

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra antropologie a genetiky člověka

RNDr. Hana Zamrazilová

Dizertační práce

Změny tělesného složení obézních dětí během redukčního procesu. Studium vybraných kandidátních genů pro obezitu a jejich asociací s antropometrickými a biochemickými parametry.

Dizertační práce byla vypracována na Katedře antropologie a genetiky člověka PŘF UK v Praze a na Oddělení molekulární endokrinologie Endokrinologického ústavu v Praze.
Podpořena byla grantovým projektem IGA MZ ČR NB6597-3/2001.

Školitel: Doc. RNDr. Pavel Bláha, CSc.

Praha 2009

Prohlašuji, že jsem dizertační práci vypracovala samostatně. Veškerou literaturu a ostatní prameny, z nichž jsem při přípravě čerpala, řádně cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

Prohlašuji, že jsem dizertační práci ani její podstatnou část nepředložila k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne

RNDr. Hana Zamrazilová

Poděkování

Poděkování patří všem, kteří přispěli ke vzniku této dizertační práce a pomáhali s dalšími odbornými aktivitami.

Děkuji svému školiteli doc. RNDr. Pavlu Bláhovi, CSc. za odborné vedení a cenné rady zejména v oblasti fyzické antropologie, které mi poskytoval v průběhu celého doktorandského studia.

Upřímně děkuji doc. MUDr. Vojtěchu Hainerovi, CSc. za podporu v mé snaze porozumět dané problematice a za cenné rady a konzultace v oblasti obezitologie.

Nemohu opomenout Oddělení molekulární endokrinologie Endokrinologického ústavu v Praze, jmenovitě RNDr. Bělu Bendlovou Csc., RNDr. Markétu Vaňkovou, Ph.D. a RNDr. Petru Lukášovou, Ph.D. S jejich pomocí a díky opravdu přátelskému a vstřícnému přístupu celého kolektivu Oddělení molekulární endokrinologie jsem mohla vypracovat molekulárně-genetickou část dizertační práce.

Dizertační práce mohla vzniknout jen díky ochotě a spolupráci lékařů a zdravotních sestřiček Léčebny dr. L. Filipa v Poděbradech. I jim všem tedy náleží velký dík.

1	Úvod	6
1.1	Obezita	8
1.1.1	Hodnocení obezity	8
1.1.2	Epidemiologie dětské obezity	10
1.1.3	Etiopatogeneze obezity	14
1.1.4	Energetická bilance organismu	15
1.1.5	Tuková tkáň – endokrinní orgán	16
1.1.6	Leptin, leptinové receptory, leptinomelanokortinová osa	17
1.1.7	Insulin-like growth faktor I.....	19
1.1.8	Úloha PPAR-alfa	20
1.1.9	Metabolické změny u obezity	22
1.2	Genetické faktory obezity	24
1.2.1	Polygenní dědičnost u obezity	25
1.2.2	Polymorfismus Pro1019Pro v genu pro <i>LEPR</i> ; rs1805096	27
1.2.3	Polymorfismus Gln223Arg v genu pro <i>LEPR</i> ; rs1137101	29
1.2.4	Polymorfismus Ser343Ser v genu pro <i>LEPR</i> ; rs3790419.....	30
1.2.5	Polymorfismus Leu162Val v genu pro <i>PPARalfa</i> ; rs1800206.....	30
2	Cíle dizertační práce	32
3	Sledovaný soubor a metodika	33
3.1	Antropometrické vyšetření	33
3.2	Biochemické a hormonální analýzy.....	35
3.3	Molekulárně-genetické metody	37
3.3.1	Detekce polymorfismu Pro1019Pro v genu pro <i>LEPR</i> ; rs1805096.....	38
3.3.2	Detekce polymorfismu Gln223Arg v genu pro <i>LEPR</i> ; rs1137101.....	39
3.3.3	Detekce polymorfismu Ser343Ser v genu pro <i>LEPR</i> ; rs3790419	40
3.3.4	Detekce polymorfismu Leu162Val v genu pro <i>PPARalfa</i> ; rs1800206.....	41
3.4	Statistické analýzy	42
4	Výsledky.....	43
4.1	Ad cíl 1: Vyhodnocení hmotnostních změn a změn v tělesném složení během redukčního programu	43
4.2	Ad cíl 2: Vyhodnocení porovnání množství tělesného tuku stanoveného antropometrickými metodami a metodou DEXA	51
4.3	Ad cíl 3: Vyhodnocení sledovaných biochemických a hormonálních parametrů	53
4.4	Ad cíl 4: Vyhodnocení hladin IGF-I a IGFBP-3 u obézních dětí a u kontrolního souboru.....	67
4.5	Ad cíl 5: Vyhodnocení sledovaných polymorfismů genů pro <i>LEPR</i> a <i>PPARalfa</i>	74

5	Diskuse	76
5.1	Antropometrické, biochemické a hormonální charakteristiky u dětí s obezitou a nadváhou	76
5.2	IGF-I a IGFBP-3 u obézních dětí ve srovnání se souborem normostenických dětí.	81
5.3	Stanovení množství tělesného tuku metodami dle Matiegky a Pařízkové, srovnání s metodou DEXA	82
5.4	Sledované polymorfismy genů pro <i>LEPR</i> a <i>PPARα</i>	83
6	Závěr	85
7	Seznam použité literatury	86
8	Seznam zkratk	102
9	Přílohy	104

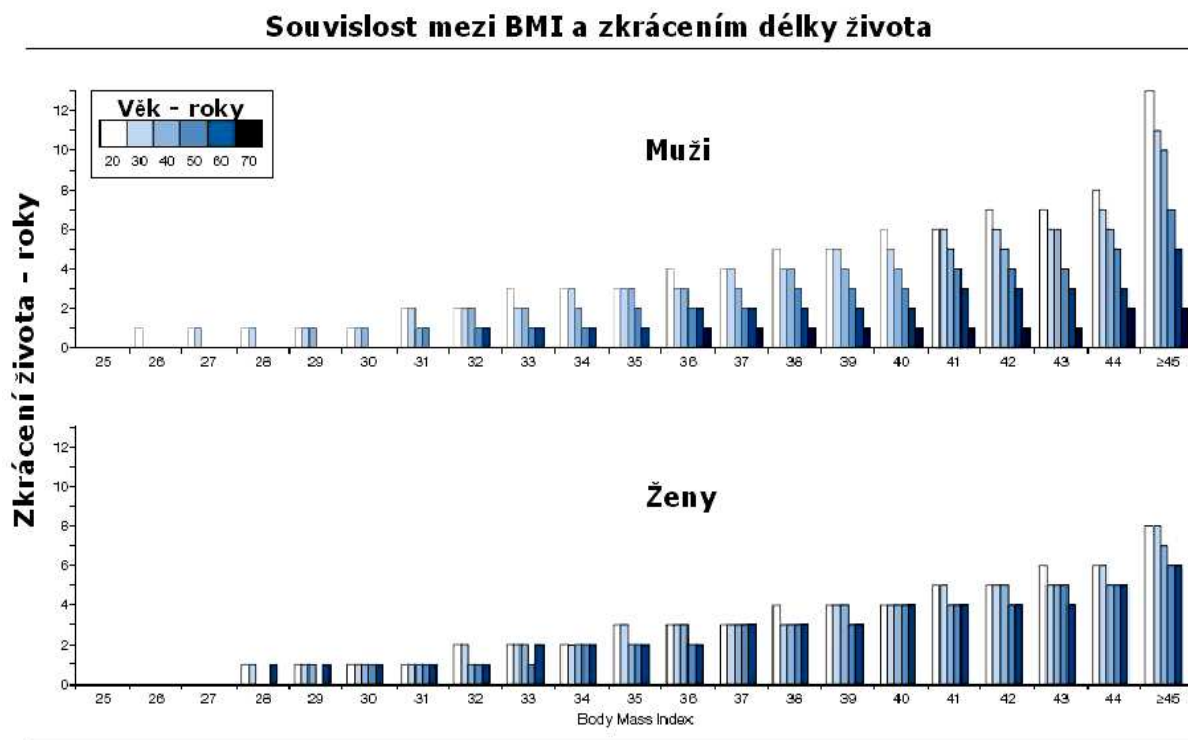
1 Úvod

O hrozbě v podobě celosvětově stoupající prevalence obezity je slyšet stále častěji. Společnost, nejen odborná, si uvědomuje, že se nejedná o problém několika jedinců. Prevalence obezity dosáhla už takových rozměrů, že je běžně nazývána pandemií. Zejména z hlediska zdravotních rizik a komplikací s obezitou spojených se jako velmi závažný jeví fakt, že tento stoupající trend je markantní i v dětské populaci. Mnohé studie prokazují jasné souvislosti mezi časnou obezitou, rychlým váhovým přírůstkem nebo tzv. časnějším nástupem „adiposity rebound“ v dětství a mezi obezitou přetrvávající do dospělosti, množstvím viscerálního tuku, kardiovaskulárními riziky, diabetem 2. typu, hypertenzí a hyperlipidemií (Demerath et al. 2009; Virdis et al. 2009; Ball and McCargar 2003; Ho 2009, Mamun et al. 2009).

Naopak řada prací prokázala vztah mezi nízkou mortalitou a ideální tělesnou hmotností (Freedman et al. 2006; Solomon and Manson 1997; Manson et al. 1995). Všechny studie se shodují v tom, že se z tohoto hlediska jeví jako ideální BMI (body mass index) mezi 20–25 kg/m². S vyšším BMI stoupá mortalita i morbidita. Existují jasné důkazy o tom, že snížení tělesné hmotnosti významně zmenšuje rizika spojená s obezitou. Pokles hmotnosti o 5–10 % způsobuje klinicky významné snížení metabolických rizikových faktorů (Seidell and Visscher 2000).

Snižování nadváhy u dospělých jedinců je často provázeno neúspěchy, které jsou podmíněny nejen genetickými faktory, ale i zvyklostmi a psychikou obézních. Preventivní opatření je nutno zavádět již v dětství. Čím dříve obezita vznikla, tím vyšší mortalita ji provází. Průměrná délka života je u obézních lidí kratší a její zkrácení je přímo úměrné stupni obezity (Obr. 1). Je tedy naprosto zřejmé, že s léčbou, která by optimálně vedla ke zlepšení stavu nebo alespoň zabránila dalšímu zhoršení, je nutné začít co nejdříve. Spoléhat se na to, že dítě ze své „buclatosti“ vyroste, rozhodně není na místě.

Obrázek 1: Souvislost mezi hodnotou BMI a zkrácením délky života u mužů a žen



(upraveno dle Fontaine et al. 2003)

Cílem práce nebylo vytvořit novou příručku či skripta o obezitě. Pro získání komplexních informací o obezitě jsou dostupné poměrně aktuální publikace zaměřené na dětskou i dospělou populaci (Hainer 2004; Pařízková 2007; Johnson 2005; Eckel 2003). I z tohoto důvodu se omezím na poměrně krátký teoretický úvod. Předkládaná práce si kladla za cíl sledovat změny tělesného složení obézních dětí během lázeňského redukčního procesu ve vztahu ke změnám biochemického spektra a k některým polymorfismům vybraných kandidátních genů pro obezitu. Uvědomuji si, že problematika obezity, jako tzv. multifaktoriálního onemocnění, je velice široká. Přesto věřím, že poznatky předkládané práce mohou přispět k dalšímu poznání tohoto značně rozšířeného a komplikovaného onemocnění.

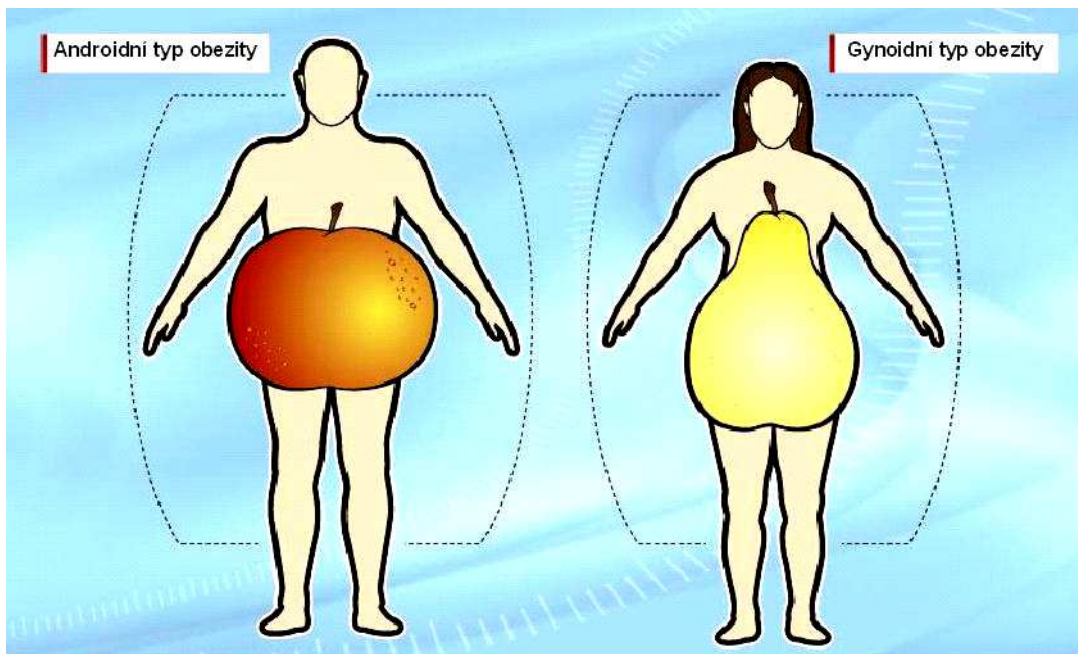
1.1 Obezita

1.1.1 Hodnocení obezity

Rozložení tukové tkáně v těle není u všech jedinců stejné. Závažnost metabolických a kardiovaskulárních rizik nesouvisí pouze s množstvím tuku, ale velmi významně i s jeho rozmístěním v těle. Jako velmi nepříznivé z hlediska zdravotních komplikací se ukázalo zmožnění útrobního neboli viscerálního tuku, který je uložen kolem nitrobřišních orgánů. Míra kardiometabolických komplikací je přímo úměrná obvodu pasu, což prokázaly studie provedené jak na dětské (Sung et al. 2007; Kim and Park 2008), tak na dospělé populaci (Ghandehari et al. 2008; Christian et al. 2009; Janssen 2009; Després et al. 2008; Phillips and Prins 2008).

U androidního typu obezity (nazývaného též typ jablko, viscerální, mužský, horní nebo hyperplastický typ) je patrné zmožnění tuku v oblastech hrudníku a břicha, zejména pak uvnitř břicha. Druhý typ obezity, tzv. gynoidní (též typ hruška, ženský, dolní, hypertrofický) charakterizuje zmožnění tuku hlavně na hýždích a stehnech (Obr. 2). Androidní typ obezity je častěji provázen metabolickým syndromem, inzulinorezistencí a diabetem 2. typu. U gynoidního typu nebývají kardiometabolické komplikace tak časté, spíše se projevuje postižení pohybového aparátu a kloubů.

Obrázek 2: Rozložení tukové tkáně – androidní a gynoidní typ obezity



(upraveno dle www.cardiometabolic-risk.org)

K posouzení typu a závažnosti stupně obezity jsou využívány různé indexy. Aby mohly být používány v široké praxi a celosvětovém měřítku, musejí splňovat zejména podmínku rychlého získání proměnných veličin a podmínku snadného výpočtu. Stále je hojně využíván poměr obvodu pasu ku obvodu boků (waist to hip ratio, WHR). Obecně je za kritérium androidní obezity považována hodnota WHR u mužů 1,0 a vyšší, u žen 0,85 a vyšší. V poslední době se od užívání indexu WHR stále více upouští, protože jako klinicky významnější a k rychlému posouzení obezity plně postačující se ukázala pouze hodnota obvodu pasu (měřeno v polovině vzdálenosti mezi dolním okrajem posledního žebra a *crista iliaca anterior superior*). Obvod pasu je jednoduchý antropometrický ukazatel, který velice dobře koreluje s množstvím intraabdominální tukové tkáně, měřeným pomocí CT (počítačová tomografie) či MR (magnetická resonance), ale i subkutánní abdominální tkáně (Schlett 2009). Hodnoty obvodu pasu vyšší než 94 cm u mužů, resp. než 80 cm u žen, jsou spojeny se zvýšeným rizikem kardiometabolických komplikací, hodnoty vyšší než 102, resp. 88 cm potom s rizikem velmi vysokým. Pro českou dospělou i dětskou populaci publikoval percentilové grafy pro hodnoty obvodu pasu Hajniš a kol. (2000). Možné je také využívat poměr obvodu pasu k tělesné výšce, kdy se jako nebezpečné z hlediska zdravotních rizik jeví hodnoty indexu vyšší než 0,6 (Ashwell 1996).

V současné době je odbornou i laickou veřejností nepoužívanější BMI, který vyjadřuje podíl tělesné hmotnosti v kilogramech a druhé mocniny tělesné výšky v metrech. BMI se v průběhu života v závislosti na změnách proporcionality postavy vyvíjí. V prvním roce života prudce stoupá s vrcholem kolem devátého měsíce a potom se pozvolna snižuje s minimem kolem šesti let; poté dochází k opětovnému vzestupu. Běžně používané a známé normy BMI určené pro dospělou populaci (tzn. normální BMI 18,5–24,9 kg/m²; nadváha 25–29,9 kg/m²; obezita > 30 kg/m²), proto nelze vůbec používat u dětské populace.

V případě dětské populace je nutné používání percentilových grafů pro BMI, popř. tabulku stupňů obezity dle BMI pro dětskou populaci (Tab. 1). Česká republika má nespornou výhodu v letité tradici celostátních antropologických výzkumů (CAV), které poskytují národní referenční data a umožňují sestavení a aktualizaci percentilových grafů dětské populace nejen pro BMI, ale i pro další antropometrické parametry. Poslední CAV proběhl v roce 2001, nicméně vzhledem ke vzrůstající prevalenci obezity jsou i v aktuálních hmotnostně výškových grafech opět použita data z devadesátých let, aby nedocházelo ke změkčování norem. Pro hranici nadváhy je používána hodnota

90. percentilu, pro hranici obezity hodnota 97. percentilu. Jedinci s hodnotami BMI v rozmezí 75.–90. percentilu mají zvýšenou tělesnou hmotnost, hodnoty pod 25. percentilem znamenají sníženou hmotnost, hodnoty pod 3. percentilem značí velmi nízkou, alarmující tělesnou hmotnost (Vignerová a Bláha, 2001).

