznamenán rozdíl v hladině hsCRP, který by indikoval zánět. Třebaže nebylo možné vypočítat p-hodnotu procentuálního zastoupení tukové tkáně (viz tab.11), rozdíl mediánů mezi nosiči *Ala* a *Pro* homozygoty byl pouhých 0,4 %. Nelze tak tvrdit, že v našem souboru má alela *Ala* významný vliv na zastoupení tukové tkáně.

Nicméně, jak již bylo řečeno v předchozích částech, projev minoritní alely do značné míry závisí na BMI, stravě a interakci s dalšími geny. Mexická studie provedená na 69 lidech ve věku 18-50 let (průměr $26,4 \pm 4,9$) porovnávala hmotnost a poměr tukové tkáně mezi nosiči *Ala* a *Pro* homozygoty (Aguayo-Armendáriz et al., 2018). U normostenických nosičů *Ala* byl poměr tukové tkáně vyšší ve srovnání s *Pro* homozygoty při nižším energetickém příjmu.

Francouzská studie zjistila vyšší BMI u probandů s *Ala* alelou, pokud přijímali stravu s vyšším obsahem tuků než u *Pro* homozygotů (Lamri *et al.* 2012). Významnou úlohu zde hrála interakce s dalším polymorfismem v *PPARG2*.

Podobný výsledek ukazuje studie provedená na 150 obézních jedincích z centrální Brazílie, kde u nosičů *Ala* byly naměřeny vyšší hodnoty BMI, zastoupení tukové tkáně a krevního tlaku (Rodrigues *et al.*, 2018). Rizikovým faktorem pro vyšší BMI byla kombinace vyššího příjmu polynenasycených mastných kyselin, alely *Ala* a dalšího polymorfismu v genu pro interleukin-6.

Další jev byl pozorován ve studii z roku 2008, kde přítomnost *Ala* v kombinaci s vysokou hladinou mastných kyselin v séru vedla k zhoršené glukózové toleranci; u žen dále vedla vysokým hladinám triacylglycerolů a nízkým hladinám HDL-cholesterolu (Bendlová *et al.*, 2008). Patrně se nejedná o jev závislý na pohlaví – u argentinských mužů s *Ala* alelou byly také zvýšené markery metabolického syndromu (Tellechea *et al.*, 2009).

Dánská studie (Ek *et al.*, 1999) jako jedna z prvních popsala vývoj tělesné hmotnosti v čase v závislosti na výchozím BMI a genotypu. Na rozdíl od našich výsledků měla *Ala* negativní dopad u obézních jedinců, kde podstatně zrychlila rozvoj obezity. Také iránská studie z roku 2018 provedená na pacientech s diabetem 2. typu identifikovala *Ala* jako faktor vedoucí k zvýšení BMI (Koohdani, Sotoudeh, Kalantar & Mansoori, 2018). K tomuto efektu docházelo při menším poměru mononenasycených mastných kyselin vůči polynenasyceným ve stravě, podobně jako ve studii provedené na španělské populaci (Soriguer *et al.*, 2006). Pokud nosiči *Ala* konzumovali více polynenasycených mastných kyselin, byly u nich detekovány nižší hladiny triacylglycerolů v séru. V diplomové práci jsme žádný významný rozdíl v hladině triacylglycerolů (triacylglycerolů) mezi genotypy nezaznamenali.

V japonské studii (Takata *et al.*, 2004) u štíhlých mužů s *Ala* byly pozorovány nižší hladiny adiponektinu oproti *Pro* homozygotům. Oproti dánské populaci (Ek *et al.*, 1999) však nevykazovali žádné signifikantní rozdíly v BMI. Tento efekt lze vysvětlit nižší transkripční aktivitou minoritní varianty *PPAR γ 2* vedoucí k nižší expresi adiponektinu, podobně jako k tomu dochází u obézních *Pro* homozygotů.

Je otázkou, proč v našem případě byla interakce mezi BMI, genotypem a mastnými kyselinami nalezena pouze u chlapců a pouze ve frakcích fosfolipidů a triacylglycerolů, a

nikoli cholesteru. Procentuální zastoupení tuků ve stravě bylo mezi pohlavími přibližně stejné. Výrazné rozdíly však byly k nalezení v sérových hodnotách volných mastných kyselin (viz tab.7).

V rámci diplomové práce byl pozorován vztah mezi polymorfismem v *PPARG2* rs1801282 a glukózovým metabolismem u mladistvých. Zaznamenali jsme slabý vliv na metabolismus lipidů.

S přihlédnutím k výsledkům ostatních studií zkoumajících efekt polymorfismu *PPARG2* rs1801282 lze uvažovat o více faktorech, které ovlivní projev alely. Vzhledem k počtu cílových genů, které jsou s *PPAR γ 2* provázány ve zpětnovazebných smyčkách, nelze se spoléhat pouze na tento polymorfismus jako na klíčový faktor pro zábranu rozvoje onemocnění. Je však také velice pravděpodobné, že důvodem slabé korelace je nízký věk probandů, u nichž se díky rychlému metabolismu v růstovém období nestačily rozvinout měřitelné rozdíly v klinickém obrazu.

8. Závěr

V současnosti představuje obezita globální problém a komplikace s ní spojené snižují kvalitu a délku života. Diabetes mellitus 2. typu je typicky spojován s nadváhou a pokročilým věkem.

V posledních letech se incidence tohoto chronického onemocnění posouvá do čím dál nižšího věku. Víme, že obezita i diabetes 2. typu jsou zapříčiněny nejen nevhodnou životosprávou, ale také genetickým pozadím, které přispívá k rozvoji a závažnosti onemocnění.

Identifikace příčin rozvoje onemocnění je klíčová pro prevenci a léčbu. Polymorfismy v genu *PPARG* se projevují v lipidovém a glukózovém metabolismu a často vyústí ve vyšší zastoupení tukové tkáně.