Tabulka 1: Hraniční hodnoty BMI indexu vymezující 3 stupně obezity české dětské a adolescentní populace

Věková kategorie (roky)	CHLAPCI: BMI (kg/m ²)			DÍVKY: BMI (kg/m ²)		
	1. stupeň	2. stupeň	3. stupeň	1. stupeň	2. stupeň	3. stupeň
	mírná obezita	střední obezita	těžká obezita	mírná obezita	střední obezita	těžká obezita
6,00–6,99	19,6–24,8	24,9–28,8	Nad 28,8	19,7–24,8	24,9–28,6	nad 28,6
7,00–7,99	20,2–25,0	25,1–29,2	Nad 29,2	20,6–24,6	24,7–28,8	nad 28,8
8,00–8,99	21,1–25,3	25,4–30,4	Nad 30,4	21,5–24,4	24,5–28,8	nad 28,8
9,00–9,99	22,2–25,7	25,8–30,5	Nad 30,5	22,4–25,2	25,3–29,4	nad 29,4
10,00–10,99	23,3–26,2	26,3–30,9	Nad 30,9	23,1–25,7	25,8–30,0	nad 30,0
11,00–11,99	24,3–27,0	27,1–32,0	Nad 32,0	24,2–26,3	26,4–31,4	nad 31,4
12,00–12,99	24,8–27,8	27,9–33,3	Nad 33,3	25,3–27,6	27,7–32,8	nad 32,8
13,00–13,99	25,1–28,6	28,7–33,5	Nad 33,5	25,6–28,9	29,0–34,6	nad 34,6
14,00–14,99	25,5–29,3	29,4–34,7	Nad 34,7	25,5–29,5	29,6–35,0	nad 35,0
15,00–15,99	26,2–31,0	31,1–39,6	Nad 39,6	25,8–29,7	29,8–36,3	nad 36,3
16,00–16,99	26,9–32,5	32,6–38,3	Nad 38,3	27,2–30,2	30,3–37,3	nad 37,3
17,00–18,99	27,6–33,5	33,6–40,4	Nad 40,4	27,3–31,4	31,5–38,1	nad 38,1

(převzato z Bláha a Vignerová 2002)

1.1.2 Epidemiologie dětské obezity

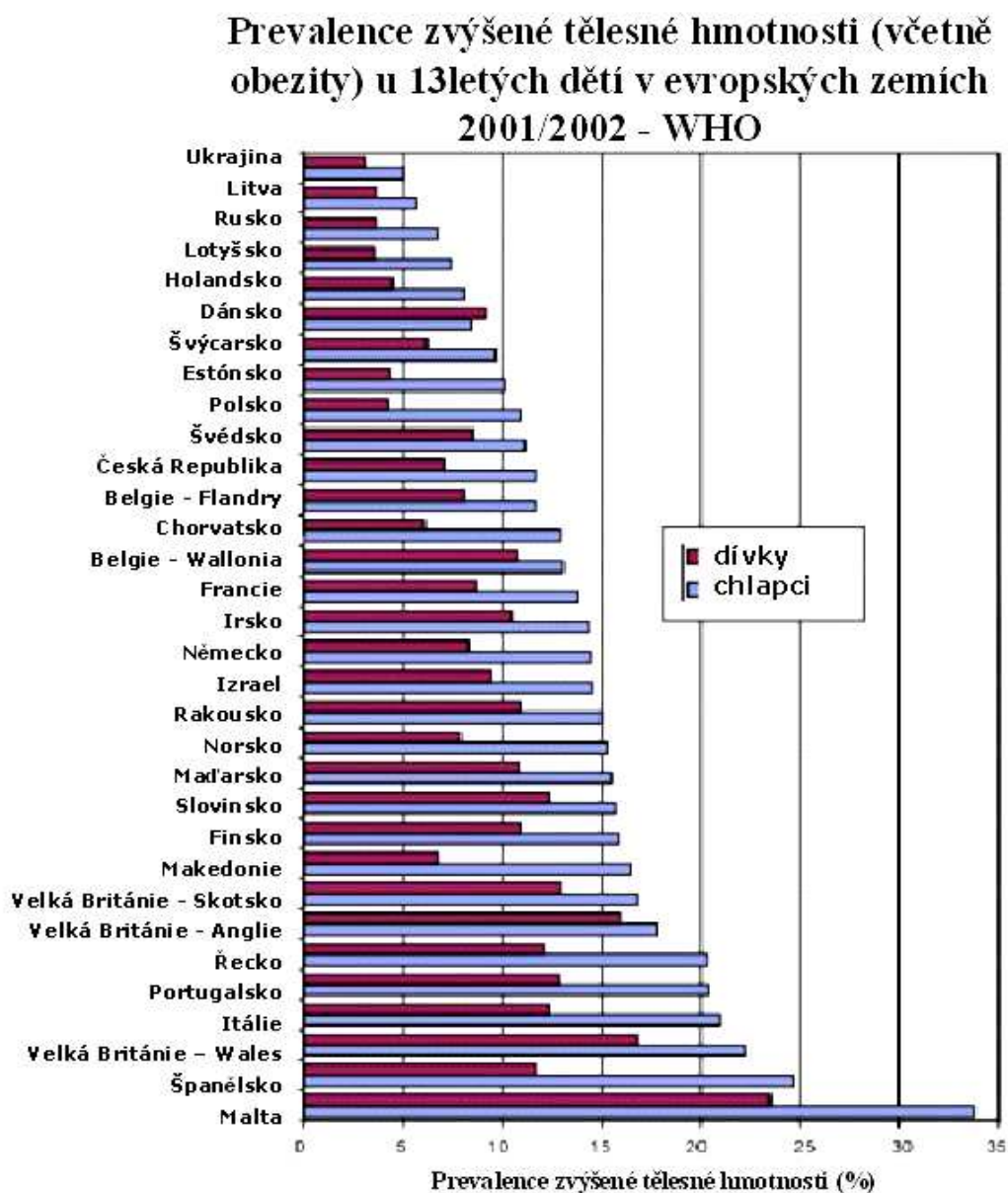
Obezita dnes představuje celosvětový problém, kterým se zabývá řada mezinárodních specializovaných organizací, např. IOTF (International Obesity Task Force), IASO (International Association for the Study of Obesity), EASO (European Association for the Study of Obesity) či ECOG (European Childhood Obesity Group). Obezita během posledních dvaceti let nabyla rozměrů globální epidemie (Moreno et al. 2000; Bundred et al. 2001; Rolland-Cachera et al. 2002; Frye and Heinrich 2003; www.euro.who.int). Výskyt nadváhy rapidně vzrostl, mezi školními dětmi v Evropě od první poloviny 70. let do roku 2005 z méně než 10 % na 25 % (Leach and Lobstein 2004).

V období 1991–1999 vzrostl výskyt nadváhy u dětí v ČR z 10 % na 12,5 % (Bláha a Vignerová 2002). Přitom výzkumy poukazují na to, že velká část obézních dětí zůstane obézními i v dospělosti. Pravděpodobnost se úměrně zvyšuje se stupněm obezity (Herman et al. 2008; Togashi et al. 2002). Na tyto souvislosti upozorňuje i Charney a kol. (1986) – z těch dětí, jež byly obézní v 6 měsících věku, jich 14 % zůstane obézních i v dospělosti, zatímco ze stejně starých dětí normostenických jich v dospělosti bude obézních pouze 8 %. Podle Rolland-Cachera a kol. (1987) si z dětí obézních v prvním roce věku obezitu udrží do dospělosti 41 %, ale ze stejně starých dětí normostenických bude v dospělosti obézních pouze 20 %.

Podle IASO trpí ve Španělsku, na Maltě a ve Velké Británii téměř 30 % chlapců ve věku 14–17 let nadváhou, z toho asi 10 % je obézních. U dívek je situace poněkud lepší, stále se ale jedná o značně vysoká čísla (www.who.int). V Portugalsku má celkem 31,5 % dětí zvýšenou tělesnou hmotnost, z toho je 11,3 % obézních (Pades 2004). Ve srovnání s ostatními sledovanými státy si Česká republika podle IASO zatím nevede špatně, chlapci trpí nadváhou a obezitou asi ve 12 % a dívky v 8 % případů. Nicméně poslední CAV z roku 2001 uvádí nadváhu, resp. obezitu u 8,5 % chlapců a 7,2 % dívek, resp. u 5,6 % chlapců a 4,2 % dívek (Bláha a Vignerová 2002). Prevalenci obezity u 13 a 15letých dětí různých evropských regionů popisují obrázky č. 3 a 4.

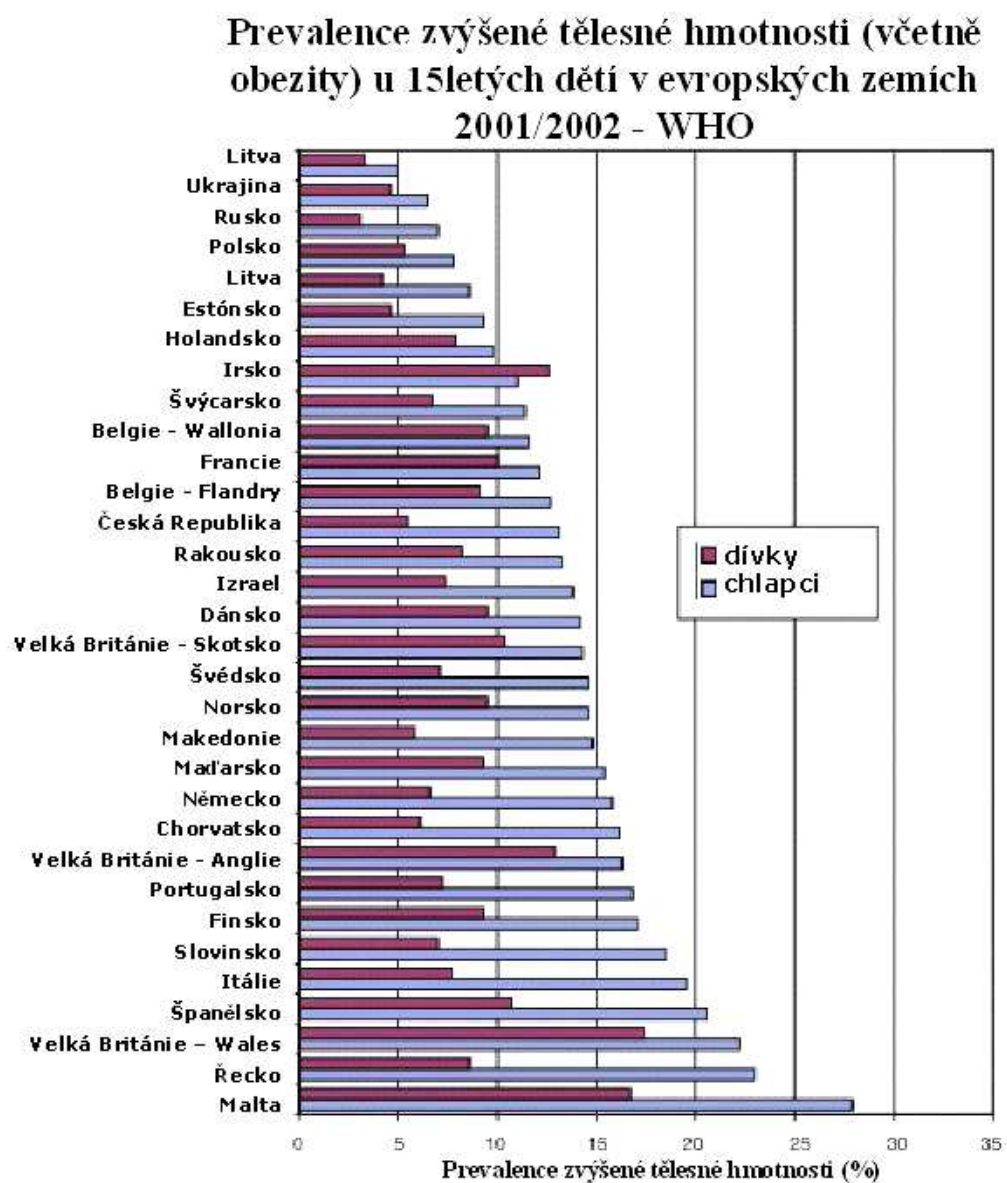
Podle studie NHANES (National Health and Examination Surveys) bylo v roce 2004 17,1 % amerických dětí a adolescentů obézních nebo mělo nadváhu a 16,5 % bylo nadváhou ohroženo. Konkrétně u 14 % dětí ve věku 2–5 let a u 19 % dětí ve věku 6–11 let byla diagnostikována nadváha (Ogden et al. 2006). Rovněž došlo k enormnímu zvýšení hodnot obvodu pasu (o 65 % u chlapců, resp. o 69 % u dívek) při srovnání údajů z let 1988–1994 a 1999–2004 (Li et al 2006).

Obrázek 3: Prevalence zvýšení tělesné hmotnosti (nadváhy a obezity) u 13letých dětí různých evropských regionů.



(převzato a upraveno <http://www.euro.who.int/Document/e82923.pdf>)

Obrázek 4: Prevalence zvýšení tělesné hmotnosti (nadváhy a obezity) u 15letých dětí různých evropských regionů.

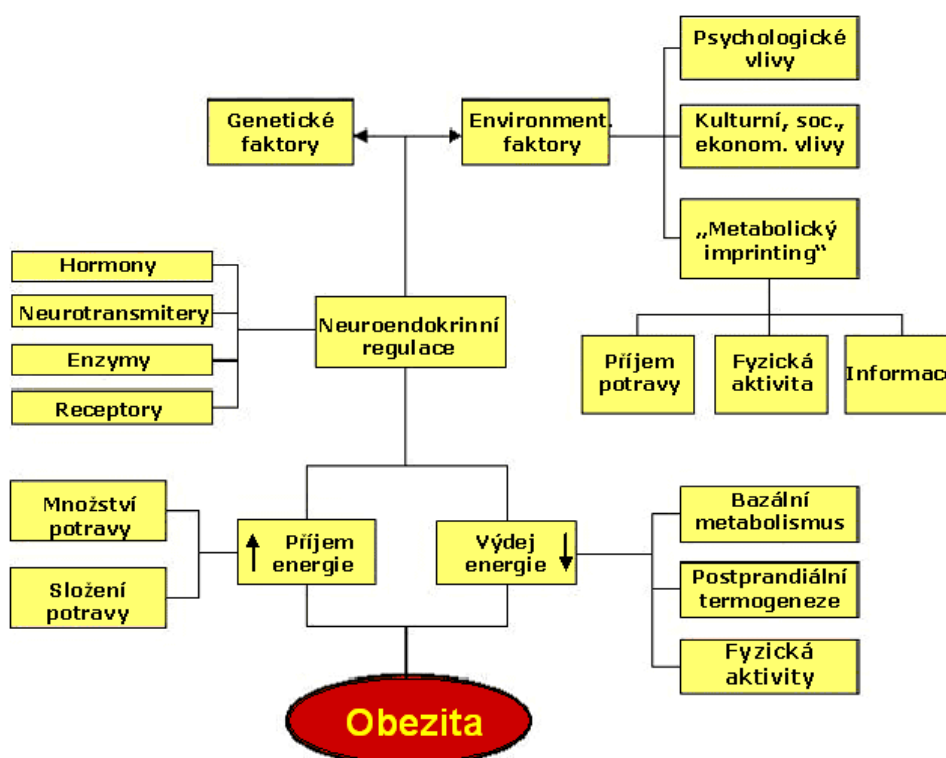


(převzato a upraveno <http://www.euro.who.int/Document/e82923.pdf>)

1.1.3 Etiopatogeneze obezity

Obezita vzniká jako následek porušené energetické homeostázy, kdy energetický příjem převýší energetický výdej. Nicméně mnohé vědecké práce prokázaly, že je mylné přičítat vznik obezity pouze určité jídelní neukázněnosti, nadbytečnému energetickému příjmu a lenosti postižených. Na obezitu je třeba pohlížet jako na jedno z tzv. multifaktoriálních onemocnění, na jehož vzniku se podílí řada faktorů, které jsou často navíc ve vzájemné interakci (Obr. 5). Faktory, které ovlivňují energetickou rovnováhu a tělesnou hmotnost, lze rozdělit do dvou základních skupin, endogenní (genetické) a exogenní (vlivy prostředí). Zjednodušeně řečeno, do regulace tělesné hmotnosti jsou zapojeny systémy genetické, metabolické i endokrinní. Nedojde-li k poruše těchto systémů, udržuje si člověk poměrně stálou tělesnou hmotnost bez velkých výkyvů, což potvrdila Framinghamská studie z roku 1988. Podle ní se v průběhu 20 let změnila tělesná hmotnost zhruba v rozmezí pouhých 10 % (Higgins 1993).

Obrázek 5: Exogenní a endogenní faktory zapojené do regulace energetické homeostázy.



(převzato a upraveno dle Balaban and Silva 2004)

1.1.4 Energetická bilance organismu

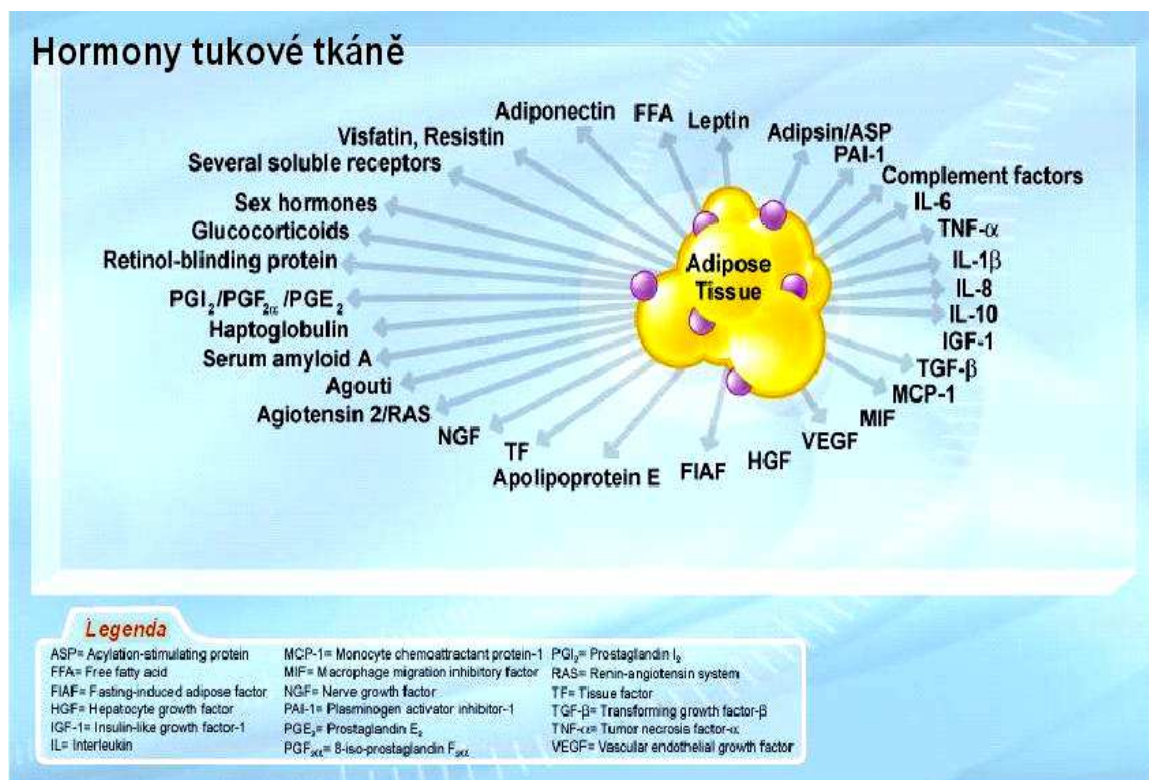
Hlavní příčinou tzv. prosté obezity je nesporně nesprávná energetická bilance, tedy nepoměr mezi energetickým příjmem a energetickým výdejem. Pozitivní bilance – tj. stav, kdy energetický příjem převyší energetický výdej – se projeví jako obezita. V opačném případě dochází k úbytku tělesné hmotnosti. U zdravých jedinců krátkodobá pozitivní energetická bilance nevede, jak by se dalo předpokládat, k okamžitému nárůstu hmotnosti. Důvodem je řada adaptačních mechanismů. Např. v případě nadbytečného energetického příjmu může buňka využít schopnosti „uncoupling proteinů“, které umožňují exotermický pohyb protonů přes vnitřní mitochondriální membránu bez syntézy ATP, tj. energie se uvolní ve formě tepla. Termogeneze je též ovlivněna procesem lipolýzy. U někoho ovšem takové krátkodobě působící mechanismy selhávají a tyto osoby pak mají zvýšenou náchylnost k obezitě. Dlouhodobá pozitivní energetická bilance vede ke zvýšení tělesné hmotnosti u obou skupin (Hainer 2004).

Energetický výdej je dán zejména klidovým metabolickým obratem (resting metabolic rate, RMR), jehož mírou je tvorba tepla přímo úměrná spotřebě kyslíku. Zajištění základních životních pochodů organismu a tělesné teploty představuje asi 55–70 % celkového energetického výdeje. Další významnou složku celkového energetického výdeje organismu, asi 8–12 %, představuje postprandiální termogeneze (Diet Induced Thermogenesis, DIT). Ta je spojená s trávením, vstřebáváním a metabolismem základních živin po požití potravy a také s aktivací sympatického nervového systému po jídle. Výše energetického výdeje spojeného s fyzickou aktivitou, je do značné míry závislá na sociokulturních zvyklostech. Obvykle představuje asi 20–30 % celkového energetického výdeje. V současné době se snižující pohybová aktivita podílí na postupném růstu tělesné hmotnosti více než vysoký energetický příjem. I přes pokles celkového energetického příjmu i příjmu tuků stále dochází ke zvyšování prevalence obezity. Mezi další faktory méně či více ovlivňující energetický výdej patří také věk, pohlaví či zevní teplota (Korkeila et al. 1991). Například i kouření a kofeinismus mohou představovat až 10 % energetického výdeje (Hainer 2004).

1.1.5 Tuková tkáň – endokrinní orgán

Do nedávné doby byla bílá tuková tkáň (white adipose tissue, WAT) považována téměř výhradně za pasivní orgán, plnící funkce energetického zásobníku organismu, mechanické a tepelné izolace. S rozvojem poznání v oblasti obezity, resp. tukové tkáně, se ale ukázalo, že adipocyty jsou buňky značně aktivní, produkující a vyplavující do krevního oběhu biologicky aktivní působky. Bílá tuková tkáň tak představuje největší endokrinní orgán organismu. Adipocyty produkují řadu látek, které se významně podílejí nejen na regulaci energetické homeostázy a tělesné hmotnosti, ale ovlivňují i glukózový metabolismus, zánětlivé pochody a řadu onemocnění souvisejících s obezitou (Obr. 6). Vzhledem k zaměření této dizertační práce a k významu uvedených biologicky aktivních látek při regulaci energetické homeostázy se další kapitoly podrobněji věnují pouze hormonům leptinu a IGF-I.