Rs1801282 je epidemiologicky nejvýznamnější ze známých polymorfismů *PPARG2*. Cílem práce bylo zjistit jeho vliv na antropometrické, klinické a biochemické parametry u adolescentních populace. Zjistili jsme, že v tomto věku polymorfismus pozitivně ovlivňuje hladiny inzulínu a tkáně vykazují vyšší citlivost na inzulín. V rámci mastných kyselin, bez ohledu na pohlaví, jsou genotypem ovlivněny fosfolipidy nasycených mastných kyselin.

Seznam zkratek

ABCA1 – *ATP-binding cassette transporter*, ATP-vazebná kazeta

Ala – minoritní alela s alaninem

BMI – *body mass index*, index tělesné hmotnosti

COPAT – *Childhood Obesity Prevalence and Treatment*

D2M – diabetes mellitus 2. typu

DGLA – kyselina dihommo- γ -linolová

DHA – kyselina dokosahexaenová

EPA – kyselina eikosapentaenová

EHA – kyselina eikosaheptaenová

GLUT4 – glukózový receptor 4

HDL – vysokodenzitní lipoprotein

HWE – Hardyho-Weinbergova rovnováha

IDF – Mezinárodní federace pro diabetes

LDL – nízkodenzitní lipoprotein

LXR – jaterní receptor X

MUFA – mononenasyčená mastná kyselina

NCoR – *Nuclear Receptor Corepressor*, korepresor jaderných receptorů

oxLDL – oxidovaný nízkodenzitní lipoprotein

PEPCK – fosfoenolpyruvát karboxykináza

PFKB3 – 6-Fosfofrukto-2-kináza/fruktóza-2,6-bifosfatáza 3

PPAR – receptor peroxisomových proliferátorů

Pro – majoritní alela s prolinem

PUFA – polynenasycená mastná kyselina

RXR – retinoidní receptor X

SDS – skóre standardní odchylky

SMART – *Silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptor*, tlumící mediátor pro retinoidní a thyroïdní receptory

SFA – nasycená mastná kyselina

VLDL – vysoce nízkodenzitní lipoprotein

WHO – Světová zdravotnická organizace

Použitá literatura

Acosta, J., Douagi, I., Andersson, D., Bäckdahl, J., Rydén, M., Arner, P. and Laurencikiene, J. (2015). Increased fat cell size: a major phenotype of subcutaneous white adipose tissue in non-obese individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia*, 59(3), pp.560-570.

Aguayo-Armendáriz, J., Montalvo-Corral, M., González-Martínez, K., Grijalva-Haro, M., Ballesteros-Vásquez, M., Caire-Juvera, G. and Moya-Camarena, S. (2018). Central obesity and body fat, but not body mass index, are associated with the Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor γ gene in a population with a high consumption of saturated and trans-fatty acids. *Nutrition Research*, 57, pp.28-35.

Aizawa-Abe, M., Ogawa, Y., Masuzaki, H., Ebihara, K., Satoh, N., Iwai, H., Matsuoka, N., Hayashi, T., Hosoda, K., Inoue, G., Yoshimasa, Y. and Nakao, K. (2000). Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension. *Journal of Clinical Investigation*, 105(9), pp.1243-1252.

Allred, C. and Kilgore, M. (2005). Selective activation of PPAR γ in breast, colon, and lung cancer cell lines. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 235(1-2), pp.21-29.

Aprile, M., Ambrosio, M., D'Esposito, V., Beguinot, F., Formisano, P., Costa, V. and Ciccodicola, A. (2014). PPAR γ in Human Adipogenesis: Differential Contribution of Canonical Transcripts and Dominant Negative Isoforms. *PPAR Research*, 2014, pp.1-11.

Aprile, M., Cataldi, S., Ambrosio, M., D'Esposito, V., Lim, K., Dietrich, A., Blüher, M., Savage, D., Formisano, P., Ciccodicola, A. and Costa, V. (2018). PPAR $\gamma\Delta 5$, a Naturally Occurring Dominant-Negative Splice Isoform, Impairs PPAR γ Function and Adipocyte Differentiation. *Cell Reports*, 25(6), pp.1577-1592.e6.

Armoni, M., Kritz, N., Harel, C., Bar-Yoseph, F., Chen, H., Quon, M. and Karnieli, E. (2003). Peroxisome Proliferator-activated Receptor- γ Represses GLUT4 Promoter Activity in Primary Adipocytes, and Rosiglitazone Alleviates This Effect. *Journal of Biological Chemistry*, 278(33), pp.30614-30623.

Arslanian, S. (2002). Type 2 Diabetes in Children: Clinical Aspects and Risk Factors. *Hormone Research in Paediatrics*, 57(1), pp.19-28.

- Auwerx, J. (1999). PPAR γ , the ultimate thrifty gene. *Diabetologia*, 42(9), pp.1033-1049.
- Bendlová, B., Vejražková, D., Včelák, J., Lukášová, P., Burkonová, D., Kunešová, M., Vrbíková, J., Dvořáková, K., Vondra, K., Vaňková M. (2008). PPAR γ 2 Pro12Ala Polymorphism in Relation to Free Fatty Acids Concentration and Composition in Lean Healthy Czech Individuals With and Without Family History of Diabetes Type 2. *Physiological research*, 57, pp.77-90
- Berg, A., Combs, T., Du, X., Brownlee, M. and Scherer, P. (2001). The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nature Medicine*, 7(8), pp.947-953.
- Berg, A., Combs, T. and Scherer, P. (2002). ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 13(2), pp.84-89.
- Berger, J. and Moller, D. (2002). The Mechanisms of Action of PPARs. *Annual Review of Medicine*, 53(1), pp.409-435.
- Birkenmeier, E., Gwynn, B., Howard, S., Jerry, J., Gordon, J., Landschulz, W. and McKnight, S. (1989). Tissue-specific expression, developmental regulation, and genetic mapping of the gene encoding CCAAT/enhancer binding protein. *Genes & Development*, 3(8), pp.1146-1156.
- Blond, M., Schnurr, T., Rosenkilde, M., Quist, J., Gram, A., Reichkender, M., Auerbach, P., Nordby, P., Skovgaard, L., Ribel-Madsen, R., Justesen, J., Kilpeläinen, T., Ploug, T., Stallknecht, B. and Hansen, T. (2019). PPARG Pro12Ala Ala carriers exhibit greater improvements in peripheral insulin sensitivity in response to 12 weeks of aerobic exercise training. *Physiological Genomics*, 51(6), pp.254-260.
- Böhme, M., Nitz, I., Doring, F. and Klapper, M. (2008). Analysis of the transcriptional regulation of the FABP2 promoter haplotypes by PPAR γ /RXR α and Oct-1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1779(10), pp.616-621.
- Brannsether, B., Eide, G., Roelants, M., Bjercknes, R. and Júlíusson, P. (2016). BMI and BMI SDS in childhood: annual increments and conditional change. *Annals of Human Biology*, 44(1), pp.28-33.