Obrázek 6. Tuková tkáň – endokrinní orgán



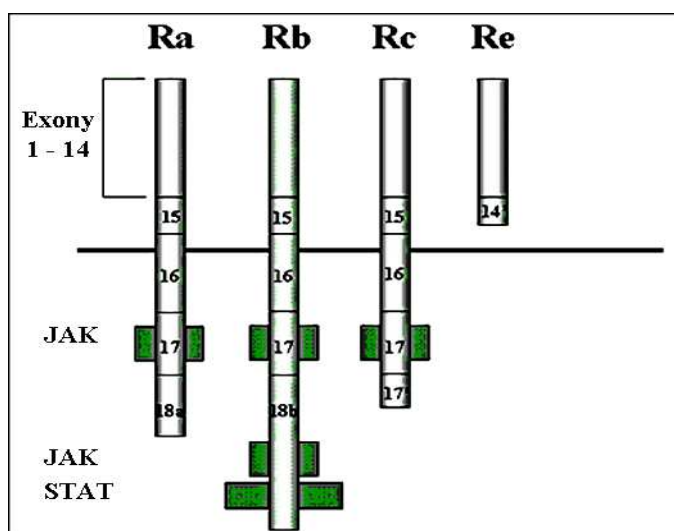
(převzato a upraveno dle www.cardiometabolic-risk.org)

1.1.6 Leptin, leptinové receptory, leptinomelanokortinová osa

Leptin patří mezi hormony, jež jsou především produkovány tukovou tkání. Jedná se o proteohormon o 167 aminokyselinách. Gen pro leptin je lokalizován na krátkém raménku 7. chromozomu a je tvořen 2 introny a 3 exony. Hlavním místem exprese leptinového genu je bílá tuková tkáň, v mnohem menší míře i hnědá tuková tkáň (Deng et al. 1997), placenta (Masuzaki et al. 1997) a žaludek (Bado 1998). Oproti mužům se u žen nalézají – i po přepočtení na relativně vyšší množství tuku – vyšší sérové hladiny leptinu, pravděpodobně vlivem estrogenů na jeho syntézu (Wabitsch et al 1996; Shimizu 1998). Četné studie prokázaly mnohem vyšší sérové koncentrace u obézních než u štíhlých jedinců, u kterých je většina leptinu vázána na vazebné proteiny (60–98 % oproti 5–15 % u obézních). Pravděpodobnou příčinou vyšších hladin leptinu u obézních je rezistence k jeho účinku. Leptin je produkován pulzativně s výraznou cirkadiánní rytmitou, která není vázána na příjem potravy. Leptin se tedy nepodílí na krátkodobé regulaci příjmu potravy (Boden et al. 1997; Pombo et al. 1997; Koopmans et al. 1998).

Receptory pro leptin (LEPR) byly identifikovány v roce 1995 (Tartaglia et al. 1995). Gen pro leptinový receptor (*LEPR*) se nachází na krátkém raménku prvního chromozómu, v oblasti 1p31, a produkuje v současné době pět známých typů receptorů (Obr. 7). Jednotlivé izoformy mají shodnou extracelulární část (826 aminokyselin), liší se ale délkou intracelulární části (34 až 303 aminokyselin). Receptory využívají k nitrobuněčnému přenosu signálu, tzv. Janus-kinázy (JAK) a STAT proteiny.

Obrázek 7. Isoformy leptinového receptoru

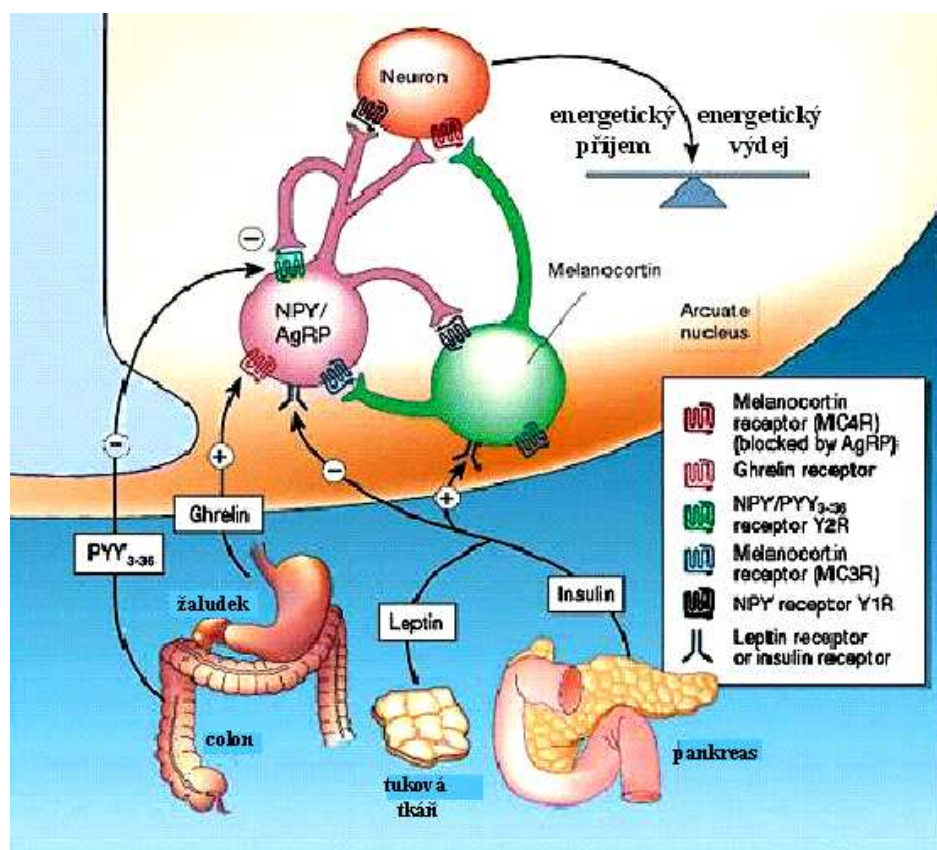


Krátké formy LEPR (Ra, Rc); dlouhá forma LEPR (Rb); solubilní forma LEPR (Re); vazebné domény (JAK, STAT); převzato a upraveno dle www.endotext.org/obesity.

V hypothalamických centrech hladu a sytosti (*nukleus arcuatus*, *ventromedialis*, *paraventricularis a dorsomedialis*) se ve vysoké koncentraci nachází izoforma s dlouhou intracelulární doménou. Krátké izoformy byly u lidí prokázány převážně v srdci, játrech, tenkém střevě, prostatě a ováriích (Tartaglia et al. 1997). V chorioidálním plexu se krátká izoforma leptinového receptoru pravděpodobně podílí na aktivním transportu leptinu z periferie přes hematoencefalickou bariéru do centrálního nervového systému.

Leptin, secernovaný tukovou tkání do krevního oběhu, prostupuje přes hematoencefalickou bariéru. Svými centrálními účinky přes hypothalamická centra hladu a sytosti tlumí příjem potravy a stimulací sympatiku zvyšuje metabolický obrát. V hypothalamu se leptin naváže na leptinové receptory, tím stimuluje anorexigenní osu a inhibuje osu neuropeptidů, čímž dochází ke snížení příjmu potravy a zvýšení energetického výdeje (Obr. 8).

Obrázek 8: Hypotalamická regulace energetického příjmu a výdeje.



(převzato a upraveno dle Schwartz and Morton 2002)

Řada studií se zaměřuje i na další funkce, které, jak se zdá, leptin vykazuje. Zjišťuje se vliv leptinu na fertilitu a ověřuje se i jeho role v nástupu puberty. Existují hypotézy, že hladina sérového leptinu je signálem pro mozková centra o tom, že jsou dostatečně vytvořeny energetické zásoby pro tělesný rozvoj a pro schopnost reprodukce. Hladina leptinu by tak měla být určující pro nástup puberty. U prepubertálních dětí se předpokládá určitá rezistence na leptin na úrovni hypotalamu. Tato rezistence vede ke zvýšené chuti k jídlu a ke snížení energetického výdeje, což je v tomto období intenzivního vývoje pro organismus výhodné. Tato přechodná rezistence se později upraví (Lisá 2000).

Pro značný význam leptinu a leptinových receptorů z hlediska regulace energetické homeostázy svědčí i ojedinělé případy mutace genů těchto proteinů. Nositelé těchto mutací vykazují extrémní stupně obezity už v časném dětství, doprovázené absencí sekrece nebo syntézou strukturálně modifikovaného, tedy biologicky neaktivního leptinu v případě mutace genu pro leptin (Montague et al. 1997; Strobel et al. 1997), anebo naopak s vysokými hladinami leptinu v případě mutace genu pro leptinový receptor (Clément et al. 1998).

1.1.7 Insulin-like growth faktor I

IGF-I je polypeptidový hormon o 70 aminokyselinách, strukturálně podobný proinzulinu. V organismu ovlivňuje řadu procesů, zejména růst (Basergra and Rubin 1993) a diferenciaci buněk (Sara and Hall 1990), stimuluje proteosyntézu, díky svému hypoglykemizujícímu účinku ovlivňuje glukózový metabolismus (Lewitt et al. 1994, Jacob et al. 1989) a zapojuje se i do lipidového metabolismu (Jones and Clemmons 1995). Sekrece IGF-I je pod přímou stimulací růstového hormonu, důležité jsou ale i další hormony, jako inzulin, pohlavní hormony a hormony štítné žlázy. Produkce IGF-I je dále významně ovlivňována výživou a imunitním systémem. V oběhu je IGF-I téměř z 99 % vázán na několik typů transportních bílkovin, čímž je regulována jeho biologická aktivita (aktivní je pouze volný IGF-I). Hlavním vazebným proteinem pro IGF-I je IGFBP-3 (insulin-like growth factor binding protein-3), který váže IGF-I asi z 95 % a představuje tak jakýsi rezervoár IGF-I. Touto vysokou vazebnou schopností působí IGFBP-3 inhibičně na IGF-I.

Sekrece IGF-I a IGFBP-3 je značně věkově a pohlavně závislá a do určité míry odráží stupeň vývoje organismu (Travers et al. 1998). Sérové hladiny IGF-I stanovené z pupečnickové krve pozitivně korelují s porodní hmotností i délkou (Ong et al. 2000,

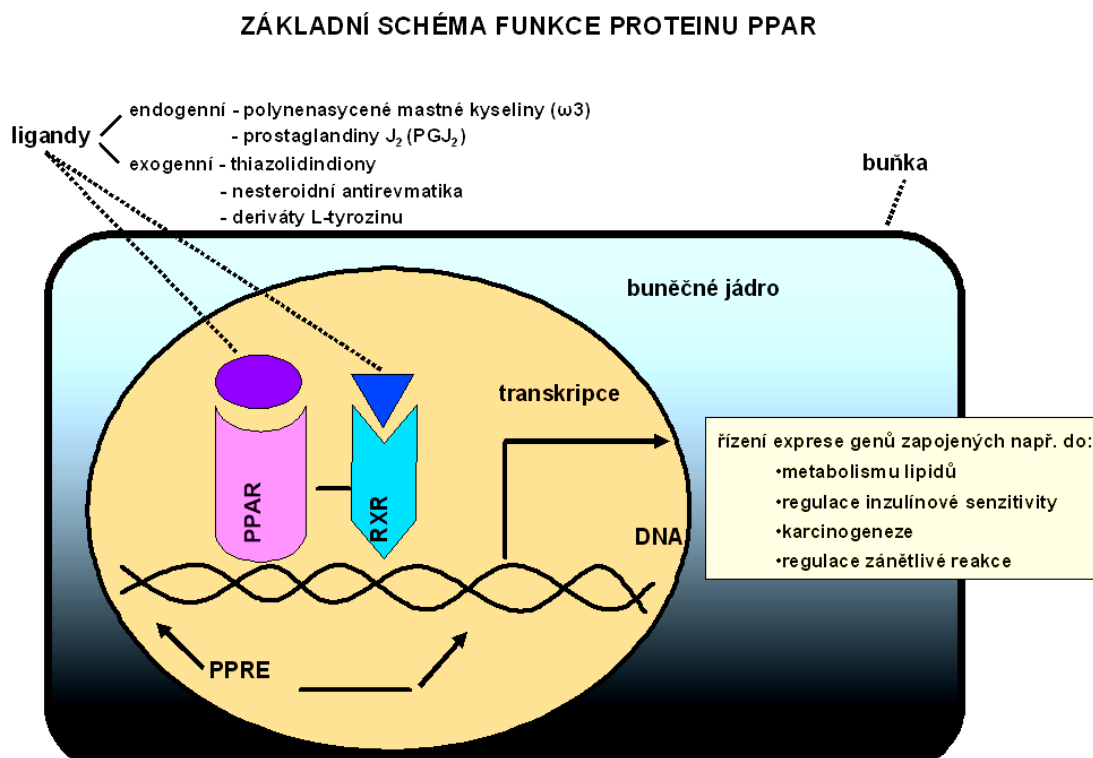
Vatten et al. 2002). Po poklesu, ke kterému dochází po narození, se koncentrace IGF-I zvyšují. V prvních letech života jsou nízké, od mladšího školního věku začínají stoupat. Maximum je možné sledovat v pubertě (u dívek kolem 13. roku, u chlapců kolem 15. roku), v této době je hladina IGF-I až čtyřnásobně vyšší než v prvních letech života. V závěru puberty se začíná jeho koncentrace snižovat a toto klesání plynule pokračuje celý život, každých deset let přibližně o 10 %.

Výsledky studií porovnávajících koncentrace IGF-I a IGFBP-3 u dospělých obézních pacientů se zdravými kontrolami nejsou zcela jednoznačné. Kršek a kol. (2003) popisuje snížení sérových koncentrací těchto parametrů u obézních, naopak signifikantní zvýšení uvádí např. Frystyk a kol. (1995). I přes sníženou sekreci růstového hormonu nebývá u obézních dětí narušen vzrůst. Hladiny IGF-I u obézních dětí bývají v normálním rozmezí (Argente et al. 1997; Balerrini et al. 2004; Park et al. 1999; Radetti et al. 1998;) nebo zvýšené (l'Allemand et al. 2002; Bini et al. 2004; Bouhours-Nouet et al. 2006), ale např. Attia a kol. (1998) pozorovali u obézních adolescentů hladiny IGF-I i IGFBP-3 naopak signifikantně nižší oproti zdravým kontrolám. Koncentrace IGFBP-3 bývají vyšší a po snížení hmotnosti se vracejí k normálu (Argente et al. 1997; Gleeson et al. 2005; Juul et al. 2000).

1.1.8 Úloha PPARalfa

PPARalfa (receptor aktivovaný peroxizomovými proliferátory typu alfa) jsou jednou ze tří v současné době známých izoform nukleárních receptorů PPAR (alfa, gamma, delta). Receptory PPAR jsou tvořeny třemi doménami, ligand-dependentní a ligand-independentní AF-2 aktivační doménou a DNA vázající doménou, jejímž úkolem je vazba na úseky DNA, tzv. PPRE (peroxizome proliferator responsivní elementy), nacházející se na PPAR responsivních genech. K aktivaci receptorů PPAR dochází navázáním ligandu s aktivačním účinkem, tedy PPAR agonisty (v případě PPARalfa se jedná o různé typy volných mastných kyselin nebo syntetické ligandy – fibráty). Aktivovaný receptor PPAR vytvoří heterodimer s tzv. retinoidním nukleárním receptorem X (retinoid X receptor, RXR) a naváže se na PPRE. Tato vazba vede k aktivaci transkripce specifických genů a následné syntéze příslušných bílkovin, vedoucí k vlastnímu biologickému účinku, resp. syntéze enzymů zapojených do metabolismu lipidů, sacharidů a dalších látek, regulujících inzulínovou senzitivitu a oxidaci lipidů (Haluzík a Svačina 2005) (Obr. 9).

Obrázek 9: Základní schéma funkce proteinu PPAR



Spojitosť mezi aktivací PPARalfa a snížením tělesné hmotnosti a množství tukové tkáně naznačily studie provedené na potkanech s uměle navozenou obezitou (Guerrero-Millo et al. 2000; Mancini et al. 2001; Chaput et al. 2000). Další studie, provedená na myších s chybějícím PPARalfa, poukázala na rozvoj obezity u těchto jedinců i přes stabilní energetický příjem (Costet et al. 1998).

Hlavními místy exprese PPARalfa jsou játra, ledviny, srdce, příčně pruhované svalstvo a hnědá tuková tkáň, tedy zejména místa, která jako energetický substrát využívají volné mastné kyseliny. Gen pro *PPARalfa* je umístěn na dlouhém raménku 22. chromozomu, v lokusu 22q13.31.

Hlavním mechanismem účinku PPARalfa jako transkripčního faktoru je regulace transkripce genů zapojených do lipidového metabolismu, resp. genů zapojených do transportu mastných kyselin přes mitochondriální membránu a do α -, β - a ω -oxidace, přičemž hlavní cílovou tkání jsou játra (Haluzík a Svačina 2005).

1.1.9 Metabolické změny u obezity

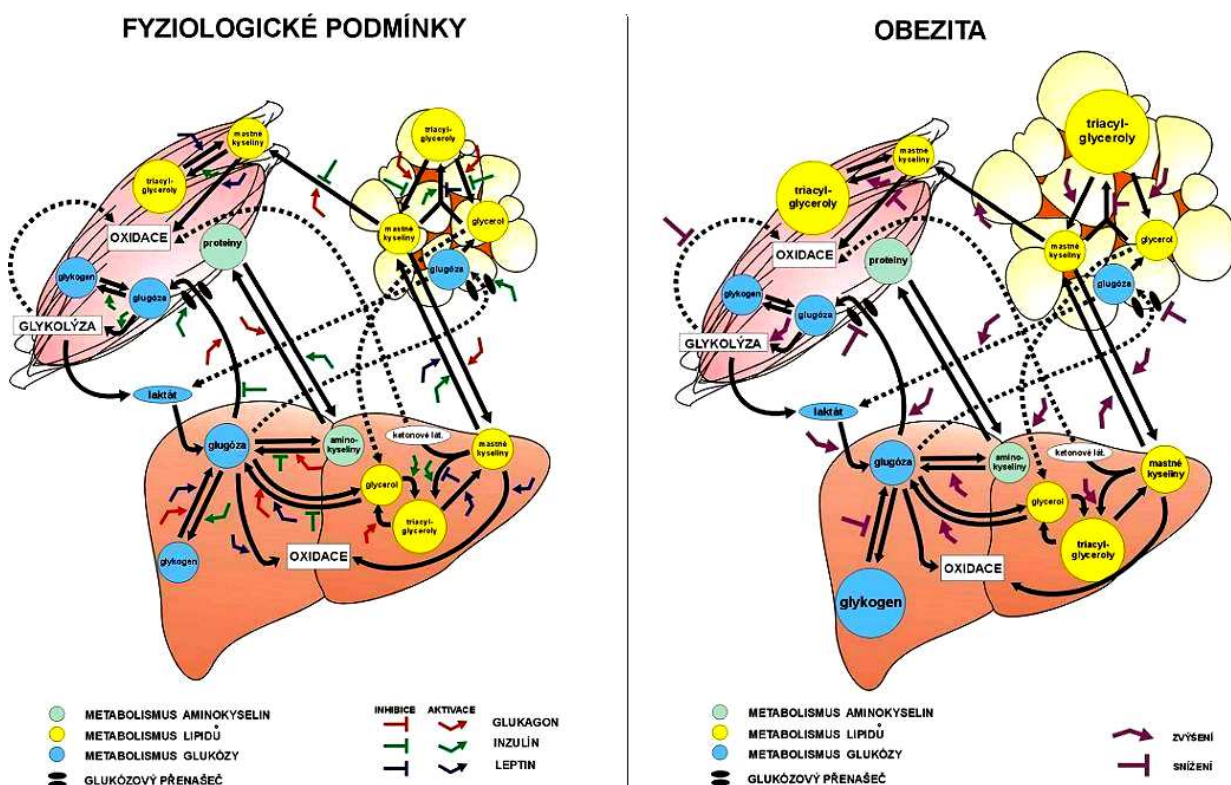
Metabolické změny provázející obezitu se mění v závislosti na jejím rozvoji. Nárůst tělesné hmotnosti a množství tukové tkáně vede k zvýšení hladin glukózy, volných mastných kyselin, triacylglycerolů, celkového cholesterolu i LDL (low density lipoprotein) cholesterolu, naopak klesá koncentrace HDL (high density lipoprotein) cholesterolu. Zvyšuje se hladina C-peptidu, inzulínu, klesá počet a senzitivita inzulínových receptorů a rozvíjí se inzulinorezistence (Pařízková a Lisá 2007; Holeček 2006).

Koncentrace cholesterolu v krvi ale není vždy spolehlivým ukazatelem míry kardiovaskulárních rizik, protože nepostihuje počet a typ aterogenních částic a tak např. pacienti s inzulinovou resistencí, přestože mohou vykazovat relativně nízké hladiny cholesterolu, mají zároveň akcelerovanou aterosklerózu (Grundy et al. 2005). Pacienti s diabetickou dyslipidémií nebo pacienti s metabolickým syndromem a dyslipidémií mají někdy normální koncentrace LDL. Jedná se ale o typ tzv. malých denzních LDL částic, které mají velký aterogenní potenciál. Tyto částice mají sníženou afinitu k LDL receptorům. Nejsou proto snadno odbourávány, ale pronikají cévním endotelem, kde jsou následně vychytávány makrofágy. Z makrofágů vzniklé pěnové buňky potom tvoří základ aterosklerotických lézí. Tyto malé denzní LDL navíc podléhají velice snadno oxidaci, což opět zvyšuje jejich aterogenní účinek (Češka 2008). Vzhledem k faktu, že i u osob s hypertriglyceridémií je více než 90 % apoB (apolipoproteinu B) v séru vázáno na LDL (Sniderman et al. 1991), poskytuje stanovení apoB informaci o počtu aterogenních částic v séru. Studie INTERHEART potvrdila význam apoB, stejně jako význam poměru apoB k apoAI (apolipoprotein AI). Tyto dva apolipoproteiny se ukázaly jako silné prediktory kardiovaskulárních onemocnění (Yusuf et al. 2004).