- Brener, A., Bello, R., Lebenthal, Y., Yackobovitch-Gavan, M., Phillip, M. and Shalitin, S. (2017). The Impact of Adolescent Obesity on Adult Height. *Hormone Research in Paediatrics*, 88(3-4), pp.237-243.
- Brunmeir, R. and Xu, F. (2018). Functional Regulation of PPARs through Post-Translational Modifications. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), p.1738.
- Brynes, A., Edwards, C., Jadhav, A., Ghatei, M., Bloom, S. and Frost, G. (2000). Diet-induced change in fatty acid composition of plasma triacylglycerols is not associated with change in glucagon-like peptide 1 or insulin sensitivity in people with type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(5), pp.1111-1118.
- Buzzetti, R., Petrone, A., Ribaldo, M., Alemanno, I., Zavarella, S., Mein, C., Maiani, F., Tiberti, C., Baroni, M., Vecci, E., Arca, M., Leonetti, F. and Mario, U. (2004). The common PPAR- γ 2 Pro12Ala variant is associated with greater insulin sensitivity. *European Journal of Human Genetics*, 12(12), pp.1050-1054.
- Chandra, V., Huang, P., Hamuro, Y., Raghuram, S., Wang, Y., Burris, T. and Rastinejad, F. (2008). Structure of the intact PPAR- γ -RXR- α nuclear receptor complex on DNA. *Nature*, 456(7220), pp.350-356.
- Chen, Y., Jimenez, A. and Medh, J. (2006). Identification and regulation of novel PPAR- γ splice variants in human THP-1 macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*, 1759(1-2), pp.32-43.
- Chiang, S., Baumann, C., Kanzaki, M., Thurmond, D., Watson, R., Neudauer, C., Macara, I., Pessin, J. and Saltiel, A. (2001). Insulin-stimulated GLUT4 translocation requires the CAP-dependent activation of TC10. *Nature*, 410(6831), pp.944-948.
- Choromańska, B., Myśliwiec, P., Razak Hady, H., Dadan, J., Myśliwiec, H., Chabowski, A. and Mikłosz, A. (2019). Metabolic Syndrome is Associated with Ceramide Accumulation in Visceral Adipose Tissue of Women with Morbid Obesity. *Obesity*.
- Chui, P., Guan, H., Lehrke, M. and Lazar, M. (2005). PPAR γ regulates adipocyte cholesterol metabolism via oxidized LDL receptor 1. *Journal of Clinical Investigation*, 115(8), pp.2244-2256.

- Cortes de Oliveira, C., Nicoletti, C., Pinhel, M., de Oliveira, B., Quinhoneiro, D., Noronha, N., Fassini, P., Marchini, J., da Silva Júnior, W., Salgado Júnior, W. and Nonino, C. (2018). Influence of expression of UCP3, PLIN1 and PPARG2 on the oxidation of substrates after hypocaloric dietary intervention. *Clinical Nutrition*, 37(4), pp.1383-1388.
- De Leonibus, C., Marcovecchio, M. and Chiarelli, F. (2012). Update on statural growth and pubertal development in obese children. *Pediatric Reports*, 4(4), p.35.
- Deeb, S., Fajas, L., Nemoto, M., Pihlajamäki, J., Mykkänen, L., Kuusisto, J., Laakso, M., Fujimoto, W. and Auwerx, J. (1998). A Pro12Ala substitution in PPAR γ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nature Genetics*, 20(3), pp.284-287.
- Dreyer, C., Krey, G., Keller, H., Givel, F., Helftenbein, G. and Wahli, W. (1992). Control of the peroxisomal β -oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell*, 68(5), pp.879-887.
- Dubois, M., Pattou, F., Kerr-Conte, J., Gmyr, V., Vandewalle, B., Desreumaux, P., Auwerx, J., Schoonjans, K. and Lefebvre, J. (2000). Expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) in normal human pancreatic islet cells. *Diabetologia*, 43(9), pp.1165-1169.
- Ek, J., Urhammer, S., Sørensen, T., Andersen, T., Auwerx, J. and Pedersen, O. (1999). Homozygosity of the Pro12Ala variant of the peroxisome proliferation-activated receptor- γ 2 (PPAR- γ 2): divergent modulating effects on body mass index in obese and lean Caucasian men. *Diabetologia*, 42(7), pp.892-895.
- El-Jack, A., Hamm, J., Pilch, P. and Farmer, S. (1999). Reconstitution of Insulin-sensitive Glucose Transport in Fibroblasts Requires Expression of Both PPAR γ and C/EBP α . *Journal of Biological Chemistry*, 274(12), pp.7946-7951.
- Elie, A., Bloksgaard, M., Sun, W., Yang, K., Man, A., Xu, A., Irmukhamedov, A., Riber, L., Wang, Y. and De Mey, J. (2018). Local enrichment of fatty acid-binding protein 4 in the pericardial cavity of cardiovascular disease patients. *PLOS ONE*, 13(11), p.e0206802.

Fajas, L., Auboeuf, D., Raspé, E., Schoonjans, K., Lefebvre, A., Saladin, R., Najib, J., Laville, M., Fruchart, J., Deeb, S., Vidal-Puig, A., Flier, J., Briggs, M., Staels, B., Vidal, H. and Auwerx, J. (1997). The Organization, Promoter Analysis, and Expression of the Human PPAR γ Gene. *Journal of Biological Chemistry*, 272(30), pp.18779-18789.

Feige, J., Gelman, L., Michalik, L., Desvergne, B. and Wahli, W. (2006). From molecular action to physiological outputs: Peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Progress in Lipid Research*, 45(2), pp.120-159.