Jedním z faktorů, odpovědných za rozvoj inzulinorezistence, je pravděpodobně poškození funkce mitochondrií a snížená syntéza ATP (adenosintrifosfát) v hepatocytech v důsledku dlouhotrvající hyperglykémie (Vanhorebeek et al. 2005). Zhoršený vstup glukózy do buněk vede ke změnám nejen metabolismu glukózy, ale i lipidů a aminokyselin ve tkáních. V krvi se zvyšuje hladina volných mastných kyselin a triacylglycerolů. Játra produkují více VLDL (very low density lipoprotein), koncentrace HDL se přesouvá ve prospěch LDL. Všechny tyto pochody vedou k rozvoji aterosklerózy, dyslipidémie, diabetu 2. typu, ICHS (ischemická choroba srdeční) a metabolického syndromu. Při úpravě tělesné hmotnosti je ovšem možno pozorovat úpravu zmiňovaných

parametrů, mnohdy až k normálním hodnotám. Změny metabolismu lipidů a sacharidů při obezitě popisuje obrázek 10.

Obrázek 10: Integrace hlavních metabolických drah v játrech, bílé tukové tkáni a kosterním svalu za fyziologických podmínek a při obezitě



Biochemické pochody v různých tkáních probíhají ve vzájemných interakcích zprostředkovaných metabolity (glukosou, ketolátkami, laktátem, glycerolem a mastnými kyselinami) a dalšími faktory (leptinem, adipsinem, resistinem a TNF α) vyplavovanými z tkání. Metabolické dráhy jsou ovlivňovány centrálními neurohormonálními regulacemi (aktivitou adrenergního systému, pankreatu, kůry nadledvin, štítné žlázy), které zpětně reagují na změny hladin metabolitů (glukózy) v krvi. Obrázek znázorňuje efekty glukagonu, inzulínu a leptinu na metabolismus za fyziologických podmínek a při obezitě, kdy se rychlost metabolických toků mění. Transport mastných kyselin krví a do tkání je znázorněn schematicky. Z větší části probíhá ve formě triacylglycerolů vázaných v chylomikronech (transport z gastrointestinálního traktu do tkání) a v lipoproteinech (transport mezi játry, svaalem a tukovou tkání) a vstup této frakce mastných kyselin do tkání je umožněn až po jejich hydrolýze vlivem LPL. Volné mastné kyseliny vyplavované z tukové tkáně jsou vázány na sérové bílkoviny (především albumin) a transportovány do jater a svalu.

(převzato z Kopecký J, Flachs P, <http://www.lf2.cuni.cz/Ustavy/biochemie/vyuka/metazita.pdf>)

Některé z popisovaných změn jsou patrné už u dětských obeztních pacientů. Fyziologicky mají děti nižší hodnoty celkového cholesterolu, triacylglycerolů, LDL cholesterolu, VLDL a vyšší hodnoty HDL cholesterolu. Celkový cholesterol se s věkem zvyšuje, zvýšení je menší u kojených dětí. I touto problematikou se zabývají různé studie. Kojené děti sice přijímají oproti dětem živěným umělou výživou více cholesterolu, ale při vysokém přívodu cholesterolu u nich dochází automaticky ke zpětnovazební regulaci jeho

syntézy tak, aby výsledné množství cholesterolu v buňce bylo přiměřené její funkci. Je ovšem otázka, zda tyto regulace přetrvávají až do dospělosti a zda jsou tedy kojené děti v dospělosti lépe schopny regulovat hladinu cholesterolu (Owen et al. 2002).

Jedinců ohrožených rizikem metabolického syndromu přibývá i v dětské populaci (Weiss and Capriio 2005; Shaibi and Goran 2008). Studie Weisse a kol. (2004) předpokládá rozvoj metabolického syndromu s inzulínovou rezistencí, vyšší koncentrací CRP (C-reaktivní protein) a sníženou koncentrací adiponektinu až u 50 % obézních dětí.

1.2 Genetické faktory obezity

Vliv molekulárně genetických aspektů na etiopatogenezi obezity potvrdila řada studií. Genetický vliv nejen na vznik, ale i na průběh a typ obezity je zřejmý. Například dle výzkumu Žij Zdravě z roku 2008, který mapoval prevalenci obezity v české populaci, mívají obézní rodiče 3x častěji děti s nadváhou až obezitou. Pokud jsou obézní oba rodiče, pak jejich potomek je v 46 % případech také obézní (www.zijzdrave.cz). Rovněž studie Treutha a kol. (2003) prokázala, že štíhlé dívky (sledované v osmi letech, s kontrolou po jednom a dvou letech), které mají oba rodiče obézní, jsou rizikem rozvoje obezity ohroženy více, než jejich vrstevnice, u nichž je štíhlý alespoň jeden z rodičů.

Velmi přesvědčivé jsou studie prováděné na monozygotních dvojčatech. Výskyt obezity v rámci rodin a tedy předpoklad výrazného podílu na vzniku obezity uvádí již studie Feinleiba a kol. (1977). V roce 1986 Stunkard a kol. (1986) publikovali studii o monozygotních i dizygotních dvojčatech a určili korelační koeficient dědivosti (heritability) tělesné hmotnosti hodnotou 0,78–0,81. Stunkardova studie adoptovaných dvojčat a jejich biologických a adoptivních rodičů ukázala značný vliv genetických faktorů na vznik obezity (Stunkard 1986). K analogickým závěrům vedla také studie sledující reakci dvanácti párů normostenických monozygotních dvojčat na čtyřtýdenní přejídání s nadstandardním zvýšením denního energetického příjmu o 4,2 MJ (Bouchard et al. 1993). Na význam určité rodové dispozice poukázal i Fomon a kol. (1976), který sledoval dvě skupiny dětí se stejným zastoupením sacharidů a tuků v potravě. První skupina dětí dostávala stravu složenou z 60 % tuků a 31 % sacharidů, druhá skupina naopak. Přírůstky tělesné hmotnosti a tělesné výšky byly u obou skupin stejné. V našich podmínkách prováděli studie s monozygotními dvojčaty Hainer a kol. (2001), jimž se podařilo prokázat významnou podobnost v redukci tělesné hmotnosti i tukové tkáně uvnitř

párů monozygotních dvojčat. V rámci této studie byla rovněž zjištěna i významná podobnost v koncentraci sérových lipidů a ve složení tukové tkáně (Kunešová et al. 2002).

V posledních dvaceti letech, kdy došlo ke značnému pokroku a rozvoji v oblasti molekulárně genetických metod, prokázala řada studií, že obezita je opravdu výsledkem interakce faktorů zevního prostředí s faktory genetickými. Geneticky podmíněná je nejen regulace tělesné hmotnosti (ovlivnění klidového energetického výdeje, postprandiální termogeneze, lipolýzy, metabolismu svalů, výběru fyzické aktivity, chuťových preferencí), ale i odpověď organismu na různé podněty, jako je fyzická aktivita či dieta (Svačina 2000, Haitmann et al. 1995). Publikována byla i hypotéza, že vzhledem k vysokému výskytu obezity v rodinách, resp. extrémní obezity u dětí obézních rodičů, dochází k určité stigmatizaci obézního jedince a ten si tak vybírá jedince stejně postiženého (Hebebrand et al. 2000). Většina genů neovlivňuje změny tělesné hmotnosti přímo, ale u jedinců vystavených vlivům určitého typu prostředí tyto geny zvyšují jejich náchylnost k nárůstu tělesné hmotnosti. I když byla prokázána existence genů, které způsobují vznik obezity v jakémkoliv, tedy i v tzv. leptogenním či restriktivním prostředí, jedná se vzhledem k celkovému počtu postižených jedinců o naprosto ojedinělé případy. Do současné doby bylo identifikováno 11 genů (geny pro leptin (*LEP*), leptinový receptor (*LEPR*), proopiomelanokortin (*POMC*), receptor pro melanokortin 3 (*MC3R*), receptor pro melanokortin 4 (*MC4R*), receptor pro hormon uvolňující kortikotropin typ 1 (*CRHR1*), receptor pro hormon uvolňující kortikotropin typ 2 (*CRHR2*), proprotein konvertáza subtilisin/kexin typ 1 (*PCSK1*), receptor pro *neurotrophic* tyrosin kinázu typ 2 (*NTRK2*), G protein vazebný receptor 24 (*GPR24*), *single-minded* homolog 1 (*SIMI*)), jejichž mutace vyvolá monogenní formu obezity (Rankinen et al. 2006). Mendelovsky děděné syndromy spojené s obezitou jsou např. syndromy Prader-Williho, Bardetův-Biedlův, Alströmův a Cohenův či vzácné případy tzv. monogenní formy obezity. Tyto typy se vyznačují většinou velmi časným rozvojem extrémní obezity.

1.2.1 Polygenní dědičnost u obezity

U naprosté většiny jedinců s nadváhou a obezitou je genetický vliv polygenní, což znamená, že se na vzniku a rozvoji onemocnění podílí více genů v interakci s prostředím, ve kterém postižený jedinec žije. Snahou vědců na celém světě je definovat nejenom tyto „obezigenní“ geny a prostředí, ale také geny, genové varianty a prostředí, které naopak jedince před vznikem a rozvojem chrání, tedy tzv. „leptogenní“ geny a leptogenní,

restriktivní prostředí. Typickým a často prezentovaným příkladem, na kterém lze demonstrovat interakci genové výbavy jedince s prostředím, jsou Indiáni kmene Pima. Dokud zástupci tohoto kmene, nositelé obezigenní genové výbavy, žijí ve svém původním přírodním leptogenním prostředí v Mexiku, bohatém na dostatečný přísun rostlinné stravy a fyzickou aktivitu, nedochází k manifestaci obezity a dalších typicky přidružených onemocnění. Pokud jsou ovšem vystaveni obezigennímu prostředí měst severoamerické Arizony, významně stoupá jak počet případů obezity, tak diabetu 2. typu (Ravussin 1994). Popsané interakce mezi genovou výbavou jedince a prostředím potvrzují, že člověk nedědí samotnou nemoc ale spíše určitou náchylnost k ní.

U multifaktoriálních onemocnění se genetická analýza zaměřuje zejména na sledování tzv. kandidátních genů. Produkty těchto genů se buď přímo podílejí na patogenezi onemocnění anebo leží v oblasti, která je asociována s konkrétním sledovaným fenotypickým znakem. Výzkum kandidátních genů se provádí asociačními nebo vazebnými studiemi (linkage study). Asociační studie se zaměřují na již známé geny nebo geny, u nichž se předpokládá vliv na patogenezi onemocnění a které byly objeveny vazebnou analýzou, pozičním klonováním nebo na základě výsledků zvířecích modelů. Vazebné studie sledují, zda postižení jedinci ve vytypovaných skupinách rodin s frekventním výskytem onemocnění, popř. v souborech sourozenců s určitým fenotypem, významně častěji sdílejí některé alely. V posledních letech se velmi rychle rozšířila možnost celogenomového mapování (whole-genotype screening), které umožňuje nalézt oblasti s dosud neznámou biologickou funkcí. Vytipovaná oblast je poté dále analyzována (poziční klonování, funkční studie in vitro). K odvození dědičnosti ale metoda vyžaduje velmi početný vzorek postižených rodin.

Rozvoj molekulárně genetických metodik v posledních letech umožnil objevení velkého počtu genů, genových oblastí a mutací spojených s fenotypovými projevy obezity. Situace si vyžádala založení celosvětově přístupné databáze (1994, prof. Bouchard; Human Obesity Gene Map; <http://obesitygene.pbr.edu>), která je pravidelně doplňována o nejnovější poznatky na poli genetického výzkumu obezity. Poslední aktualizace proběhla v roce 2006 a uvádí více než 600 genů, markerů a chromozomálních oblastí, u nichž byl pozorován vztah k obezitě (Rankinen et al. 2006; Tab. 2)

Tabulka 2: Mapa lidské obezity – přehled počtu nalezených genů, genových oblastí a mutací spojených s fenotypovými projevy obezity

The humane obesity gene map: 1994 - 2005												
	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Monogenní mutace *				2	6	6	6	6	6	6/7	10	11
KO a Tg									38	55	166	244
Mendelovsky děděné syndromy	8	12	13	16	16	20	24	25	33	41	49	50
Zvířecí QTLs	7	9	24	55	67	98	115	165	168	183	221	408
Lidské QTLs				3	8	14	21	33	68	139	204	317
Kandidátní geny s pozitivním nálezem	9	10	13	21	29	40	48	58	71	90	113	127

* počty genů, nikoliv mutací
 KO, knockout; Tg, transgenic; QTLs, quantitative trait locus

(upraveno dle Rankinen et al. 2006)

Vzhledem k zaměření této dizertační práce byly z celé řady v současné době známých kandidátních genů pro obezitu vybrány dva kandidátní geny, a to gen pro leptinový receptor (*LEPR*), konkrétně 3 polymorfismy Pro1019Pro (rs1805096), Gln223Arg (rs1137101) a Ser343Ser (rs3790419), a gen pro receptor aktivovaný peroxizomovými proliferátory typu alfa (*PPARalfa*), konkrétně polymorfismus Leu162Val (rs1800206).

1.2.2 Polymorfismus Pro1019Pro v genu pro *LEPR*; rs1805096

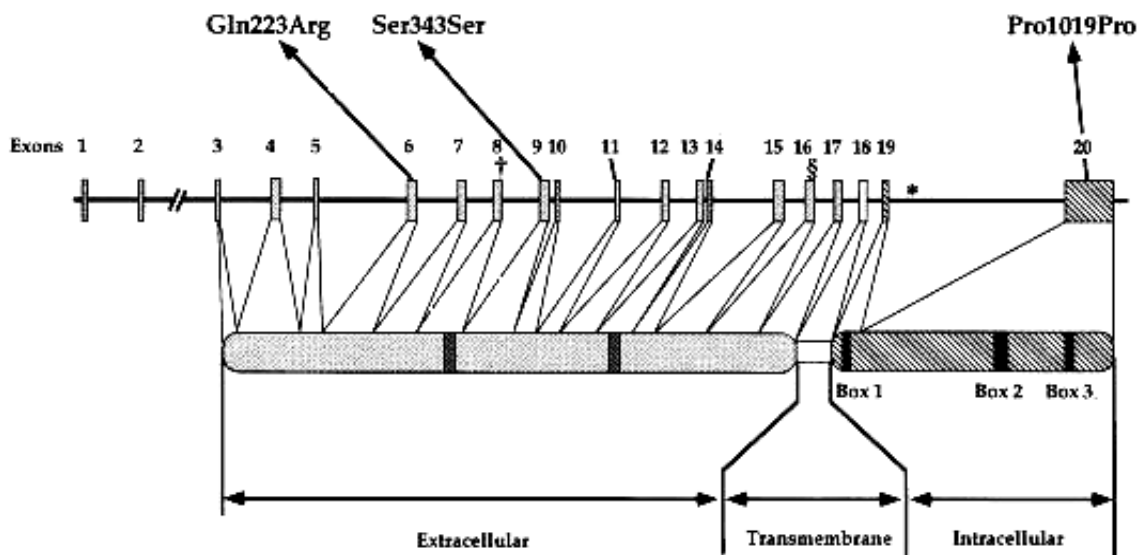
Polymorfismus Pro1019Pro (CCG/CCA) se nachází ve 20. exonu genu pro *LEPR* (Obr. 11). Jedná se o tzv. tichý polymorfismus (silent polymorphism), který nevede k záměně aminokyseliny. Vliv záměn tohoto typu na fenotyp není dosud zcela objasněn, je možné předpokládat, že může docházet k ovlivnění dynamiky translace nebo stability vzniklého produktu. Asociace toho polymorfismu s fenotypem obezity byla poprvé popsána u populace Indiánů kmene Pima (Thompson et al. 1997). Ve skupině australských žen s genotypem nesoucím alelu A byl po dvou letech prokázán větší váhový přírůstek tukové tkáně a zvýšení BMI oproti homozygotkám GG a to nezávisle na antropometrických charakteristikách a věku (De Silva et al. 2001). Starší studie tohoto souboru popisuje navíc u homozygotů AA vyšší hladiny inzulínu a leptinu stejně jako vyšší diastolický tlak (De Silva et al. 1999).

Vliv polymorfismu Pro1019Pro genu pro LEPR na metabolismus tuků a parametry obezity byl popsán i u skupiny adolescentů. Ve skupině obézních dětí měli homozygoti AA ve srovnání s homozygoty GG vyšší hladiny triacylglycerolů, BMI i procento tělesného tuku a naopak nižší hladiny HDL cholesterolu (Liu et al. 2004).

Polymorfismus nesouvisí jen s fenotypem obezity, ale pravděpodobně zasahuje také do procesu aterogeneze. Souvislost s ukazatelem zánětu – CRP (C-reaktivní protein) – popisují závěry nedávno publikované studie, které poukázaly na signifikantně vyšší hladiny CRP (o 32 %) u homozygotů GG oproti homozygotům AA. Stejná skupina vykazovala také o 5 % vyšší koncentraci koagulačního faktoru – fibrinogenu (Zhang et al. 2007).

Spojitosť polymorfismu s diabetem 2. typu se pokusila ozřejmit studie Lu a kol. (2009), která porovnávala frekvence genotypu ve skupinách dospělých diabetiků 2. typu s/bez komplikací jaterního postižení nealkoholickou statózou (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) a ve skupině jedinců s normální glukózovou tolerancí. Významně vyšší procento nosičů alely A se nacházelo ve skupině diabetiků 2. typu s NAFLD (76 %) oproti jedincům s neporušenou glukózovou tolerancí (53,3 %).

Obrázek 11: Lokalizace sledovaných polymorfismů genu pro LEPR.



(převzato a upraveno dle Matsuoka et al. 1997)

1.2.3 Polymorfismus Gln223Arg v genu pro *LEPR*; rs1137101

Polymorfismus Gln223Arg (CAG/CGG) genu pro *LEPR* se nachází v 6. exonu, v extracelulární doméně genu pro *LEPR* (Obr. 11). Vlivem záměny nukleotidu adeninu za guanin dochází ve 223. kodónu k zařazení aminokyseliny argininu místo glycinu, jedná se tedy o záměnu měnící smysl (missense mutation). Pravděpodobný účinek této záměny by mohl spočívat v ovlivnění signalizační kapacity leptinového receptoru, protože polymorfismus je lokalizovaný nedaleko vazebného místa pro leptin (Chagnon et al. 2000).

Popisované frekvence alely Arg223 jsou v rozsahu 0,32–0,50 u euroamerických populací (Yiannakouris et al. 2001, de Silva et al. 2001, Mammes et al. 2001), u asijských populací, např. Japonců či obyvatel ostrova Nauru jsou ovšem popisované frekvence mnohem vyšší, mezi 0,85–0,89 (Endo et al. 2004; De Silva et al. 1999). Asociace mezi tímto polymorfismem a fenotypem obezity nejsou zcela konzistentní, byla pozorována pozitivní asociace v populacích různého věku, pohlaví i národnosti (Chagnon et al. 2000; Quinton et al. 2001; Yiannakouris et al. 2001; van Rossum et al. 2003; Han et al. 2008). Nicméně jiné studie, provedené např. na populaci amerických bělochů, Japonců či Indiánech kmene Pima tyto souvislosti nepotvrdily (Silver et al. 1997; Thompson et al. 1997; Matsuoka et al. 1997). Studie, která sledovala vliv polymorfismu na metabolické abnormality jako odpověď na dlouhotrvající přejídání ve skupině monozygotických mužských dvojčat, zjistila, že homozygoti Gln223 vykazovali oproti skupině homozygotů Arg223 a heterozygotů vyšší hladiny plazmatického leptinu a triacylglycerolů a také větší pokles HDL cholesterolu (Ukkola et al. 2000).

Studie zjišťující vztah mezi porodní hmotností dětí a variantou uvedeného polymorfismu u jejich matek nebo genotypem a hmotností těchto matek v prvním trimestru, nezjistila žádné signifikantní rozdíly (Rand et al. 2001).

Byly nalezeny signifikantní rozdíly v genotypových i alelických frekvencích polymorfismu mezi jedinci s BMI nižším, resp. vyšším než 25 kg/m². Genotypové diference byly dány především vyšším zastoupením Arg223 homozygotů mezi jedinci s nadváhou a obezitou oproti jedincům s BMI do 25 kg/m² (Mattevi et al. 2002).

1.2.4 Polymorfismus Ser343Ser v genu pro *LEPR*; rs3790419

Polymorfismus Ser343Ser (AGT/AGC) genu pro *LEPR* se nachází v 9. exonu, v extracelulární doméně genu pro *LEPR* (Obr. 11). Opět se jedná o tzv. tichou mutaci, kdy změna na úrovni nukleotidu (thyminu za cytosin) nevyvolá změnu proteinu, v obou případech je zařazena aminokyselina serin.

Studie provedená na francouzské populaci prokázala vyšší frekvence alely T u obézních jedinců, stejně jako lepší odezvu obézních nosičů alely C na redukční režim (Mammès et al. 2001).

Rozsáhlá studie sledující různé genetické varianty genu pro *LEPR* u populace korejských žen našla vzájemný vztah mezi BMI a polymorfismy v tomto genu, včetně polymorfismu Ser343Ser (Han et al 2008). Polymorfismus je spojován i se zvýšeným rizikem rozvoje diabetu 2. typu (Boden et al. 1997).

1.2.5 Polymorfismus Leu162Val v genu pro *PPARalfa*; rs1800206

Gen pro *PPARalfa* se nachází na dlouhém raménku 22. chromozomu, v lokusu 22q13.31. Substituce C za G ve 162. kodónu v exonu 5 vede k záměně aminokyselin leucin za valin.

Polymorfismus Leu162Val (GCC/GCG) v genu pro *PPARalfa* byl identifikován v tzv. DNA vázající doméně proteinu PPARalfa. Popisovaná záměna má funkční důsledky na receptorovou aktivitu (Vohl et al. 2000; Sapone et al. 2000). Studie in vitro popisují při vysokých koncentracích ligandů pro PPAR větší transkripční aktivitu alely Val162 oproti alele Leu162 (Sapone et al. 2000; Flafell et al. 2000).

Závěry studií, které sledovaly vztahy mezi polymorfismem Leu162Val genu pro *PPARalfa* a mezi ukazateli nadváhy, obezity a parametry metabolismu lipidů a sacharidů nejsou ovšem jednoznačné. Popsány byly asociace alely Val162 s biochemickými a hormonálními parametry, např. se zvýšenými hladinami triacylglycerolů, celkového cholesterolu, LDL, apoB, inzulinu, C-peptidu a glukózy a naopak nízké hladiny HDL cholesterolu. Vyšší frekvence alely Val162 byla prokázána u pacientů s aterosklerózou (Shin et al. 2008; Uthurralt et al. 2007; Tai et al. 2005; Gouni-Berthold et al. 2005). Naproti tomu studie Doneyho a kol. (2005) naznačuje kardioprotektivní vliv alely Val162, pozorovaný ve skupině diabetiků 2. typu (nižší systolický i diastolický krevní tlak a

hladiny LDL cholesterolu, vyšší hladiny HDL cholesterolu). Nicméně v žádné dosud publikované práci nebyla nalezena asociace tohoto polymorfismu s diabetem 2. typu (Vohl et al. 2000; Lacquemant et al. 2000; Evans et al. 2001). Nižší frekvence alely Val162 a současně souvislost s vyššími hladinami triacylglycerolů a apoCIII byly pozorovány u afroameričanů ve srovnání s bělošskými jedinci (Shin et al. 2008). Studie Taie a kol. (2005) poukazuje na možný efekt dávky v souvislosti s působením PPARalfa, resp. na okolnost, že méně intenzivní stimulace PPARalfa aktivuje jinou skupinu genů než silnější stimulace. Ve skupině s dietou s nízkým obsahem PUFA (polyunsaturated fatty acids) ($< 4\%$) měli nosiči alely Val162 hladiny triacylglycerolů o 28 % vyšší oproti Leu162 homozygotům. Ovšem dieta s vysokým obsahem PUFA ($> 8\%$) vyvolala u nosičů Val162 hladiny triacylglycerolů o 4 % nižší oproti Leu162 homozygotům. Na druhou stranu byla publikována řada studií, které nepotvrdily asociace tohoto polymorfismu s metabolismem lipidů, sacharidů nebo s parametry nadváhy a obezity (Silbernagel et al. 2009; Lopes-Sall et al. 2008; Evans et al. 2001).

2 Cíle dizertační práce

1. Zjistit hmotnostní změny a změny v tělesném složení u dětí absolvujících 5–6týdenní léčebně redukční pobyt v Léčebně Dr. L. Filipa v Poděbradech.
2. Na základě dílčí studie porovnat množství tělesného tuku stanoveného antropometrickými metodami a metodou DEXA.
3. Zhodnotit vybrané biochemické a hormonální parametry charakterizující lipidový a glukózový metabolismus u obézních dětí. Zjistit účinek 5–6týdenní redukční léčby na hladiny celkového cholesterolu a leptinu.
4. Porovnat hodnoty IGF-I a IGFBP-3 u obézních dětí s kontrolním souborem normostenických dětí.
5. Stanovit frekvence polymorfismů Pro1019Pro (rs1805096), Ser343Ser (rs3790419) a Gln223Arg (rs1137101) v genu pro *LEPR* a polymorfismu Leu112Val (rs1800206) v genu pro *PPARalfa*. Zjistit vliv uvedených polymorfismů na antropometrické, resp. biochemické parametry, sledované v průběhu redukčního programu.

3 Sledovaný soubor a metodika

Do studie byly zahrnuty děti ve věku 7–18 let, které se účastnily 5–6týdenní léčebného redukčního pobytu v Léčebně Dr. L. Filipa v Poděbrady. Při nástupu dětí do lázní byli děti i jejich rodiče (resp. zákonní zástupci) podrobně seznámeni s průběhem studie. Se zařazením do studie museli děti i jejich zákonní zástupci souhlasit a podepsat informovaný souhlas. Děti zařazené do studie absolvovaly standardní vstupní a výstupní klinická vyšetření provedená lékařkami dětské léčebny. Součástí bylo i měření krevního tlaku, tepové frekvence a krevní odběr. Všechny děti absolvovaly stejný redukční režim včetně různých forem pohybových aktivit (3–4 hod denně, celkem 21 hod týdně). Celkový energetický příjem dětí mladších deseti let byl 7 MJ, u starších dětí 10 MJ. Celkem se do studie zapojilo 180 chlapců a 345 dívek. V jednotlivých tabulkách s antropometrickými, biochemickými a genetickými údaji mohou být celkové počty sledovaných dětí nižší. Některá stanovení nebylo možno provést u všech dětí, např. z důvodů hemolytického krevního vzorku, špatně vyizolované DNA, předčasného odjezdu dětí atd.

3.1 Antropometrické vyšetření

Pro posouzení tělesné stavby sledovaných probandů a zhodnocení změny během léčebného pobytu byly využity metody přímé antropometrie, jejichž nespornou výhodou je neinvazivnost, časová nenáročnost, finanční dostupnost a v neposlední řadě možnost terénního využití. Vybrány byly takové tělesné parametry, které mají vztah k obezitě, včetně stanovení komponent složení těla podle Matiegkových rovnic. Množství tukové tkáně bylo stanovené také metodou podle Pařízkové (Pařízková 1977).

Antropometrické vyšetření bylo provedeno na počátku a na konci léčebného pobytu týmž antropologem standardní antropometrickou technikou podle Martina a Sallera (1957), Kromě tělesné výšky a hmotnosti bylo měřeno 11 délkových a výškových rozměrů, 11 šířkových rozměrů, 13 obvodových rozměrů a tloušťka 14 kožních řas kaliperem typu Best. Stanovení stupně obezity ve vztahu k BMI bylo provedeno na základě metody dle Bláhy (2003). Za mezní hodnoty BMI určující dolní hranici prvního stupně obezity byly vzaty hodnoty 97. percentilu BMI jednotlivých věkových kategorií české referenční populace podle V. Celostátního antropologického výzkumu z roku 1991. Horní hranicí prvního stupně jsou hodnoty 50. percentilu BMI subpopulace obézních

jedinců. Hranice druhého stupně jsou dány 50. a 90. percentilem obézní subpopulace. Dolní hranice třetího stupně odpovídá hodnotám BMI nad 90. percentilem obézní subpopulace (Tab. 1).

SD-skóre

Vzhledem k věkové nehomogenitě sledovaného souboru byly vybrané antropometrické parametry vyjádřeny též v normalizované podobě využitím tzv. skóre směrodatné odchylky (SD-skóre, SDS). Skóre popisuje míry extrémních odchylek od normy, tedy o kolik směrodatných odchylek je hodnocený parametr větší či menší než jeho tabelovaná průměrná hodnota (SDS \pm 2.0 představuje horní a dolní hranici širší normy a odpovídá 98., resp. 2. percentilu; SDS rovno nule odpovídá průměru).

Skóre směrodatné odchylky podle vzorce: **SDS = $x - X/SD$**

x = parametr vyšetřené dítěte

X = tabelovaná průměrná hodnota daného parametru pro daný věk a pohlaví

SD = směrodatná odchylka tabelovaného průměru parametru pro daný věk a pohlaví

Pro výpočet SDS tělesné výšky, tělesné hmotnosti, obvodu břicha, obvodu paže a BMI byly použity tabelované referenční hodnoty z 6. CAV (Bláha et al. 2005). Tabelované referenční hodnoty pro ostatní antropometrické parametry pocházejí z Československé spartakiády 1985 (Bláha et al. 1986).

Stanovení biologického věku

U části souboru byl stanoven sexuální věk. K hodnocení sexuálního vývoje byla použita metody dle Marshalla a Tannera (1969; 1970). V použití pětibodové stupnice byl posuzován vývoj zevního genitálu u chlapců, prsů u dívek a u obou pohlaví vývoj pubického ochlupení. Na základě stanovení biologického věku byly děti vzhledem ke stádiu puberty rozděleny do 3 skupin (prepubertální, pubertální, postpubertální). Při vyhodnocování Pearsonových korelací mezi antropometrickými, biochemickými a hormonálními parametry byly zařazeny pouze děti pubertální (dle Tannerova hodnocení sexuálního vývoje dosažení stupně 2 alespoň u jednoho znaku). Děti pre- a postpubertální nebyly z důvodů dosažení větší homogenity souboru a vzhledem k jejich malému počtu zařazeny.

Duální rentgenová absorpciometrie

Vyšetření metodou duální rentgenová absorpciometrie (DEXA, dual energy X-ray densitometry) bylo provedeno u dílčí srovnávací studie. Cílem bylo porovnat množství tělesného tuku (kg, %) stanoveného antropometrickými metodami (dle Matiegky; dle Pařízkové) s metodou DEXA. Množství tukové tkáně stanovené metodou DEXA bylo korelováno i s metodou podle Pařízkové. Děti byly kompletně antropometricky vyšetřeny a ve stejný den podstoupily vyšetření metodou DEXA. Měření bylo prováděno pracovníky rentgenologického oddělení Ústřední vojenské nemocnice v Praze na přístroji typu Holovic 2000. Celkem bylo antropometricky a denzitometricky vyšetřeno 52 obézních pacientů I. dětské kliniky FN Motol (21 chlapců, věk: $13,37 \pm 2,66$ roku a 31 dívek, věk: $11,80 \pm 3,79$ roku). Dále byl vyšetřen referenční soubor 27 zdravých normostenických dívek (věk: $9,76 \pm 1,14$ roku).

3.2 Biochemické a hormonální analýzy

Krevní odběr u dětí a adolescentů s nadváhou a obezitou byl proveden v Dětské léčebně Dr. L. Filipa v Poděbradech po 12 hod. lačnění mezi 7.–8. hodinou ranní na začátku a na konci pobytu. Krevní vzorky byly okamžitě za standardních podmínek transportovány do centrální biochemické laboratoře FN Motol, kde proběhly analýzy vybraných biochemických a hormonálních parametrů. Koncentrace celkového cholesterolu a leptinu byly stanoveny na počátku i na konci lázeňského pobytu. Ostatní parametry byly stanoveny pouze na počátku lázeňského pobytu. Zjištěné biochemické a hormonální parametry byly posuzovány podle referenčních norem Ústavu klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FN Motol s ohledem na věk. Referenční normy se vztahují k období, kdy byly biochemické analýzy provedeny (v letech 2001–2003).

Sledované biochemické parametry, použité metody a přístrojové vybavení uvádí tabulka 3.

Tabulka 3: Metody stanovení vybraných biochemických a hormonálních parametrů

Parametr (jednotky)	Metoda stanovení	Norma FN Motol
C-peptid (pmol/l)	chemiluminiscenční metoda souprava: C-peptid výrobce: DPC (USA) přístroj: Immulite (DPC)	300–1320
Inzulin (mU/l)	chemiluminiscenční metoda souprava: Insulin výrobce: DPC (USA) přístroj: Immulite (DPC)	<15let: 3,8–21,2 >15let: 6,0–27,00
Celkový cholesterol (mmol/l)	enzymově kolorimetrická metoda CHOD/PAP (cholesteroxidáza / p-aminoantipyrin) souprava: Cholesterol liquid výrobce: Pliva – Lachema a.s. přístroj: Bayer ADVIA 1650	<15let: 2,6–4,8 >15let: 3,4–5,2
HDL cholesterol (mmol/l)	přímé imunoinhibiční stanovení HDL cholesterolu souprava: HDL cholesterol direct liquid výrobce: Pliva – Lachema a.s. přístroj: Bayer ADVIA 1650	Chlapci <10let: 1,11–1,83 11–15let: 1,27–1,71 >15let: 0,9–1,42 Dívky <10let: 1,11–1,83 11–15let: 1,27–1,71 >15let: 1,16–1,68
LDL cholesterol (mmol/l)	přímé enzymatické selektivní stanovení LDL cholesterolu souprava: LDL Cholesterol direct liquid výrobce: Pliva – Lachema a.s.	1,60–3,40
Triacylglyceroly (mmol/l)	Enzymově kolorimetrická metoda GPO/PAP (glycerolfosfát oxidáza/p-aminoantipyrin) souprava: Triacylglyceroly liquid výrobce: Pliva – Lachema a.s. přístroj: Bayer ADVIA 1650	<15let: 1,0–1,64 >15let: 0,68–1,69
Apolipoprotein AI (g/l)	imunoturbidimetrické stanovení s použitím PEG (polyethylenglykol) souprava: Apolipoprotein A-1 (APO A) výrobce: Bayer přístroj: Bayer ADVIA 1650	Chlapci <15let: 1,28–1,76 >15let: 1,19–1,60 Dívky <15let: 1,28–1,76 >15let: 1,39–1,80
Apolipoprotein B (g/l)	imunoturbidimetrické stanovení s použitím PEG (polyethylenglykol) souprava: Apolipoprotein B (APO B) výrobce: Bayer přístroj: Bayer ADVIA 1650	Chlapci <15let: 0,61–0,94 >15let: 0,7–1,30 Dívky <15let: 0,61–1,05 >15let: 0,65–1,05
Lp(a): (mg/l)	imunoturbidimetrické stanovení soupravou Lp(a) – HA výrobce Wako Chemicals přístroj: Bayer ADVIA 1650	50-250
IGF-I (µg/l)	metoda: IRMA souprava: IGF-I výrobce: Immunotech France ruční metoda	Lebl et al. 1997, 2000
IGFBP-3 (mg/l)	metoda: IRMA souprava: IGFBP-3 výrobce: Immunotech France ruční metoda	Lebl et al. 1997, 2000
Leptin (µg/l)	metoda: RIA souprava: Linco Leptin výrobce: Linco Research, Inc. (USA) ruční metoda	není stanoveno

3.3 Molekulárně-genetické metody

Izolace DNA

Genomická DNA byla izolována z leukocytů nesrážlivé periferní krve (10 ml plné krve s 5 mmol/l K₂-EDTA) fenol-chloroformovou metodou, precipitována etanolem a rozpuštěna v TE pufru. Později byl používán kit pro izolace DNA z krve (NucleoSpin Blood kit, Macherey-Nagel, Germany). Po změření koncentrace a ověření čistoty (poměr absorbancí DNA 260 nm/proteiny 280 nm) byly roztoky DNA naředěny na pracovní koncentraci 10 ng/ul a použity pro další analýzy. DNA je uchovávána pod kódem v DNA bance při -20 °C.

PCR amplifikace

Polymerázová řetězcová reakce (PCR; Polymerase Chain Reaction) je základní molekulárně-biologická metoda, která slouží k amplifikaci studovaného úseku DNA. PCR je tvořena opakujícími se cykly, každý cyklus se skládá ze tří kroků. První zahrnuje teplotní denaturaci DNA v teplotě 92–96 °C. Druhým krokem je nasednutí (annealing) primerů v protisměrné orientaci do komplementární sekvence denaturované DNA nejčastěji při teplotách v rozmezí 50–72 °C. Třetí krok je prodlužování (elongace) řetězce od nasednutých primerů při teplotě 72° C. PCR probíhá automaticky v termocykleru (T gradient 96, Biometra).

RFLP analýza

Analýza polymorfismu délky restrikčních fragmentů (RFLP, Restriction Fragment Length Polymorfism) je metoda identifikace a charakterizace DNA pomocí štěpení speciálními enzymy, tzv. restrikčními endonukleázami s následnou elektroforetickou analýzou produktů štěpení.

3.3.3 Detekce polymorfismu Ser343Ser v genu pro *LEPR*; rs3790419

PCR amplifikace fragmentu pro restriční analýzu byla provedena s následujícími primery a za uvedených amplifikačních podmínek.

- Sekvence použitých primerů
Forward: 5'-ACTTTCCACCTAAAATTCTGACAC*G-3'
Reverse: 5'- TTCCTTCTTATAGATGCAGTG-3'
* v primeru je původní nukleotid A nahrazen za C, čímž vzniká restriční místo pro enzym MluI
- Amplifikační podmínky: Segment se sledovaným polymorfismem byl amplifikován metodou PCR v reakci o objemu 15 µl. Reakce obsahovala 20 ng genomické DNA, 0,25 µM každého z obou primerů, 2,0 mM MgCl₂ (Perkin Elmer), 200 µM dNTPs (Fermentas), 1x PCR Buffer (10x PCR Buffer, Perkin Elmer), 0,015 U Taq DNA polymerázy (5U/µl, Perkin Elmer).
- Podmínky PCR reakce byly následující: úvodní denaturace při 95 °C 10 min, následovalo 35 cyklů denaturace při 95 °C 30 s, annealing při 50 °C 45 s, elongace při 72 °C 1 min a konečná elongace při 72 °C 10 min.
- Čistota PCR produktů byla ověřována elektroforeticky na 1,5% agarózovém gelu. Gel byl obarven ethidiumbromidem a analyzován pod UV světlem.
- RFLP: Výsledný 68 bp dlouhý PCR produkt byl štěpen restriční endonukleázou MluI (Fermentas) za podmínek doporučených výrobcem. V případě, že vzorek obsahuje variantní alelu C, dochází ke štěpení fragmentu na dva o velikosti 23 bp a 45 bp. V přítomnosti wild-type alely T zůstává fragment o 68 bp nerozštěpen (Obr. 14)
- Produkty štěpení byly detekovány pomocí ethidiumbromidu pod UV světlem po horizontální elektroforéze v 3,0% agarózovém gelu (MetaPhor® Agarose, Cambrex Bio Science).

Obrázek 14: Specifická sekvence nukleotidů rozpoznávaná restriční endonukleázou MluI (použito pro vyhodnocení polymorfismu Ser343Ser v genu pro *LEPR*; rs3790419)



3.3.4 Detekce polymorfismu Leu162Val v genu pro *PPAR-alfa*; rs1800206

PCR amplifikace fragmentu pro restriční analýzu byla provedena s následujícími primery a za uvedených amplifikačních podmínek.

- Sekvence použitých primerů
Forward: 5'-AAACTCAACGACACTCTCCTT-3'
Reverse: 5'-TGAAGTACATTAGAGGTGAC-3'
- Amplifikační podmínky: Segment se sledovaným polymorfismem byl amplifikován metodou PCR v reakci o objemu 15 μ l. Reakce obsahovala 20 ng genomické DNA, 0,25 μ M každého z obou primerů, 1,5 mM $MgCl_2$ (Perkin Elmer), 200 μ M dNTPs (Fermentas), 1x PCR Buffer (10x PCR Buffer, Perkin Elmer), 0,015 U Taq DNA polymerázy (5U/ μ l, Perkin Elmer).
- Podmínky PCR reakce byly následující: úvodní denaturace při 95 °C 10 min, následovalo 35 cyklů denaturace při 95 °C 30 s, annealing při 58 °C 45 s, elongace při 72 °C 1 min a konečná elongace při 72 °C 10 min.
- Čistota PCR produktů byla ověřována elektroforeticky na 1,5% agarózovém gelu. Gel byl obarven ethidiumbromidem a analyzován pod UV světlem.
- RFLP: Výsledný 253 bp dlouhý PCR produkt byl štěpen restriční endonukleázou *HinfI* (New England BioLabs) za podmínek doporučených výrobcem. V případě, že vzorek obsahuje variantní alelu A, dochází ke štěpení fragmentu na dva o velikosti 219 bp a 34 bp. V přítomnosti wild-type alely G zůstává fragment o 253 bp nerozštěpen (Obr. 15)
- Produkty štěpení byly detekovány pomocí ethidiumbromidu pod UV světlem po horizontální elektroforéze v 3,5% agarózovém gelu (MetaPhor® Agarose, Cambrex Bio Science).

Obrázek 15: Specifická sekvence nukleotidů rozpoznávaná restriční endonukleázou *HinfI* (použito pro vyhodnocení polymorfismu Leu162Val v genu pro *PPAR-alfa*; rs1800206)



3.4 Statistické analýzy

Získaná antropometrická, biochemická, hormonální a genetická data byla ze záznamních listů přenesena do elektronické databáze. Antropometrická data byla vyhodnocena pomocí počítačového programu ANTROPO (Bláha 1991). Výstup tohoto programu kompletně postihuje tělesný rozvoj jednotlivců a umožňuje i vyhodnocení celých souborů probandů podle řady volitelných kritérií, které je možné kombinovat. Samotné statistické zpracování veškerých základních charakteristik bylo provedeno v programu *Statistica 6.0* a *NCSS97*.