Fesinmeyer, M., Stanford, J., Brentnall, T., Mandelson, M., Farin, F., Srinouanprachanh, S., Afsharinejad, Z., Goodman, G., Barnett, M. and Austin, M. (2009). Association Between the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Pro12Ala Variant and Haplotype and Pancreatic Cancer in a High-Risk Cohort of Smokers. *Pancreas*, 38(6), pp.631-637.

Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley GH. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226, pp.497-509

Fruebis, J., Tsao, T., Javorschi, S., Ebbets-Reed, D., Erickson, M., Yen, F., Bihain, B. and Lodish, H. (2001). Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(4), pp.2005-2010.

Gouda, H., Sagoo, G., Harding, A., Yates, J., Sandhu, M. and Higgins, J. (2010). The Association Between the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 2 (PPARG2) Pro12Ala Gene Variant and Type 2 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta-Analysis. *American Journal of Epidemiology*, 171(6), pp.645-655.

Grundy, S. (1998). Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 67(3), pp.563S-572S.

Guerre-Millo, M., Guesnet, P., Guichard, C., Durand, G. and Lavau, M. (1994). Alteration in membrane lipid order and composition in metabolically hyperactive fatty rat adipocytes. *Lipids*, 29(3), pp.205-209.

Hajer, G., van Haeften, T. and Visseren, F. (2008). Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *European Heart Journal*, 29(24), pp.2959-2971.

- Hardy, G. (1908). Mendelian proportions in a mixed population. *Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre*, 1(1), pp.395-395.
- Heerwagen, M., Gumina, D., Hernandez, T., Van Pelt, R., Kramer, A., Janssen, R., Jensen, D., Powell, T., Friedman, J., Winn, V. and Barbour, L. (2018). Placental lipoprotein lipase activity is positively associated with newborn adiposity. *Placenta*, 64, pp.53-60.
- Heikkinen, S., Argmann, C., Feige, J., Koutnikova, H., Champy, M., Dali-Youcef, N., Schadt, E., Laakso, M. and Auwerx, J. (2009). The Pro12Ala PPAR γ 2 Variant Determines Metabolism at the Gene-Environment Interface. *Cell Metabolism*, 9(1), pp.88-98.
- Heming, M., Gran, S., Jauch, S., Fischer-Riepe, L., Russo, A., Klotz, L., Hermann, S., Schäfers, M., Roth, J. and Barczyk-Kahlert, K. (2018). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Modulates the Response of Macrophages to Lipopolysaccharide and Glucocorticoids. *Frontiers in Immunology*, 9.
- Heo, J., Choi, Y., Kim, H. and Kim, H. (2015). Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *International Journal of Molecular Medicine*, 37(1), pp.115-125.
- Hirromori, Y., Nishikawa, J., Yoshida, I., Nagase, H. and Nakanishi, T. (2009). Structure-dependent activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ by organotin compounds. *Chemico-Biological Interactions*, 180(2), pp.238-244.
- Hlavatý, P., Tvrzická, E., Staňková, B., Zamrazilová, H., Sedláčková, B., Dušátková, L., Hainer, V. and Kunešová, M. (2015). Association of Plasma Lipids Fatty Acid Composition With Metabolic Profile of Czech Adolescents. *Physiological Research*, pp.S167-S175.
- Hong, W., Park, J., Yun, W., Kang, P., Son, D., Jang, J., Kim, I. and You, S. (2018). Inhibitory effect of celastrol on adipogenic differentiation of human adipose-derived stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 507(1-4), pp.236-241.
- Hooper, L., Al-Khudairy, L., Abdelhamid, A., Rees, K., Brainard, J., Brown, T., Ajabnoor, S., O'Brien, A., Winstanley, L., Donaldson, D., Song, F. and Deane, K. (2018). Omega-6 fats for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.

- Huang, X., Charbeneau, R., Fu, Y., Kaur, K., Gerin, I., MacDougald, O. and Neubig, R. (2007). Resistance to Diet-Induced Obesity and Improved Insulin Sensitivity in Mice With a Regulator of G Protein Signaling Insensitive G184S Gnai2 Allele. *Diabetes*, 57(1), pp.77-85.
- Hughes, M., Liu, B., Halls, M., Wagstaff, K., Patil, R., Velkov, T., Jans, D., Bunnett, N., Scanlon, M. and Porter, C. (2015). Fatty Acid-binding Proteins 1 and 2 Differentially Modulate the Activation of Peroxisome Proliferator-activated Receptor α in a Ligand-selective Manner. *Journal of Biological Chemistry*, 290(22), pp.13895-13906.
- Ijuin, T. and Takenawa, T. (2012). Regulation of Insulin Signaling and Glucose Transporter 4 (GLUT4) Exocytosis by Phosphatidylinositol 3,4,5 – Trisphosphate (PIP3) Phosphatase, Skeletal Muscle, and Kidney Enriched Inositol Polyphosphate Phosphatase (SKIP). *Journal of Biological Chemistry*, 287(10), pp.6991-6999.
- Im, S., Kwon, S., Kim, T., Kim, H. and Ahn, Y. (2007). Regulation of glucose transporter type 4 isoform gene expression in muscle and adipocytes. *IUBMB Life*, 59(3), pp.134-145.
- Inoue, M., Ohtake, T., Motomura, W., Takahashi, N., Hosoki, Y., Miyoshi, S., Suzuki, Y., Saito, H., Kohgo, Y. and Okumura, T. (2005). Increased expression of PPAR γ in high fat diet-induced liver steatosis in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 336(1), pp.215-222.
- Jin, P. and Cong, S. (2019). LOX-1 and atherosclerotic-related diseases. *Clinica Chimica Acta*, 491, pp.24-29.
- Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., Tobe, K. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 116(7), pp.1784-1792.
- Khan, S. and Kowluru, A. (2018). CD36 mediates lipid accumulation in pancreatic beta cells under the duress of glucolipotoxic conditions: Novel roles of lysine deacetylases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(3), pp.2221-2226.

- Kolehmainen, M., Uusitupa, M., Alhava, E., Laakso, M. and Vidal, H. (2003). Effect of the Pro12Ala Polymorphism in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) γ 2 Gene on the Expression of PPAR γ Target Genes in Adipose Tissue of Massively Obese Subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(4), pp.1717-1722.
- Koohdani, F., Sotoudeh, G., Kalantar, Z. and Mansoori, A. (2018). PPAR γ Pro12Ala Polymorphism Influences the Relationship between Dietary Fat Intake, Adiposity and Lipid Profile in Patients with Type 2 Diabetes. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 88(5-6), pp.263-269.
- Koutnikova, H. and Auwerx, J. (2001). Regulation of adipocyte differentiation. *Annals of Medicine*, 33(8), pp.556-561.
- Krušinová, E. and Pelikánová, T. (2008). Fatty acid binding proteins in adipose tissue: A promising link between metabolic syndrome and atherosclerosis?. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 82, pp.127-134.
- Kubota, N., Yano, W., Kubota, T., Yamauchi, T., Itoh, S., Kumagai, H., Kozono, H., Takamoto, I., Okamoto, S., Shiuchi, T., Suzuki, R., Satoh, H., Tsuchida, A., Moroi, M., Sugi, K., Noda, T., Ebinuma, H., Ueta, Y., Kondo, T., Araki, E., Ezaki, O., Nagai, R., Tobe, K., Terauchi, Y., Ueki, K., Minokoshi, Y. and Kadowaki, T. (2007). Adiponectin Stimulates AMP-Activated Protein Kinase in the Hypothalamus and Increases Food Intake. *Cell Metabolism*, 6(1), pp.55-68.
- Lamri, A., Khalil, C. A., Jaziri, R., Velho, G., Lantieri, O., Vol, S., . . . Fumeron, F. (2012). Dietary fat intake and polymorphisms at the PPARG locus modulate BMI and type 2 diabetes risk in the D.E.S.I.R. prospective study. *International Journal of Obesity*, 36(2), pp.218-224.
- Lee, Y., Park, J., Lee, M. and Hardwick, J. (2018). Hepatic lipid homeostasis by peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2. *Liver Research*, 2(4), pp.209-215.
- Lehmann, J., Moore, L., Smith-Oliver, T., Wilkison, W., Willson, T. and Kliewer, S. (1995). An Antidiabetic Thiazolidinedione Is a High Affinity Ligand for Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ (PPAR γ). *Journal of Biological Chemistry*, 270(22), pp.12953-12956.

- Liao, W., Nguyen, M., Yoshizaki, T., Favelyukis, S., Patsouris, D., Imamura, T., Verma, I. and Olefsky, J. (2007). Suppression of PPAR- γ attenuates insulin-stimulated glucose uptake by affecting both GLUT1 and GLUT4 in 3T3-L1 adipocytes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293(1), pp.E219-E227.
- Linhart, H., Ishimura-Oka, K., DeMayo, F., Kibe, T., Repka, D., Poindexter, B., Bick, R. and Darlington, G. (2001). C/EBP α is required for differentiation of white, but not brown, adipose tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(22), pp.12532-12537.
- Loviscach, M., Rehman, N., Carter, L., Mudaliar, S., Mohadeen, P., Ciaraldi, T., Veerkamp, J. and Henry, R. (2000). Distribution of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in human skeletal muscle and adipose tissue: relation to insulin action. *Diabetologia*, 43(3), pp.304-311.
- Luo, H., Zhou, Y., Hu, X., Peng, X., Wei, H., Peng, J. and Jiang, S. (2015). Activation of PPAR γ 2 by PPAR γ 1 through a functional PPRE in transdifferentiation of myoblasts to adipocytes induced by EPA. *Cell Cycle*, 14(12), pp.1830-1841.
- Maciejewska-Skrendo, A., Pawlik, A., Sawczuk, M., Rać, M., Kusak, A., Safranow, K. and Dziedziejko, V. (2019). PPARA, PPARD and PPARG gene polymorphisms in patients with unstable angina. *Gene*, 711, p.143947.
- Maeda, N., Takahashi, M., Funahashi, T., Kihara, S., Nishizawa, H., Kishida, K., Nagaretani, H., Matsuda, M., Komuro, R., Ouchi, N., Kuriyama, H., Hotta, K., Nakamura, T., Shimomura, I. and Matsuzawa, Y. (2001). PPAR Ligands Increase Expression and Plasma Concentrations of Adiponectin, an Adipose-Derived Protein. *Diabetes*, 50(9), pp.2094-2099.
- Magliano, D., Islam, R., Barr, E., Grgg, E., Pavkov, M., Harding, J., Tabesh, M., Koye, D. and Shaw, J. (2019). Trends in incidence of total or type 2 diabetes: systematic review. *BMJ*, pp. 15003.
- Marklund, M., Pingel, R., Rosqvist, F., Lindroos, A., Eriksson, J., Vessby, B., Oscarsson, J., Lind, L. and Risérus, U. (2017). Fatty Acid Proportions in Plasma Cholesterol Esters and Phospholipids Are Positively Correlated in Various Swedish Populations. *The Journal of Nutrition*, 11(147), pp.2118–2125.