Pro měření síly předpokládané lineární závislosti antropometrických a biochemických znaků byl použit Pearsonův korelační koeficient párově ze dvojic znaků. Pro měření síly předpokládané lineární závislosti IGF-I na dalších parametrech byl použit parciální korelační koeficient. Parciální korelace r udává, jakou měrou určitá nezávislá proměnná přispěla k vysvětlující síle R . Druhá mocnina korelačního koeficientu (R^2) se nazývá koeficient determinace a vysvětluje, kolika procenty se podílí sledovaný faktor na výsledné závislosti. Parciální korelace je vždy menší, než prostý korelační koeficient, protože je očištěna od vlivu přidružené proměnné (v našem případě věk a BMI).

Pro hodnocení změn biochemických a antropometrických parametrů na počátku a konci pobytu byl zvolen Wilcoxonův neparametrický t-test, neboť data nesplňovala podmínku normálního rozdělení.

Pro posouzení změny vybraných antropometrických parametrů na počátku a na konci pobytu mezi jednotlivými věkovými kategoriemi byl použit Kruskal-Wallisův neparametrický test, který umožňuje identifikovat, které věkové kategorie se od sebe významně liší.

4 Výsledky

4.1 Ad cíl 1: Vyhodnocení hmotnostních změn a změn v tělesném složení během redukčního programu

V rámci řešení projektu bylo na počátku a na konci léčebného pobytu kompletně antropometricky vyšetřeno celkem 180 chlapců a 345 dívek. V tabulkách 4 a 5 jsou uvedeny hodnoty tělesné výšky, hmotnosti a BMI chlapců a dívek na počátku terapie rozdělené dle věkových kategorií.

Tabulky 6 a 7 charakterizují soubor chlapců a dívek na počátku terapie dle stupňů obezity stanovených na základě hodnot BMI (Bláha a Vignerová 2003). Kritéria pro první stupeň obezity splňovalo 62 chlapců a 151 dívek, pro druhý stupeň 76 chlapců a 143 dívek a pro třetí stupeň 33 chlapců a 51 dívek.

Tělesná výška sledovaného souboru byla v pásmu normy ($\pm 1SD$) při srovnání s českou dětskou a adolescentní populací odpovídajících věkových kategorií (průměrné SDS tělesné výšky: 0,72 chlapci; 0,59 dívky) (Tab. 8 a 9). Průměrné SDS tělesné hmotnosti převyšuje širší pásmo normy ($\pm 2SD$) velmi vysoko na počátku i konci léčby (chlapci: 3,99 na počátku léčby, 2,87 na konci léčby; dívky: 3,86 na počátku, 2,87 na konci). Toto je dáno zejména vysokým podílem tukové tkáně stanovené podle Matiegky (chlapci: 5,73 na počátku, 3,80 na konci; dívky: 4,40 na počátku, 2,74 na konci), protože průměrný podíl svalové složky (v kilogramech) se pohybuje v pásmu 1,51–1,91 SDS (Tab. 8 a 9). Všechny sledované antropometrické parametry, mimo tělesné výšky, se signifikantně snížily u chlapců i dívek. Během léčebného pobytu došlo k poklesu hmotnosti u chlapců o 10,3–12,7 %, u dívek o 8,6–11,7 % z počáteční tělesné hmotnosti. Pokles hodnot BMI je obdobný (data nejsou znázorněna).

Při hodnocení úspěšnosti v redukci tělesné hmotnosti a ve změnách tělesného složení byly z důvodů malé četnosti spojeny věkové kategorie 7, 8, 9 let a 16, 17 let dohromady. Kruskal-Wallisův neparametrický test prokázal signifikantní rozdíly v úbytcích tělesné hmotnosti po 5–6týdenním pobytu vyjádřených v procentech z tělesné hmotnosti na počátku sledování ve skupině obézních dívek ($p < 0,001$). Signifikantně vyšších úbytků vzhledem k počáteční tělesné hmotnosti dosáhly dívky v nejmladší spojené věkové kategorii oproti dívkám ve vyšších věkových kategoriích:

- 7–9 let (medián úbytku: 4,81 % z tělesné hmotnosti na počátku)
- vs.
- 11 let (medián úbytku: 2,85 % z tělesné hmotnosti na počátku, $p < 0,05$)
- 12 let (medián úbytku: 2,54 % z tělesné hmotnosti na počátku, $p < 0,05$)
- 13 let (medián úbytku: 3,07 % z tělesné hmotnosti na počátku, $p < 0,05$)
- 14 let (medián úbytku: 2,77 % z tělesné hmotnosti na počátku, $p < 0,05$)
- 15 let (medián úbytku: 3,10 % z tělesné hmotnosti na počátku, $p < 0,05$)
- 16–17 let (medián úbytku: 2,17 % z tělesné hmotnosti na počátku, $p < 0,05$).

Sedmileté obézní dívky rovněž vykázaly signifikantně větší snížení BMI ve srovnání s šestnáctiletými dívkami (medián úbytku: 3,09 resp. 2,30 kg/m²; $p < 0,05$). V dalších parametrech charakterizujících změny tělesného složení hodnocených na počátku a na konci pobytu, konkrétně množství tuku stanovené podle Matiegky (% , kg) a Pařízkové (%), množství svalové tkáně stanovené podle Matiegky (% , kg), se neprojevíly signifikantní rozdíly mezi jednotlivými věkovými kategoriemi obézních dívek.

U obézních chlapců byl pozorován obdobný trend, tzn. v nejmladších věkových kategoriích byly úbytky tělesné hmotnosti po 5–6týdenním pobytu vyjádřené v procentech z tělesné hmotnosti na počátku pozorování větší ve srovnání se staršími chlapci, nicméně tyto rozdíly nebyly v žádném ze sledovaných parametrů signifikantní.

Při analýze intersexuálních rozdílů ve změně tělesného složení bylo zjištěno, že obézní dívky vykazovaly ve většině věkových kategoriích větší úbytky tuku (měřeno metodou dle Pařízkové) ve srovnání s obézními chlapci:

- 7–9 let (medián úbytku dívky vs. chlapci: 4,75 vs. 2,9 %, $p < 0,01$)
- 11 let (medián úbytku dívky vs. chlapci: 4,0 vs. 2,25 %, $p < 0,01$)
- 12 let (medián úbytku dívky vs. chlapci: 4,0 vs. 2,95 %, $p < 0,01$)
- 13 let (medián úbytku dívky vs. chlapci: 3,07 vs. 2,21 %, $p < 0,01$)
- 14 let (medián úbytku dívky vs. chlapci: 3,4 vs. 2,21 %, $p < 0,01$)
- 15 let (medián úbytku dívky vs. chlapci: 3,65 vs. 2,0 %, $p < 0,01$)

Podkožní tuková hmota v porovnání se svalovou hmotou ubyla výrazně více, a to v poměru úbytků 12,3 : 1 u dívek a 8,4 : 1 u chlapců, tzn. že dívky měly 1,5 x vyšší úbytek podkožní tukové tkáně vůči svalové (stanoveno Matiegkovou metodou).

Tabulka 4: Tělesná výška, hmotnost a BMI na počátku lázeňského redukčního pobytu – chlapci s nadváhou a obezitou – rozdělení dle věkových skupin

Věková skupina	Chlapci	Tělesná výška (cm)		Hmotnost (kg)		BMI (kg/m ²)	
	(n)	$\bar{x} \pm SD$	SDS	$\bar{x} \pm SD$	SDS	$\bar{x} \pm SD$	SDS
7	4	137,2 ± 7,56	1,55	49,5 ± 9,64	4,43	26,1 ± 3,17	4,52
8	4	140,8 ± 5,11	1,16	55,0 ± 8,47	4,39	27,6 ± 3,35	4,67
9	9	138,4 ± 4,40	-0,08	50,6 ± 7,73	2,44	26,3 ± 3,01	3,39
10	16	150,5 ± 7,88	0,93	64,1 ± 12,73	3,43	28,1 ± 3,98	3,58
11	28	152,6 ± 7,34	0,40	65,3 ± 12,34	2,66	27,9 ± 3,77	3,19
12	20	159,9 ± 6,64	0,37	73,9 ± 14,38	2,58	28,7 ± 4,04	3,20
13	32	165,4 ± 7,61	0,19	81,7 ± 13,22	2,67	29,7 ± 3,35	3,47
14	17	170,8 ± 7,36	-0,02	96,0 ± 18,63	3,46	32,7 ± 4,70	4,46
15	12	177,9 ± 7,22	0,22	104,4 ± 17,90	3,78	33,0 ± 5,16	4,34
16	3	180,0 ± 5,24	0,18	106,4 ± 15,16	3,76	32,7 ± 2,88	4,34
17	8	181,5 ± 8,34	0,20	109,2 ± 17,03	3,86	33,0 ± 3,41	4,12

Tabulka 5: Tělesná výška, hmotnost a BMI na počátku lázeňského redukčního pobytu – dívky s nadváhou a obezitou – rozdělení dle věkových skupin

Věková skupina	Dívky	Tělesná výška (cm)		Hmotnost (kg)		BMI (kg/m ²)	
	(n)	$\bar{x} \pm SD$	SDS	$\bar{x} \pm SD$	SDS	$\bar{x} \pm SD$	SDS
7	8	130,5 ± 5,53	0,60	43,6 ± 8,46	3,48	25,6 ± 4,34	4,12
8	5	134,7 ± 7,79	0,32	48,4 ± 5,38	3,36	26,9 ± 4,08	4,27
9	12	143,0 ± 6,53	0,72,	57,7 ± 11,34	3,73	28,2 ± 5,05	4,37
10	19	150,7 ± 5,61	0,86	59,3 ± 9,89	2,77	26,0 ± 3,36	2,93
11	37	154,4 ± 8,41	0,45	67,0 ± 12,53	2,78	28,0 ± 3,93	3,25
12	27	161,9 ± 6,33	0,59	72,9 ± 10,35	2,82	27,8 ± 3,31	2,97
13	50	164,5 ± 7,09	0,39	82,2 ± 12,44	3,49	30,4 ± 4,22	3,82
14	38	164,7 ± 5,25	0,01	81,9 ± 11,85	3,16	30,2 ± 3,89	3,61
15	32	165,9 ± 7,24	-0,05	85,3 ± 14,54	3,53	30,9 ± 4,32	4,06
16	25	166,1 ± 8,13	-0,14	81,3 ± 13,29	2,92	29,4 ± 4,04	3,33
17	25	165,6 ± 6,74	-0,25	82,2 ± 12,31	2,86	30,1 ± 5,62	3,28

Tabulka 6: Základní antropometrické charakteristiky na počátku lázeňského redukčního pobytu – chlapci s nadváhou a obezitou – rozdělení dle stupně obezity

Chlapci: začátek pobytu			
Parametr	1. stupeň obezity (n = 71)	2. stupeň obezity (n = 76)	3. stupeň obezity (n = 33)
	SDS	SDS	SDS
Tělesná hmotnost (kg)	3,31	4,44	6,29
Tělesná výška (cm)	0,59	0,81	1,17
BMI (m/kg²)	3,95	5,20	6,50
Tuk (kg) Matiegka	4,92	6,26	7,93
Tuk (%) Matiegka	4,80	6,10	7,50
Sval (kg) Matiegka	1,19	2,37	3,06
Sval (%) Matiegka	- 4,14	- 4,57	- 5,38
Tuk (%) Pařízková	1,96	2,12	2,39
Obvod hrudníku (cm)	3,14	3,99	5,46
Obvod břicha (cm)	4,02	5,12	6,46
Obvod gluteální (cm)	3,10	4,03	5,31
Obvod paže relax. (cm)	2,57	3,37	4,49
Obvod stehna stř. (cm)	2,64	3,67	4,88
Kožní řasa: biceps (mm)	3,84	4,49	5,85
Kožní řasa: triceps (mm)	2,86	3,49	4,33
Kožní řasa: subskapulární (mm)	3,87	4,56	5,43
Kožní řasa: břicho (mm)	5,01	6,19	6,34
Kožní řasa: suprailiální (mm)	4,32	5,28	5,95

Tabulka 7: Základní antropometrické charakteristiky na počátku lázeňského redukčního pobytu – dívky s nadváhou a obezitou – rozdělení dle stupně obezity

Dívky: začátek pobytu			
Parametr	1. stupeň obezity (n = 151)	2. stupeň obezity (n = 143)	3. stupeň obezity (n = 51)
	SDS	SDS	SDS
Tělesná hmotnost (kg)	2,71	4,32	6,04
Tělesná výška (cm)	0,60	0,62	0,49
BMI (m/kg²)	2,75	3,48	6,90
Tuk (kg) Matiegka	3,14	4,92	5,78
Tuk (%) Matiegka	3,92	4,80	5,78
Sval (kg) Matiegka	1,37	2,06	3,03
Sval (%) Matiegka	- 3,61	- 4,56	- 5,53
Tuk (%) Pařízková	2,37	3,18	3,75
Obvod hrudníku (cm)	2,41	3,73	3,73
Obvod břicha (cm)	2,42	3,81	3,81
Obvod gluteální (cm)	2,42	3,72	3,73
Obvod paže relax. (cm)	1,98	3,12	3,12
Obvod stehna stř. (cm)	2,01	3,12	3,18
Kožní řasa: biceps (mm)	2,74	3,58	4,77
Kožní řasa: triceps (mm)	1,69	2,46	3,30
Kožní řasa: subskapulární (mm)	2,42	3,27	4,59
Kožní řasa: břicho (mm)	3,37	4,32	6,02
Kožní řasa: suprailiakální (mm)	2,81	3,79	5,12

Tabulka 8: Základní antropometrické charakteristiky na počátku a na konci lázeňského redukčního pobytu – chlapci s nadváhou a obezitou

Chlapci (n = 180)			
Parametr	Začátek pobytu	Konec pobytu	p*
	SDS	SDS	
Tělesná hmotnost (kg)	3,99	2,87	< 0, 01
Tělesná výška (cm)	0,72	0,65	NS
BMI (m/kg²)	4,10	2,92	< 0, 01
Tuk (kg) Matiegka	5,73	3,80	< 0, 01
Tuk (%) Matiegka	3,47	2,37	< 0, 01
Sval (kg) Matiegka	1,91	1,62	< 0, 01
Sval (%) Matiegka	- 4,54	- 3,09	< 0, 01
Tuk (%) Pařízková	1,81	1,35	< 0, 01
Obvod hrudníku (cm)	3,70	2,87	< 0, 01
Obvod břicha (cm)	4,65	3,62	< 0, 01
Obvod gluteální (cm)	3,60	2,72	< 0, 01
Obvod paže relax. (cm)	3,05	2,18	< 0, 01
Obvod stehna stř. (cm)	3,29	2,49	< 0, 01
Kožní řasa: biceps (mm)	4,38	2,80	< 0, 01
Kožní řasa: triceps (mm)	3,30	2,19	< 0, 01
Kožní řasa: subskapulární (mm)	4,31	3,03	< 0, 01
Kožní řasa: břicho (mm)	5,64	3,85	< 0, 01
Kožní řasa: suprailiální (mm)	4,89	3,46	< 0, 01

* hodnoceno pomocí Wilcoxonova-Whiteova testu

Tabulka 9: Základní antropometrické charakteristiky na počátku a na konci lázeňského redukčního pobytu – dívky s nadváhou a obezitou

Dívky (n = 345)			
Parametr	Začátek pobytu	Konec pobytu	p*
	SDS	SDS	
Tělesná hmotnost (kg)	3,86	2,87	< 0, 01
Tělesná výška (cm)	0,59	0,56	NS
BMI (m/kg²)	4,10	3,94	< 0, 01
Tuk (kg) Matiegka	4,40	2,74	< 0, 01
Tuk (%) Matiegka	3,93	2,54	< 0, 01
Sval (kg) Matiegka	1,76	1,51	< 0, 01
Sval (%) Matiegka	- 4,15	- 2,79	< 0, 01
Tuk (%) Pařízková	2,85	2,02	< 0, 01
Obvod hrudníku (cm)	3,35	2,63	< 0, 01
Obvod břicha (cm)	3,46	2,54	< 0, 01
Obvod gluteální (cm)	3,37	2,53	< 0, 01
Obvod paže relax. (cm)	2,78	1,93	< 0, 01
Obvod stehna stř. (cm)	2,83	2,08	< 0, 01
Kožní řasa: biceps (mm)	3,26	2,00	< 0, 01
Kožní řasa: triceps (mm)	2,15	1,34	< 0, 01
Kožní řasa: subskapulární (mm)	2,93	2,05	< 0, 01
Kožní řasa: břicho (mm)	3,97	2,65	< 0, 01
Kožní řasa: suprailiální (mm)	3,42	2,32	< 0, 01

* hodnoceno pomocí Wilcoxonova-Whiteova testu

4.2 Ad cíl 2: Vyhodnocení porovnání množství tělesného tuku stanoveného antropometrickými metodami a metodou DEXA

Tabulka 10 na následující straně uvádí základní antropometrické charakteristiky obézních a štíhlých jedinců, u kterých bylo porovnáváno množství celkového tělesného tuku zjištěného metodou DEXA a metodami podle Matiegky a Pařízkové. Průměrné procento tuku stanovené metodou DEXA je jak u souboru obézních chlapců, tak u souboru obézních dívek, statisticky významně vyšší, oproti stanovením podle Matiegkových rovnic ($p < 0,001$), a zvláště pak oproti průměrnému procentu tuku určenému podle modifikované metody Pařízkové ($p < 0,001$). U referenčního souboru dívek je trend podobný. Průměrné procento tuku podle metody DEXA referenčního souboru dívek je vyšší, oproti průměrné hodnotě podle Matiegkových rovnic ($p < 0,001$) i oproti průměrné hodnotě metody podle Pařízkové ($p < 0,001$).

Tabulky 11 a 12 uvádějí výsledky Pearsonovy korelační analýzy množství celkového tělesného tuku metodou DEXA a metodami podle Matiegky a Pařízkové. Přes patrné rozdíly (Tab. 10) spolu výsledky metodik významně pozitivně korelují. Signifikantní byla i korelace BMI s množstvím tukové tkáně stanovené metodou DEXA. Bohužel se nám nepodařilo sjednotit věkově všechny tři sledované soubory (obézní chlapci, obézní dívky, referenční soubor dívek). Dívky z referenčního souboru jsou významně mladší než obézní chlapci i dívky ($p < 0,01$). Nicméně, smyslem dílčí studie bylo porovnat výsledky, které poskytují srovnávané studie uvnitř skupin. Výsledné analýzy tudíž tento fakt neovlivnil.

Tabulka 10. Základní antropometrické charakteristiky – obézní chlapci a dívky, normostenické dívky – dílčí soubor

Parametr	Obézní chlapci (n = 21)		Obézní dívky (n = 31)		Normostenické dívky (n = 27)	
	x ± SD	SDS	x ± SD	SDS	x ± SD	SDS
Věk	13,37 ± 2,66		11,80 ± 3,79		9,76 ± 1,14	
Tělesná hmotnost (kg)	78,4 ± 22,71	3,52	63,6 ± 20,83	3,54	34,2 ± 10,95	0,25
Tělesná výška (cm)	163,9 ± 14,71	0,68	150,6 ± 17,55	0,52	151,2 ± 10,65	0,35
BMI (m/kg²)	28,63 ± 4,703		27,14 ± 3,905		16,77 ± 3,22	
Tuk (kg) DEXA	30,06 ± 9,96		27,0 ± 19,47		10,15 ± 4,83	
Tuk (%) DEXA	41,19 ± 4,76		43,70 ± 6,44		28,47 ± 8,43	
Tuk (kg) Matiegka	26,68 ± 9,88	4,93	22,13 ± 7,20	3,99	10,60 ± 5,12	1,25
Tuk (%) Matiegka	33,74 ± 5,68		35,49 ± 5,80		25,13 ± 5,64	
Sval (kg) Matiegka	27,04 ± 8,09	1,51	20,79 ± 8,27	1,41	11,85 ± 3,91	-0,49
Sval (%) Matiegka	34,62 ± 4,05		32,19 ± 4,63		34,52 ± 3,14	
Tuk (%) Pařízková	22,3 ± 1,96		28,7 ± 2,68		17,9 ± 5,24	
Obvod hrudníku (cm)	95,1 ± 12,52	3,03	87,0 ± 11,45	3,07	67,8 ± 8,98	0,37
Obvod břicha (cm)	97,3 ± 12,02	4,27	85,4 ± 11,31	3,14	62,9 ± 10,21	0,36
Obvod gluteální (cm)	102,2 ± 45,09	3,41	96,6 ± 1,06	3,11	73,1 ± 9,56	0,18
Obvod paže relax. (cm)	29,9 ± 4,02	2,67	27,3 ± 3,65	2,62	20,5 ± 3,21	0,19
Obvod stehna stř. (cm)	57,0±6,13	3,01	52,7±8,82	2,44	39,8±5,84	0,20

Tabulka 11: Pearsonovy korelace mezi množstvím tukové tkáně stanovené metodou podle Matiegky (%) a Pařízkové (%) s hodnotami, které poskytuje metoda DEXA (%)

		tuk (%) Matiegka vs. tuk (%) DEXA	tuk (%) Pařízková vs. tuk (%) DEXA
Obézní dívky n = 31	r p	0,557 p<0,001	0,448 p<0,0001
Obézní chlapci n = 21	r p	0,551 p<0,0001	0,336 p<0,0001
Normostenické dívky n = 27	r p	0,704 p<0,001	0,881 p<0,0001

Tabulka 12: Pearsonovy korelace mezi množstvím tukové tkáně stanovené metodou podle Matiegky (kg) a BMI (kg/m²) s hodnotami, které poskytuje metoda DEXA (kg)

		tuk (kg) Matiegka vs. tuk (kg) DEXA	BMI (kg/m ²) vs. tuk (kg) DEXA
Obézní dívky n = 31	r p	0,602 p<0,001	0,841 p<0,0001
Obézní chlapci n = 21	r p	0,514 p<0,0001	0,498 p<0,0001
Normostenické dívky n = 27	r p	0,908 p<0,001	0,934 p<0,0001

4.3 Ad cíl 3: Vyhodnocení sledovaných biochemických a hormonálních parametrů

Tabulky 13 a 14 udávají průměrné hodnoty a SD sledovaných biochemických a hormonálních parametrů na počátku lázeňského pobytu zvlášť pro obě pohlaví a jednotlivé věkové kategorie. Tabulky 15 a 16 uvádějí průměrné hodnoty celkového cholesterolu a leptinu na počátku a na konci lázeňského pobytu zvlášť pro obě pohlaví a jednotlivé věkové kategorie. Hladiny celkového cholesterolu i leptinu během léčby signifikantně poklesly u chlapců i dívek. Obrázek 16 popisuje signifikantní pokles hladin sérového leptinu i u dílčího souboru chlapců a dívek. Signifikantní pozitivní korelaci mezi hladinami sérového leptinu a tělesnou hmotností znázorňuje obrázek 17. Výsledky byly popsány a publikovány (Bronský et al. 2007).