- Miller, S., De Vos, P., Guerre-Millo, M., Wong, K., Hermann, T., Staels, B., Briggs, M. and Auwerx, J. (1996). The adipocyte specific transcription factor C/EBP α modulates human ob gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(11), pp.5507-5511.
- Min, X., Lemon, B., Tang, J., Liu, Q., Zhang, R., Walker, N., Li, Y. and Wang, Z. (2012). Crystal structure of a single-chain trimer of human adiponectin globular domain. *FEBS Letters*, 586(6), pp.912-917.
- Nakachi, Y., Yagi, K., Nikaido, I., Bono, H., Tonouchi, M., Schönbach, C. and Okazaki, Y. (2008). Identification of novel PPAR γ target genes by integrated analysis of ChIP-on-chip and microarray expression data during adipocyte differentiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 372(2), pp.362-366.
- Nakamura, M., Yudell, B. and Loor, J. (2014). Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research*, 53, pp.124-144.
- Nasri, K., Hantoushzadeh, S., Aghadavod, E., Taghizadeh, M. and Asemi, Z. (2017). The Effects of Omega-3 Fatty Acids Supplementation on Gene Expression Involved in the Insulin and Lipid Signaling Pathway in Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *Hormone and Metabolic Research*, 49(06), pp.446-451.
- Nielsen, T., Fonvig, C., Dahl, M., Mollerup, P., Lausten-Thomsen, U., Pedersen, O., Hansen, T. and Holm, J. (2018). Childhood obesity treatment; Effects on BMI SDS, body composition, and fasting plasma lipid concentrations. *PLOS ONE*, 13(2), p.e0190576.
- Noushmehr, H., D'Amico, E., Farilla, L., Hui, H., Wawrowsky, K., Mlynarski, W., Doria, A., Abumrad, N. and Perfetti, R. (2005). Fatty Acid Translocase (FAT/CD36) Is Localized on Insulin-Containing Granules in Human Pancreatic – Cells and Mediates Fatty Acid Effects on Insulin Secretion. *Diabetes*, 54(2), pp.472-481.
- Ogata, M., Tsujita, M., Hossain, M., Akita, N., Gonzalez, F., Staels, B., Suzuki, S., Fukutomi, T., Kimura, G. and Yokoyama, S. (2009). On the mechanism for PPAR agonists to enhance ABCA1 gene expression. *Atherosclerosis*, 205(2), pp.413-419.
- Ohashi, K., Shibata, R., Murohara, T. and Ouchi, N. (2014). Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 25(7), pp.348-355.

- Park, Y. (2014). CD36, a scavenger receptor implicated in atherosclerosis. *Experimental & Molecular Medicine*, 46(6), pp.e99-e99.
- Pepino, M., Kuda, O., Samovski, D. and Abumrad, N. (2014). Structure-Function of CD36 and Importance of Fatty Acid Signal Transduction in Fat Metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 34(1), pp.281-303.
- Pavithra, N., Bannikoppa, P., Uthappa, S., Kurpad, A. and Mani, I. (2017). Plasma Fatty Acid Composition and Estimated Desaturase Activities Reflect Dietary Patterns in Subjects with Metabolic Syndrome. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 33(3), pp.290-296.
- Pioltine, M., de Melo, M., Santos, A., Machado, A., Fernandes, A., Fujiwara, C., Cercato, C. and Mancini, M. (2016). Genetic Variation in CD36 Is Associated with Decreased Fat and Sugar Intake in Obese Children and Adolescents. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 9(5-6), pp.300-305.
- Reinehr, T. (2013). Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World Journal of Diabetes*, 4(6), p.270.
- Riserus, U., Willett, W. and Hu, F. (2009). Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Progress in Lipid Research*, 48(1), pp.44-51.
- Rodrigues, A., Rosa, L., Silva, H., Silveira-Lacerda, E. and Silveira, E. (2018). The Single Nucleotide Polymorphism PPAR γ 2 Pro12Ala Affects Body Mass Index, Fat Mass, and Blood Pressure in Severely Obese Patients. *Journal of Obesity*, 2018, pp.1-9.
- Rosen, E. (2005). The transcriptional basis of adipocyte development. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 73(1), pp.31-34.
- Roy, J., Jain, N., Singh, G., Das, B. and Mallick, B. (2019). Small RNA proteome as disease biomarker: An incognito treasure of clinical utility. *AGO-Driven Non-Coding RNAs*, pp.101-136.
- Sabatino, L., Casamassimi, A., Peluso, G., Barone, M., Capaccio, D., Migliore, C., Bonelli, P., Pedicini, A., Febbraro, A., Ciccodicola, A. and Colantuoni, V. (2005). A Novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ Isoform with Dominant Negative Activity Generated by Alternative Splicing. *Journal of Biological Chemistry*, 280(28), pp.26517-26525.

- Samad, F., Badeanlou, L., Shah, C. and Yang, G. (2011). Adipose Tissue and Ceramide Biosynthesis in the Pathogenesis of Obesity. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 721, pp.67-86.
- Samovski, D., Sun, J., Pietka, T., Gross, R., Eckel, R., Su, X., Stahl, P. and Abumrad, N. (2014). Regulation of AMPK Activation by CD36 Links Fatty Acid Uptake to β -Oxidation. *Diabetes*, 64(2), pp.353-359.
- Satoh, S., Onomura, D., Ueda, Y., Dansako, H., Honda, M., Kaneko, S. and Kato, N. (2019). Ribavirin-induced down-regulation of CCAAT/enhancer-binding protein α leads to suppression of lipogenesis. *Biochemical Journal*, 476(1), pp.137-149.
- Sawamura, T., Kume, N., Aoyama, T., Moriwaki, H., Hoshikawa, H., Aiba, Y., Tanaka, T., Miwa, S., Katsura, Y., Kita, T. and Masaki, T. (1997). An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Nature*, 386(6620), pp.73-77.
- Schaiff, W., Bildirici, I., Cheong, M., Chern, P., Nelson, D. and Sadovsky, Y. (2005). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ and Retinoid X Receptor Signaling Regulate Fatty Acid Uptake by Primary Human Placental Trophoblasts. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(7), pp.4267-4275.
- Scherer, P., Williams, S., Fogliano, M., Baldini, G. and Lodish, H. (1995). A Novel Serum Protein Similar to C1q, Produced Exclusively in Adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), pp.26746-26749.
- Seiri, P., Abi, A. and Soukhtanloo, M. (2019). PPAR- γ : Its ligand and its regulation by microRNAs. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(7), pp.10893-10908.
- Seo, J., Moon, H., Noh, M., Lee, Y., Jeong, H., Yoo, E., Kim, W., Park, J., Youn, B., Kim, J., Park, S. and Kim, J. (2004). Adipocyte Determination – and Differentiation-dependent Factor 1/Sterol Regulatory Element-binding Protein 1c Regulates Mouse Adiponectin Expression. *Journal of Biological Chemistry*, 279(21), pp.22108-22117.
- Soriguer, F., Morcillo, S., Cardona, F., Rojo-Martínez, G., de la Cruz Almaráz, M., de la Soledad Ruiz de Adana, M., Olveira, G., Tinahones, F. and Esteva, I. (2006). Pro12Ala Polymorphism of the PPARG2 Gene Is Associated with Type 2 Diabetes Mellitus and Peripheral Insulin Sensitivity in a Population with a High Intake of Oleic Acid. *The Journal of Nutrition*, 136(9), pp.2325-2330.

- Sözen, M. (2018). Association of the Human PPAR γ 2 PRO12ALA Polymorphism with Obesity in a Population from Turkey. *Acta Endocrinologica (Bucharest)*, 14(4), pp.459-465.
- Stumvoll, M. and Haring, H. (2002). The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-2 Pro12Ala Polymorphism. *Diabetes*, 51(8), pp.2341-2347.
- Stunkard, A. and Messick, S. (1985). The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. *Journal of Psychosomatic Research*, 29(1), pp.71-83.
- Swoboda, P., Erhayiem, B., Kan, R., McDiarmid, A., Garg, P., Musa, T., Dobson, L., Witte, K., Kearney, M., Barth, J., Ajjan, R., Greenwood, J. and Plein, S. (2018). Cardiovascular magnetic resonance measures of aortic stiffness in asymptomatic patients with type 2 diabetes: association with glycaemic control and clinical outcomes. *Cardiovascular Diabetology*, 17(1).
- Taha, A., Cheon, Y., Faurot, K., MacIntosh, B., Majchrzak-Hong, S., Mann, J., Hibbeln, J., Ringel, A. and Ramsden, C. (2014). Dietary omega-6 fatty acid lowering increases bioavailability of omega-3 polyunsaturated fatty acids in human plasma lipid pools. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 90(5), pp.151-157.
- Takanabe-Mori, R., Ono, K., Sowa, N., Wada, H., Takaya, T., Horie, T., Satoh-Asahara, N., Shimatsu, A., Fujita, M., Sawamura, T. and Hasegawa, K. (2010). Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 is required for the adipose tissue expression of proinflammatory cytokines in high-fat diet-induced obese mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 398(3), pp.576-580.
- Takata, N., Awata, T., Inukai, K., Watanabe, M., Ohkubo, T., Kurihara, S., Inaba, M. and Katayama, S. (2004). Pro12Ala substitution in peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 is associated with low adiponectin concentrations in young Japanese men. *Metabolism*, 53(12), pp.1548-1551.
- Tellechea, M. L., Aranguren, F., Pérez, M. S., Cerrone, G. E., Frechtel, G. D., & Taverna, M. J. (2009). Pro12Ala Polymorphism of the Peroxisome Proliferator Activated Receptor- γ Gene is Associated With Metabolic Syndrome and Surrogate Measures of Insulin Resistance in Healthy Men. *Circulation Journal*, 73(11), 2118-2124

- Thompson, J., Winter, N., Terwey, D., Bratt, J. and Banaszak, L. (1997). The Crystal Structure of the Liver Fatty Acid-binding Protein. *Journal of Biological Chemistry*, 272(11), pp.7140-7150.
- Tontonoz, P., Hu, E., Graves, R., Budavari, A. and Spiegelman, B. (1994). mPPAR gamma 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes & Development*, 8(10), pp.1224-1234.
- Tseng, P., Hou, J., Wu, D. and Hsu, B. (2019). High serum adipocyte fatty acid binding protein concentration linked with increased aortic arterial stiffness in patients with type 2 diabetes. *Clinica Chimica Acta*, 495, pp.35-39.
- Tsuchida, A., Yamauchi, T., Takekawa, S., Hada, Y., Ito, Y., Maki, T. and Kadowaki, T. (2005). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) Activation Increases Adiponectin Receptors and Reduces Obesity-Related Inflammation in Adipose Tissue: Comparison of Activation of PPAR α , PPAR γ , and Their Combination. *Diabetes*, 54(12), pp.3358-3370.
- Tyagi, S., Sharma, S., Gupta, P., Saini, A. and Kaushal, C. (2011). The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2(4), p.236.
- Varga, T., Czimmerer, Z. and Nagy, L. (2011). PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1812(8), pp.1007-1022.
- Wan, R., Ding, Z., Xia, S., Zheng, L. and Lu, J. (2019). Effects Of PPAR γ 2 Pro12Ala Variant On Adipocyte Phenotype Dependent Of DHA. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 12, pp.2273-2279.
- Wang, W., Shao, Y., Tang, S., Cheng, X., Lian, H., & Qin, C. (2015). Peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) Pro12Ala polymorphism and colorectal cancer (CRC) risk. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(3), pp.4066–4072.
- Wang, G., Chen, Q., Minuk, G., Gong, Y. and Burczynski, F. (2004). Enhanced expression of cytosolic fatty acid binding protein and fatty acid uptake during liver regeneration in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 262(1/2), pp.41-49.

- Wang, N., Finegold, M., Bradley, A., Ou, C., Abdelsayed, S., Wilde, M., Taylor, L., Wilson, D. and Darlington, G. (1995). Impaired energy homeostasis in C/EBP alpha knockout mice. *Science*, 269(5227), pp.1108-1112.
- Wang, W., Shao, Y., Tang, S., Cheng, X., Lian, H., and Qin, C. (2015). Peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) Pro12Ala polymorphism and colorectal cancer (CRC) risk. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(3), pp. 4066–4072.
- Westerbacka, J., Kolak, M., Kiviluoto, T., Arkkila, P., Siren, J., Hamsten, A., Fisher, R. and Yki-Jarvinen, H. (2007). Genes Involved in Fatty Acid Partitioning and Binding, Lipolysis, Monocyte/Macrophage Recruitment, and Inflammation Are Overexpressed in the Human Fatty Liver of Insulin-Resistant Subjects. *Diabetes*, 56(11), pp.2759-2765.
- Wu, Z., Lou, Y., Jin, W., Liu, Y., Lu, L. and Lu, G. (2012). The Pro12Ala Polymorphism in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma-2 Gene (PPAR γ 2) Is Associated with Increased Risk of Coronary Artery Disease: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 7(12), p.e53105.
- Wu, Z., Rosen, E., Brun, R., Hauser, S., Adelman, G., Troy, A., McKeon, C., Darlington, G. and Spiegelman, B. (1999). Cross-Regulation of C/EBP α and PPAR γ Controls the Transcriptional Pathway of Adipogenesis and Insulin Sensitivity. *Molecular Cell*, 3(2), pp.151-158.
- Xi, Y., Shen, W., Ma, L., Zhao, M., Zheng, J., Bu, S., Hino, S. and Nakao, M. (2016). HMGA2 promotes adipogenesis by activating C/EBP β -mediated expression of PPAR γ . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 472(4), pp.617-623.
- Xiao, Y., Xiao, X., Xu, A., Chen, X., Tang, W. and Zhou, Z. (2018). Circulating adipocyte fatty acid-binding protein levels predict the development of subclinical atherosclerosis in type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications*, 32(12), pp.1100-1104.
- Xu, H., Lambert, M., Montana, V., Parks, D., Blanchard, S., Brown, P., Sternbach, D., Lehmann, J., Wisely, G., Willson, T., Kliewer, S. and Milburn, M. (1999). Molecular Recognition of Fatty Acids by Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *Molecular Cell*, 3(3), pp.397-403.