Tabulka 13: Základní parametry metabolismu lipidů a sacharidů na počátku lázeňského pobytu – soubor chlapců s obezitou a nadváhou

Věk	n	HDL-C (mmol/l)	LDL-C (mmol/l)	apoAI (g/l)	apoB (g/l)	Lp (a) (mg/l)	TG (mmol/l)	C-peptid (pmol/l)	Inzulín (mU/l)
7	4	1,5 ± 0,81	3,1 ± 0,93	1,4 ± 0,12	1,0 ± 0,27	250,5 ± 156,38	0,7 ± 0,31	868,0 ± 104,80	5,4 ± 2,65
8	3	1,3 ± 0,49	2,2 ± 0,17	1,4 ± 0,11	0,7 ± 0,08	--	0,8 ± 0,36	481,0 ± 69,09	5,4 ± 1,87
9	9	1,2 ± 0,31	2,9 ± 0,62	1,3 ± 0,14	0,8 ± 0,15	329,5 ± 456,92	0,7 ± 0,31	560,7 ± 323,71	4,8 ± 3,58
10	14	1,2 ± 0,21	2,6 ± 0,51	1,2 ± 0,10	0,8 ± 0,14	83,4 ± 44,85	1,0 ± 0,49	623,4 ± 399,65	6,2 ± 1,98
11	20	1,6 ± 1,11	2,6 ± 1,00	1,3 ± 0,10	1,0 ± 0,63	503,6 ± 438,99	1,1 ± 0,62	634,1 ± 383,42	8,6 ± 7,86
12	18	1,3 ± 0,32	2,7 ± 0,59	1,2 ± 0,14	0,8 ± 0,18	302,5 ± 332,26	1,0 ± 0,63	676,1 ± 554,39	9,4 ± 9,01
13	24	1,1 ± 0,23	2,9 ± 1,41	1,9 ± 0,14	0,8 ± 0,28	340,3 ± 262,33	0,9 ± 0,65	836,2 ± 470,03	10,6 ± 14,48
14	15	1,2 ± 0,24	2,9 ± 0,64	1,2 ± 0,13	0,9 ± 0,20	398,1 ± 535,82	1,2 ± 0,65	820,5 ± 368,44	8,7 ± 4,75
15	12	1,1 ± 0,25	3,0 ± 1,05	1,1 ± 0,14	0,9 ± 0,30	230,0 ± 111,15	1,2 ± 0,61	902,8 ± 489,03	7,6 ± 4,52
16	3	1,5 ± 0,14	3,2 ± 1,05	1,8 ± 0,09	1,0 ± 0,37	173,7 ± 125,05	1,7 ± 0,89	1012,7 ± 838,1	9,6 ± 7,29
17	7	1,3 ± 0,30	3,5 ± 0,88	1,9 ± 0,09	1,1 ± 0,39	207,3 ± 182,32	1,0 ± 0,27	896,0 ± 328,91	8,4 ± 2,71

Věk 7 = 7,01-7,99 let; apoAI, apolipoprotein AI; apoB apolipoprotein B; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; Lp(a), lipoprotein a; TG, triacylglyceroly.

Tabulka 14: Základní parametry metabolismu lipidů a sacharidů na počátku lázeňského pobytu – soubor dívek s obezitou a nadváhou

Věk	n	HDL-C (mmol/l)	LDL-C (mmol/l)	apoAI (g/l)	apoB (g/l)	Lp (a) (mg/l)	TG (mmol/l)	C-peptid (pmol/l)	Inzulín (mU/l)
7	7	1,2 ± 0,32	2,5 ± 0,59	1,2 ± 0,16	0,7 ± 0,13	99,9 ± 82,09	0,8 ± 0,17	659,3 ± 476,59	5,2 ± 3,13
8	5	1,1 ± 0,16	3,0 ± 0,62	1,1 ± 0,11	0,9 ± 0,20	272,3 ± 192,25	1,0 ± 0,23	501,4 ± 209,38	4,1 ± 2,25
9	10	1,1 ± 0,29	2,8 ± 0,82	1,2 ± 0,12	0,8 ± 0,20	181,4 ± 215,29	1,1 ± 0,59	581,4 ± 314,56	7,3 ± 2,79
10	16	1,1 ± 0,36	2,2 ± 0,54	1,2 ± 0,12	0,7 ± 0,11	345,1 ± 319,32	0,8 ± 0,26	590,7 ± 162,04	5,9 ± 2,18
11	30	1,2 ± 0,31	2,8 ± 0,59	1,2 ± 0,14	0,9 ± 0,22	262,8 ± 290,99	1,1 ± 0,73	819,0 ± 320,35	8,8 ± 6,98
12	18	1,3 ± 0,30	2,8 ± 0,94	1,2 ± 0,14	0,8 ± 0,25	456,2 ± 538,32	0,9 ± 0,46	782,9 ± 287,93	7,1 ± 3,17
13	45	1,2 ± 0,34	2,4 ± 0,73	1,2 ± 0,12	0,8 ± 0,25	286,1 ± 316,67	1,0 ± 0,55	837,8 ± 364,72	7,7 ± 3,66
14	31	1,2 ± 0,32	2,5 ± 0,64	1,2 ± 0,18	0,8 ± 0,16	433,2 ± 600,93	0,9 ± 0,45	868,5 ± 492,41	8,2 ± 6,35
15	29	1,2 ± 0,25	2,7 ± 0,74	1,2 ± 0,11	0,8 ± 0,25	267,1 ± 498,15	1,0 ± 0,46	762,1 ± 438,68	7,5 ± 3,39
16	19	1,3 ± 0,30	2,6 ± 1,08	1,3 ± 0,10	0,9 ± 0,34	330,1 ± 479,65	0,9 ± 0,46	626,2 ± 318,54	5,3 ± 3,30
17	23	1,2 ± 0,24	2,9 ± 0,88	1,2 ± 0,17	1,0 ± 0,37	559,9 ± 784,24	1,0 ± 0,42	682,4 ± 367,20	6,5 ± 2,53

Věk 7 = 7,01-7,99 let; apoAI, apolipoprotein AI; apoB apolipoprotein B; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; Lp(a), lipoprotein a; TG, triacylglyceroly.

Tabulka 15: Koncentrace celkového cholesterolu a leptinu na počátku a konci lázeňského pobytu – soubor chlapců s obezitou a nadváhou

Věková kategorie	n	TC – začátek (mmol/l)	TC – konec (mmol/l)	p	Leptin – začátek (µg/l)	Leptin- konec (µg/l)	p
7	4	5,2 ± 1,18	3,9 ± 0,85	< 0,001	16,2 ± 4,90	4,4 ± 2,26	< 0,001
8	3	4,5 ± 0,27	3,0 ± 0,35		22,6 ± 10,20	5,5 ± 5,66	
9	9	4,8 ± 0,95	3,6 ± 0,74		15,9 ± 9,59	4,7 ± 2,02	
10	14	4,4 ± 0,55	3,4 ± 0,36	< 0,001	18,2 ± 7,86	6,2 ± 2,50	< 0,001
11	20	4,8 ± 1,30	3,6 ± 1,01	< 0,001	15,4 ± 7,22	5,5 ± 2,13	< 0,001
12	18	4,7 ± 0,78	3,4 ± 0,40	< 0,001	17,4 ± 7,84	6,6 ± 3,19	< 0,001
13	24	4,6 ± 1,37	3,3 ± 0,87	< 0,001	19,5 ± 14,40	7,1 ± 4,60	< 0,001
14	15	4,6 ± 0,85	3,4 ± 0,66	< 0,001	19,4 ± 11,47	9,2 ± 5,63	< 0,001
15	12	4,9 ± 1,28	3,4 ± 0,79	< 0,002	18,6 ± 6,91	8,4 ± 4,33	< 0,005
16	3	5,2 ± 1,41	3,6 ± 0,84	< 0,002	15,0 ± 8,57	6,4 ± 2,26	< 0,002
17	7	5,4 ± 1,29	3,6 ± 0,32		12,6 ± 5,07	5,8 ± 3,56	

Věková kategorie 7 = 7,01–7,99 let; TC, celkový cholesterol;

*při hodnocení změn na počátku a konci pobytu byly z důvodů nízké četnosti věkové kategorie 7, 8 a 9 let, resp. 16 a 17 let spojeny dohromady

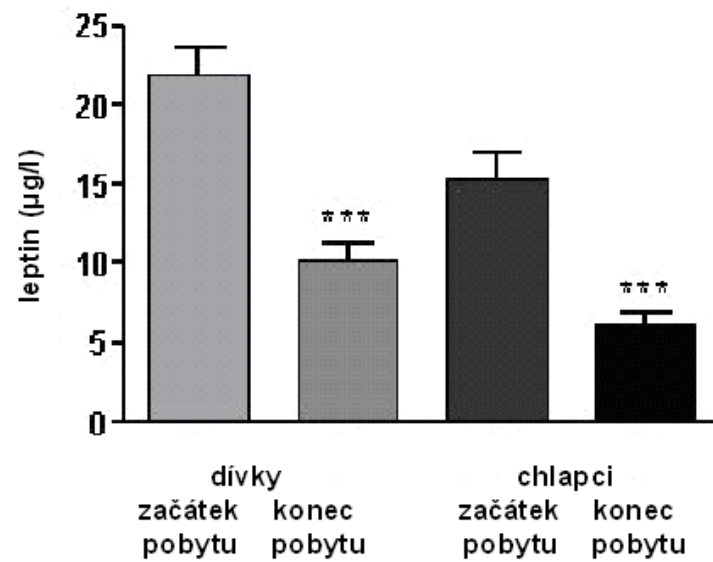
Tabulka 16: Koncentrace celkového cholesterolu a leptinu na počátku a konci lázeňského pobytu – soubor dívek s obezitou a nadváhou

Věková kategorie	n	TC: začátek (mmol/l)	TC: konec (mmol/l)	p	Leptin: začátek (µg/l)	Leptin: konec (µg/l)	p
7	7	4,3 ± 0,67	3,6 ± 0,98	< 0,001	13,3 ± 6,66	6,4 ± 4,97	< 0,001
8	5	4,6 ± 0,83	3,5 ± 0,74		19,5 ± 7,80	6,2 ± 2,49	
9	10	4,9 ± 1,11	3,9 ± 1,23		22,3 ± 9,87	10,6 ± 7,1	
10	16	4,2 ± 0,53	3,3 ± 0,54	< 0,001	17,5 ± 8,35	7,9 ± 2,81	< 0,001
11	30	4,7 ± 0,87	3,6 ± 0,59	< 0,001	24,6 ± 13,2	10,2 ± 5,2	< 0,001
12	18	4,6 ± 1,05	3,7 ± 0,83	< 0,001	24,1 ± 8,04	11,7 ± 4,3	< 0,001
13	45	4,3 ± 0,90	3,4 ± 0,57	< 0,001	26,5 ± 9,15	12,3 ± 5,6	< 0,001
14	31	4,3 ± 0,78	3,4 ± 0,69	< 0,001	24,9 ± 12,1	11,5 ± 6,4	< 0,001
15	29	4,3 ± 0,84	3,5 ± 0,62	< 0,001	24,2 ± 12,0	13,1 ± 6,2	< 0,001
16	19	4,3 ± 1,16	3,8 ± 1,12	< 0,001	23,2 ± 16,2	13,8 ± 8,4	< 0,001
17	23	4,7 ± 1,09	4,0 ± 0,90		24,3 ± 22,	15,6 ± 19,1	

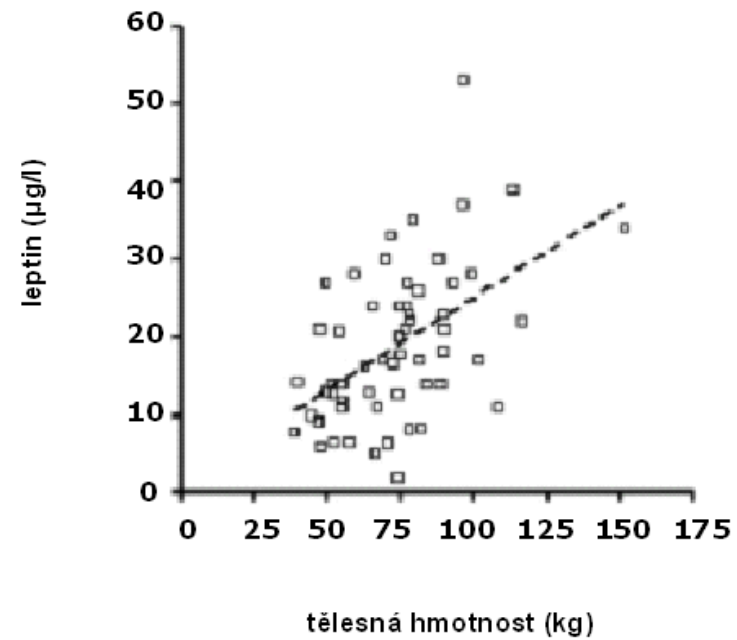
Věková kategorie 7 = 7,00–7,99 let; TC, celkový cholesterol;

*při hodnocení změn na počátku a konci pobytu byly z důvodů nízké četnosti věkové kategorie 7, 8 a 9 let, resp. 16 a 17 let spojeny dohromady

Obrázek 16: Hladiny leptinu na počátku a konci pobytu u dívek a chlapců, částečné výsledky (Bronský et al. 2007)



Obrázek 17: Pozitivní korelace mezi hladinami sérového leptinu a tělesnou hmotností ($r = 0,5068$, $p > 0,0001$), částečné výsledky (Bronský et al. 2007)



Tabulky 17–33 informují o absolutním a relativním zastoupení jedinců, u nichž se hodnoty sledovaných biochemických a hormonálních parametrů nacházejí v / mimo referenčním rozmezí (normu) udávané laboratoří Ústavu klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FN Motol. Informace jsou uváděny v případě potřeby zvlášť pro obě pohlaví a věkové kategorie a zvlášť pro celkový soubor.

Tabulka 17: Srovnání hladin celkového cholesterolu (mmol/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – chlapci

Věk (roky)	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
< 15	108	< 2,6	2,6–4,8	> 4,8
		0 (0)	65 (60,2)	43 (39,8)
> 15	24	< 3,4	3,4–5,2	> 5,2
		1 (4,2)	15 (62,5)	8 (33,3)
Celkem	132	1 (0,8)	80 (60,6)	51 (38,6)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 2,6–4,8 mmol/l; > 15let: 3,4–5,2 mmol/l

Tabulka 18: Srovnání hladin celkového cholesterolu (mmol/l) s referenčním rozmezím – konec pobytu – chlapci

Věk (roky)	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
< 15	108	< 2,6	2,6–4,8	> 4,8
		5 (4,6)	98 (90,7)	5 (4,7)
> 15	24	< 3,4	3,4–5,2	> 5,2
		12 (50,0)	11 (45,8)	1 (4,2)
Celkem	132	17 (12,9)	109 (82,6)	6(4,5)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 2,6–4,8 mmol/l; > 15let: 3,4–5,2 mmol/l

Tabulka 19: Srovnání hladin celkového cholesterolu (mmol/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – dívky

Věk (roky)	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
< 15	163	< 2,6	2,6–4,8	> 4,8
		2 (1,2)	112 (8,7)	49 (30,1)
> 15	76	< 3,4	3,4–5,2	> 5,2
		11 (14,2)	54 (71,4)	11 (14,4)
Celkem	239	13 (5,4)	166 (69,5)	60 (25,1)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 2,6–4,8 mmol/l; > 15let: 3,4–5,2 mmol/l

Tabulka 20: Srovnání hladin celkového cholesterolu (mmol/l) s referenčním rozmezím - konec pobytu – dívky

Věk (roky)	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
< 15	163	< 2,6	2,6–4,8	> 4,8
		8 (4,9)	120 (73,6)	35 (21,4)
> 15	76	< 3,4	3,4–5,2	> 5,2
		26 (34,7)	48 (62,7)	2 (2,6)
Celkem	239	34 (14,3)	178 (74,3)	27 (11,4)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 2,6–4,8 mmol/l; > 15let: 3,4–5,2 mmol/l

Tabulka 21: Srovnání hladin triacylglycerolů (mmol/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – chlapci

Věk (roky)	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
< 15	108	< 1,0	1,0–1,64	> 1,64
		73 (67,6)	23 (21,3)	12 (11,1)
> 15	24	< 0,68	0,68–1,69	> 1,69
		5 (20,8)	13 (54,2)	6 (25,00)
Celkem	132	78 (59,1)	36,0 (27,3)	19 (13,6)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 1,0–1,64 mmol/l; > 15let: 0,68–1,69mmol/l

Tabulka 22: Srovnání hladin triacylglycerolů (mmol/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – dívky

Věk (roky)	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
< 15	162	< 1,0	1,0–1,64	> 1,64
		103 (62,4)	44 (29,1)	15 (8,5)
> 15	76	< 0,68	0,68–1,69	> 1,69
		22 (32,6)	49 (59,2)	5 (8,2)
Celkem	238	125 (52,5)	93 (39,1)	20 (8,4)

Referenční rozmezí (norma): <15let: 1,0–1,64 mmol/l; >15let: 0,68–1,69mmol/l

Tabulka 23: Srovnání hladin HDL cholesterolu (mmol/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – chlapci

Věk (roky)	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
< 11	29	< 1,11	1,11–1,83	> 1,83
		10 (38,5)	19 (53,9)	1 (7,6)
11–15	79	< 1,27	1,27–1,71	> 1,71
		53 (67,1)	20 (25,3)	6 (7,6)
> 15	24	< 0,9	0,9–1,42	> 1,42
		2 (8,3)	16 (66,7)	6 (25,0)
Celkem	132	65 (49,2)	54 (40,9)	13 (9,9)

Referenční rozmezí (norma): < 10let: 1,11–1,83 mmol/l; 11–15let: 1,27–1,71 mmol/l; > 15let: 0,9–1,42 mmol/l

Tabulka 24: Srovnání hladin HDL cholesterolu (mmol/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – dívky

Věk (roky)	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
< 11	40	< 1,11	1,11–1,83	> 1,83
		23 (57,5)	16 (40,0)	1 (2,5)
11–15	124	< 1,27	1,27–1,71	> 1,71
		76 (61,3)	40 (32,3)	8 (6,5)
> 15	76	< 1,16	1,16–1,68	> 1,68
		34 (44,7)	40 (52,7)	2 (2,6)
Celkem	240	133 (55,4)	96 (40,0)	11 (4,6)

Referenční rozmezí (norma): < 10let: 1,11–1,83 mmol/l; 11–15let: 1,27–1,71mmol/l; >15let: 1,16–1,68 mmol/l

Tabulka 25: Srovnání hladin LDL cholesterolu (mmol/l) s referenčním rozmezím - začátek pobytu

Pohlaví	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
		< 1,60	1,60–3,40	> 3,40
Chlapci	132	5 (3,8)	98 (74,2)	29 (22,0)
Dívky	240	30 (12,5)	192 (80,0)	18 (7,5)

Referenční rozmezí (norma): 1,60–3,40 mmol/l

Tabulka 26: Srovnání hladin apoAI (g/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – chlapci

Věk (roky)	n	Rozmezí (g/l) n (%)		
		< 1,28	1,28–1,76	> 1,76
< 15	108			
		70 (64,8)	38 (35,2)	0 (0)
> 15	24	< 1,19	1,19–1,60	> 1,60
		16 (62,5)	9 (37,5)	0 (0)
Celkem	132	85 (64,4)	47 (35,6)	0 (0)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 1,28–1,76 g/l; > 15let: 1,19–1,60 g/l