Xu, J., Kawai, Y. and Arinze, I. (2013). Dual role of C/EBP α as an activator and repressor of Gai2 gene transcription. *Genes to Cells*, 18(12), pp.1082-1094.

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, B. and Kadowaki, T. (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine*, 8(11), pp.1288-1295.

Yamazaki, T., Shiraishi, S., Kishimoto, K., Miura, S. and Ezaki, O. (2011). An increase in liver PPAR γ 2 is an initial event to induce fatty liver in response to a diet high in butter: PPAR γ 2 knockdown improves fatty liver induced by high-saturated fat. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(6), pp.543-553.

Yan, H., Cheng, L., Jia, R., Yao, H., Wu, H., Shen, Y., Zhang, Y., Hao, P. and Zhang, Z. (2019). ATP-binding cassette sub-family a member1 gene mutation improves lipid metabolic abnormalities in diabetes mellitus. *Lipids in Health and Disease*, 18(1).

Yan, M., Mehta, J. and Hu, C. (2011). LOX-1 and Obesity. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 25(5), pp.469-476.

Yen, C., Beamer, B., Negri, C., Silver, K., Brown, K., Yarnall, D., Burns, D., Roth, J. and Shuldiner, A. (1997). Molecular Scanning of the Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ (hPPAR γ) Gene in Diabetic Caucasians: Identification of a Pro12Ala PPAR γ 2 Missense Mutation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 241(2), pp.270-274.

Yu, C., Chen, L., Luo, H., Chen, J., Cheng, F., Gui, C., Zhang, R., Shen, J., Chen, K., Jiang, H. and Shen, X. (2004). Binding analyses between Human PPAR γ -LBD and ligands. Surface plasmon resonance biosensor assay correlating with circular dichroic spectroscopy determination and molecular docking. *European Journal of Biochemistry*, 271(2), pp.386-397.

Yu, V., Delsert, C., Andersen, B., Holloway, J., Devary, O., Näär, A., Kim, S., Boutin, J., Glass, C. and Rosenfeld, M. (1991). RXR β : A coregulator that enhances binding of retinoic acid, thyroid hormone, and vitamin D receptors to their cognate response elements. *Cell*, 67(6), pp.1251-1266.

Zarebska, A., Jastrzebski, Z., Cieszczyk, P., Leonska-Duniec, A., Kotarska, K., Kaczmarczyk, M., Sawczuk, M. and Maciejewska-Karlowska, A. (2014). The Pro12Ala Polymorphism of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Gene Modifies the Association of Physical Activity and Body Mass Changes in Polish Women. *PPAR Research*, 2014, pp.1-7.

Zhao, Z., Xu, Y., Li, S., Guo, J., Yi, T. and Chen, L. (2018). Higher serum lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in patients with stable coronary artery disease is associated with major adverse cardiovascular events: A multicentre pilot study. *Biochimica medica*, 29(1), pp.84-93.

Zhao, J., Zhi, Z., Song, G., Wang, J., Wang, C., Ma, H., Yu, X., Sui, A. and Zhang, H. (2015). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma Pro12Ala Polymorphism Could be a Risk Factor for Gastric Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(6), pp.2333-2340.

Zhou, J., Wilson, K. and Medh, J. (2002). Genetic analysis of four novel peroxisome proliferator activated receptor- γ splice variants in monkey macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 293(1), pp.274-283.

Zheng, Y., Ley, S. and Hu, F. (2017). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2), pp.88-98.

Internetové zdroje:

Gnomad.broadinstitute.org. 2019. *Gnomad*. [online] Available at: https://gnomad.broadinstitute.org/variant/3-12393125-C-G?dataset=gnomad_r2_1 [Accessed 7 April 2019].

Guidetopharmacology.org. (2019). *Nuclear Hormone Receptor List | IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY*. [online] Available at: <https://www.guidetopharmacology.org/GRAC/NHRListForward> [Accessed 11 Jul. 2019].

Idf.org. (2020). *International Diabetes Federation – Home*. [online] Available at: <https://www.idf.org/> [Accessed 10 Apr. 2019].

Ncbi.nlm.nih.gov. (2020). *LPL lipoprotein lipase [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI*. [online] Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4023#gene-expression> [Accessed 29 Feb. 2020].

Ncbi.nlm.nih.gov. (2020). *OLR1 oxidized low density lipoprotein receptor 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI*. [online] Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=4973#gene-expression> [Accessed 29 Feb. 2020].

Oege.org. (2019). *HWE calculator including analysis for ascertainment bias*. [online] Available at: <http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.html> [Accessed 6 Apr. 2019].

Proteinatlas.org. (2019). *Tissue expression of CEBPA – Summary - The Human Protein Atlas*. [online] Available at: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000245848-CEBPA/tissue> [Accessed 12 Dec. 2019].

Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. 2020. *Pubchem*. [online] Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> [Accessed 6 June 2020].

Who.int. 2020. *Obesity And Overweight*. [online] Available at: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [Accessed 15 May 2020].