Tabulka 27: Srovnání hladin apoAI (g/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – dívky

Věk (roky)	n	Rozmezí (g/l) n (%)		
		< 1,28	1,28–1,76	> 1,76
< 15	165			
		123 (75,2)	40 (24,2)	1 (0,6)
> 15	76	< 1,39	1,39–1,80	> 1,80
		70 (92,1)	6 (7,9)	0 (0)
Celkem	240	193 (80,5)	46 (19,1)	1 (0,4)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 1,28–1,76 g/l; > 15let: 1,39–1,80 g/l

Tabulka 28: Srovnání hladin apoB (g/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – chlapci

Věk (roky)	n	Rozmezí (g/l) n (%)		
		< 0,61	0,61–0,94	> 0,94
< 15	108			
		16 (14,8)	64 (59,3)	28 (25,9)
> 15	24	< 0,7	0,7–1,30	> 1,30
		3 (12,5)	19 (79,2)	2 (8,3)
Celkem	132	19 (14,4)	83 (62,9)	30 (22,7)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 0,61–0,94 g/l; > 15let: 0,7–1,30 g/l

Tabulka 29: Srovnání hladin apoB (g/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – dívky

Věk (roky)	n	Rozmezí (g/l) n (%)		
		< 0,61	0,61–1,05	> 1,05
< 15	164			
		28 (17,0)	100 (61,0)	36 (22,0)
> 15	76	< 0,65	0,65–1,05	> 1,05
		13 (17,1)	49 (64,5)	14 (18,4)
Celkem	240	41 (17,1)	149 (62,1)	50 (20,8)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 0,61–1,05 g/l; > 15let: 0,65–1,05 g/l

Tabulka 30: Srovnání hladin Lp(a) (mg/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu

Pohlaví	n	Rozmezí (mmol/l)		
		n (%)		
		< 150	50–250	> 250
Chlapci	104	16 (15,4)	39 (37,5)	49 (47,1)
Dívky	206	46 (22,2)	80 (38,9)	80 (38,9)

Referenční rozmezí (norma): 50–250 mg/l

Tabulka 31: Srovnání hladin C-peptidu (pmol/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu

Pohlaví	n	Rozmezí (pmol/l)		
		n (%)		
		< 300	300–1320	> 1320
Chlapci	125	11 (8,8)	101 (80,8)	13 (10,4)
Dívky	238	10 (4,2)	208 (87,4)	20 (8,4)

Referenční rozmezí (norma): 300–1320 pmol/l

Tabulka 32: Srovnání hladin inzulínu (mU/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – chlapci

věk (roky)	n	Rozmezí (mU/l)		
		n (%)		
< 15	101	< 3,8	3,8–21,2	> 21,2
		25 (24,8)	71 (70,3)	5 (4,9)
> 15	24	< 6,00	6,0–27,0	> 27,0
		9 (37,5)	15 (62,5)	0 (0)
Celkem	125	34 (27,2)	86 (68,8)	5 (4,0)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 3,8–21,2; > 15let: 6,0–27,0

Tabulka 33: Srovnání hladin inzulínu (mU/l) s referenčním rozmezím – začátek pobytu – dívky

věk (roky)	n	Rozmezí (mU/l)		
		n (%)		
< 15	163	< 3,8	3,8–21,2	> 21,2
		40 (52,6)	36 (47,4)	2 (1,2)
> 15	76	< 6,00	6,0–27,0	> 27,0
		22 (32,6)	49 (59,2)	5 (8,2)
Celkem	239	64 (26,8)	173 (72,4)	2 (0,8)

Referenční rozmezí (norma): < 15let: 3,8–21,2; > 15let: 6,0–27,0

Tabulky 34 a 35 uvádějí výsledky korelační analýzy antropometrických parametrů s biochemickými. Pearsonovy korelační analýzy vzájemných vztahů sledovaných parametrů byly provedeny na souboru pubertální obézních dětí (46 chlapců; 92 dívek).

Tabulka 34: Pearsonovy korelace mezi vybranými antropometrickými a biochemickými parametry – pubertální chlapci s obezitou a nadváhou (n=46)

Parametr		HDL-C	apoAI	TG	C-peptid	Inzulín	Leptin začátek	Leptin konec
Tělesná hmotnost (kg) začátek pobytu	r	-0,268	-0,319	0,446	0,434	0,589	0,354	0,453
	p	0,071	0,031	0,002	0,003	0,000	0,016	0,003
Tělesná hmotnost (kg) konec pobytu	r	-0,254	-0,336	0,453	0,423	0,591	0,354	0,501
	p	0,088	0,023	0,002	0,003	0,000	0,016	0,001
Obvod břicha (cm) začátek pobytu	r	-0,269	-0,253	0,497	0,419	0,656	0,562	0,555
	p	0,071	0,089	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000
Obvod břicha (cm) konec pobytu	r	-0,276	-0,232	0,503	0,412	0,629	0,591	0,619
	p	0,063	0,120	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000
Obvod gluteální (cm) začátek pobytu	r	-0,269	-0,240	0,436	0,356	0,604	0,494	0,539
	p	0,071	0,108	0,002	0,015	0,000	0,000	0,000
Obvod gluteální (cm) konec pobytu	r	-0,281	-0,285	0,432	0,355	0,572	0,402	0,529
	p	0,059	0,055	0,003	0,016	0,000	0,006	0,000
Tuk Pařízková (%) začátek pobytu	r	-0,192	0,035	0,167	0,226	0,271	0,525	0,471
	p	0,202	0,816	0,269	0,132	0,068	0,000	0,002
Tuk Pařízková (%) konec pobytu	r	-0,147	0,015	0,354	0,334	0,467	0,650	0,584
	p	0,329	0,920	0,016	0,024	0,001	0,000	0,000
Sval Matiegka (kg) začátek pobytu	r	-0,155	-0,319	0,372	0,357	0,538	0,220	0,312
	p	0,304	0,031	0,011	0,015	0,000	0,142	0,044
Sval Matiegka (kg) konec pobytu	r	-0,182	-0,340	0,338	0,391	0,511	0,191	0,279
	p	0,227	0,021	0,021	0,007	0,000	0,204	0,073
Tuk Matiegka (kg) začátek pobytu	r	-0,312	-0,212	0,442	0,487	0,606	0,532	0,595
	p	0,035	0,157	0,002	0,001	0,000	0,000	0,000
Tuk Matiegka (kg) konec pobytu	r	-0,244	-0,177	0,475	0,420	0,631	0,571	0,635
	p	0,102	0,239	0,001	0,004	0,000	0,000	0,000
Sval Matiegka (%) konec pobytu	r	0,171	-0,097	-0,210	0,003	-0,109	-0,394	-0,470
	p	0,256	0,521	0,160	0,984	0,471	0,007	0,002
Tuk Matiegka (%) začátek pobytu	r	-0,139	0,152	0,099	0,157	0,110	0,377	0,349
	p	0,358	0,313	0,512	0,297	0,467	0,010	0,024
Tuk Matiegka (%) konec pobytu	r	-0,054	0,202	0,232	0,151	0,281	0,550	0,439
	p	0,721	0,178	0,122	0,316	0,059	0,000	0,004
BMI (kg/m ²) začátek pobytu	r	-0,229	-0,079	0,395	0,343	0,619	0,575	0,529
	p	0,125	0,601	0,007	0,020	0,000	0,000	0,000
BMI (kg/m ²) konec pobytu	r	-0,226	-0,121	0,410	0,334	0,632	0,574	0,628
	p	0,132	0,424	0,005	0,023	0,000	0,000	0,000

apoAI, apolipoprotein AI; HDL-C, high density lipoprotein - cholesterol; TC, triacylglyceroly

Tabulka 35: Pearsonovy korelace mezi vybranými antropometrickými a biochemickými parametry – pubertální dívky s obezitou a nadváhou (n=92)

Parametr		HDL-C	apoAI	TG	C-peptid	Inzulín	Leptin začátek	Leptin konec
Tělesná hmotnost (kg) začátek pobytu	r	-0,225	-0,174	0,075	0,267	0,170	0,482	0,477
	p	0,039	0,100	0,481	0,011	0,108	0,000	0,000
Tělesná hmotnost (kg) konec pobytu	r	-0,209	-0,163	0,050	0,242	0,172	0,435	0,486
	p	0,057	0,123	0,637	0,021	0,103	0,000	0,000
Obvod břicha (cm) začátek pobytu	r	-0,334	-0,107	0,155	0,320	0,299	0,506	0,520
	p	0,002	0,313	0,144	0,002	0,004	0,000	0,000
Obvod břicha (cm) konec pobytu	r	-0,223	-0,084	0,093	0,332	0,292	0,533	0,530
	p	0,042	0,427	0,379	0,001	0,005	0,000	0,000
Obvod gluteální (cm) začátek pobytu	r	-0,286	-0,138	0,051	0,202	0,159	0,474	0,468
	p	0,008	0,193	0,629	0,057	0,132	0,000	0,000
Obvod gluteální (cm) konec pobytu	r	-0,242	-0,144	0,054	0,245	0,204	0,477	0,504
	p	0,026	0,174	0,609	0,020	0,052	0,000	0,000
Tuk Pařízková (%) začátek pobytu	r	-0,124	-0,324	0,155	0,266	0,257	0,551	0,312
	p	0,260	0,002	0,143	0,011	0,014	0,000	0,004
Tuk Pařízková (%) konec pobytu	r	-0,104	-0,261	0,219	0,327	0,314	0,586	0,482
	p	0,344	0,012	0,037	0,002	0,002	0,000	0,000
Sval Matiegka (kg) začátek pobytu	r	-0,196	-0,102	0,011	0,156	0,102	0,275	0,397
	p	0,074	0,336	0,916	0,142	0,335	0,008	0,000
Sval Matiegka (kg) konec pobytu	r	-0,187	-0,081	-0,013	0,195	0,100	0,232	0,352
	p	0,088	0,443	0,903	0,065	0,345	0,027	0,001
Tuk Matiegka (kg) začátek pobytu	r	-0,124	-0,220	0,207	0,383	0,270	0,662	0,468
	p	0,261	0,036	0,049	0,000	0,010	0,000	0,000
Tuk Matiegka (kg) konec pobytu	r	-0,130	-0,225	0,190	0,367	0,293	0,652	0,538
	p	0,240	0,032	0,071	0,000	0,005	0,000	0,000
Sval Matiegka (%) začátek pobytu	r	0,019	0,092	-0,111	-0,170	-0,095	-0,332	-0,061
	p	0,861	0,387	0,295	0,109	0,370	0,001	0,579
Sval Matiegka (%) konec pobytu	r	0,048	0,151	-0,140	-0,084	-0,138	-0,439	-0,270
	p	0,668	0,154	0,185	0,431	0,192	0,000	0,013
Tuk Matiegka (%) začátek pobytu		0,010	-0,152	0,220	0,297	0,239	0,496	0,218
		0,926	0,152	0,036	0,004	0,022	0,000	0,046
Tuk Matiegka (%) konec pobytu	r	-0,013	-0,166	0,220	0,288	0,259	0,530	0,329
	p	0,907	0,116	0,036	0,006	0,013	0,000	0,002
BMI (kg/m ²) začátek pobytu	r	-0,225	-0,248	0,103	0,246	0,245	0,574	0,551
	p	0,040	0,018	0,330	0,020	0,019	0,000	0,000
BMI (kg/m ²) konec pobytu	r	-0,205	-0,239	0,074	0,218	0,258	0,521	0,583
	p	0,062	0,023	0,486	0,039	0,014	0,000	0,000

apoAI, apolipoprotein AI; HDL-C, high density lipoprotein - cholesterol; TC, triacylglyceroly

4.4 Ad cíl 4: Vyhodnocení hladin IGF-I a IGFBP-3 u obézních dětí a u kontrolního souboru

Děti (107 chlapců, 180 dívek) byly s ohledem na věkovou a pohlavní závislost IGF-I a IGFBP-3 rozděleny do 11 věkových kategorií (7–17 let). Tabulky 4 a 5 uvádějí hodnoty tělesné výšky, hmotnosti a BMI sledovaného souboru ve formě průměrných hodnot a směrodatné odchylky a zároveň průměrné SDS dané věkové kategorie. Tělesná výška všech sledovaných dětí se po srovnání se zdravou populací nacházela v pásmu širší normy (v pásmu $\pm 2SD$). Tělesná hmotnost byla u všech dětí vyšší než 2 SDS.

Koncentrace IGF-I a IGFBP-3 v séru u obézních dětí a průměrné české dětské populace (dále v textu a tabulkách označované jako referenční) dané věkové kategorie jsou uvedeny v tabulkách 36 a 37.

U dílčího souboru obézních dětí nebyly nalezeny signifikantní rozdíly mezi chlapci a dívkami ani u IGF-I ani u IGFBP-3 (Obr. 18; Bronský et al. 2007). Koncentrace IGF-I obézních chlapců se v žádné věkové kategorii signifikantně neodlišovaly od chlapců referenční skupiny. Při posuzování IGF-I byly u 12letých obézních dívek nalezeny statisticky významně vyšší a naopak u 16letých a 17letých nižší hodnoty oproti referenční skupině dívek. Ve skupině obézních dívek, zejména v období puberty, dosahovaly hladiny IGF-I vyšších hodnot, které se blížily horní hranici pásma širší normy. Statisticky významně vyšší hladiny IGFBP-3 byly nalezeny u mladších obézních dětí (u dívek ve věkových kategoriích 7–10 let, u chlapců ve věkových kategoriích 9, 10 a 12 let). Obrázek 19 znázorňuje srovnání křivek hodnot IGF-I u chlapců s obezitou a nadváhou s hodnotami IGF-I referenční skupiny chlapců. Graf zobrazuje i křivky průměrných hodnot $\pm 1 SD$ IGF-I referenčního souboru chlapců. S těmito křivkami je srovnávána křivka průměrných hodnot chlapců s obezitou a nadváhou. Stejně srovnání u dívek poskytuje obrázek 20.

Významné pozitivní korelace mezi IGF-I a biochemickými, hormonálními a antropometickými parametry uvádějí tabulky 38 a 39.

Tabulka 36: Hladiny IGF-I a IGFBP-3 - soubor obézních dívek a dívek referenční skupiny

Dívky Věková skupina (n)	IGF-I(μg/l)						IGFBP-3 (mg/l)					
	Obézní				Referenční ^{1, 2}		Obézní				Referenční ^{1, 2}	
	x ± SD	SDS	SDS<-2 % (n)	SDS>2 % (n)	x ± SD	p	x ± SD	SDS	SDS<-2 % (n)	SDS>2 % (n)	x ± SD	p
7 (6)	250,2 ± 92,4	0,5	0 (0)	0 (0)	209 ± 83	NS	4,4 ± 1,8	2,97	0 (0)	33,3 (2)	2,7 ± 0,6	p<0,05
8 (3)	207,0 ± 52,0	-0,16	0 (0)	0 (0)	221 ± 89	NS	4,9 ± 0,5	3,47	0 (0)	33,3 (1)	2,7 ± 0,6	p<0,05
9 (8)	225,6 ± 65,3	-0,17	0 (0)	0 (0)	236 ± 60	NS	4,6 ± 1,5	3,01	0 (0)	12,5 (1)	2,9 ± 0,6	p<0,05
10 (16)	451 ± 199,5	1,78	0 (0)	37,5 (6)	294 ± 86	NS	5,1 ± 1,2	3,28	0 (0)	44 (7)	3,3 ± 0,6	p<0,01
11 (19)	556,6 ± 220,5	0,99	5,3 (1)	15,8 (3)	411 ± 147	NS	5,1 ± 1,4	1,06	0 (0)	0 (0)	4,0 ± 1,0	NS
12 (14)	609,2 ± 180,3	1,00	0 (0)	29 (4)	448 ± 161	p<0,05	5,1 ± 1,5	0,57	0 (0)	0 (0)	4,4 ± 1,2	NS
13 (36)	605,8 ± 186,4	0,28	2,8 (1)	5,6 (2)	556 ± 176	NS	5,1 ± 1,5	0,04	0 (0)	0 (0)	5,0 ± 1,3	NS
14 (25)	596,6 ± 127,6	0,27	0 (0)	0 (0)	553 ± 161	NS	5,4 ± 1,3	0,54	0 (0)	0 (0)	4,7 ± 1,3	NS
15 (24)	547,8 ± 209,4	0,54	12,5 (3)	20,8 (5)	499 ± 91	NS	5,2 ± 1,6	1,08	0 (0)	4,2 (1)	4,2 ± 1,0	NS
16 (14)	431,7 ± 147,6	-1,72	42,9 (6)	7,1 (1)	578 ± 85	p<0,05	4,6 ± 1,1	-0,21	0 (0)	0 (0)	4,6 ± 1,0	NS
17 (15)	405,7 ± 101,2	-1,34	20 (3)	0 (0)	568 ± 121	p<0,01	4,8 ± 0,8	-0,07	0 (0)	0 (0)	4,9 ± 0,8	NS

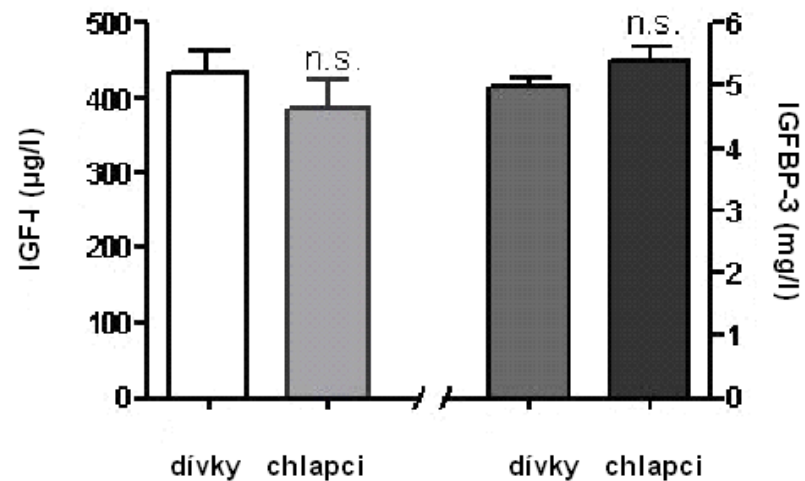
¹ Lebl et al. 1997; ² Lebl et al. 2000; NS, nesignifikantní rozdíl

Tabulka 37: Hladiny IGF-I a IGFBP-3 – soubor obézních chlapců a chlapců referenční skupiny

Chlapci	IGF-I(μg/l)						IGFBP-3 (mg/l)					
	Obézní				Referenční ^{1, 2}		Obézní				Referenční ^{1, 2}	
	(n)	x ± SD	SDS	SDS<-2 % (n)	SDS>2 % (n)	x ± SD	p	x ± SD	SDS	SDS<-2 % (n)	SDS>2 % (n)	x ± SD
7 (4)	268,0 ± 63,4	0,49	0 (0)	0 (0)	215 ± 108	NS	4,4 ± 1,7	2,35	0 (0)	25 (1)	2,8 ± 0,7	NS
8 (3)	264,0 ± 77,2	0,25	0 (0)	0 (0)	240 ± 95	NS	4,8 ± 1,4	2,66	0 (0)	33,3 (1)	3,2 ± 0,6	NS
9 (5)	239,2 ± 43,9	-0,77	0 (0)	0 (0)	267 ± 36	NS	4,9 ± 1,1	3,23	0 (0)	40 (2)	3,2 ± 0,4	p<0,05
10 (12)	248,8 ± 69,8	-0,42	16,7 (2)	0 (0)	264 ± 36	NS	5,1 ± 1,5	3,78	0 (0)	41,7 (5)	3,1 ± 0,5	p<0,01
11 (15)	296,0 ± 103,8	0,16	0 (0)	13,3 (2)	284 ± 76	NS	4,5 ± 1,7	1,46	0 (0)	6,7 (1)	3,3 ± 0,8	NS
12 (16)	366,4 ± 183,8	0,64	6,3 (1)	18,8 (3)	311 ± 87	NS	5,1 ± 1,2	1,92	0 (0)	12,5 (2)	3,8 ± 0,7	p<0,05
13 (19)	461,3 ± 212,2	1,32	21,1 (4)	47,4 (9)	369 ± 70	NS	4,8 ± 1,2	1,56	0 (0)	10,5 (2)	3,9 ± 0,6	NS
14 (14)	586,5 ± 171,4	0,50	7,1 (1)	14,3 (2)	519 ± 136	NS	5,0 ± 1,0	0,33	0 (0)	0 (0)	4,6 ± 1,2	NS
15 (9)	614,0 ± 111,5	-0,38	11,1 (1)	0 (0)	645 ± 46	NS	4,3 ± 1,4	-0,46	0 (0)	0 (0)	5,2 ± 1,0	NS
16 (3)	633,3 ± 21,0	-0,01	0 (0)	0 (0)	634 ± 69	NS	4,8 ± 1,8	-0,12	0 (0)	0 (0)	4,9 ± 1,1	NS
17 (7)	577,7 ± 126,0	0,07	0 (0)	0 (0)	569 ± 117	NS	4,5 ± 1,1	-0,1	0 (0)	0 (0)	4,6 ± 0,9	NS

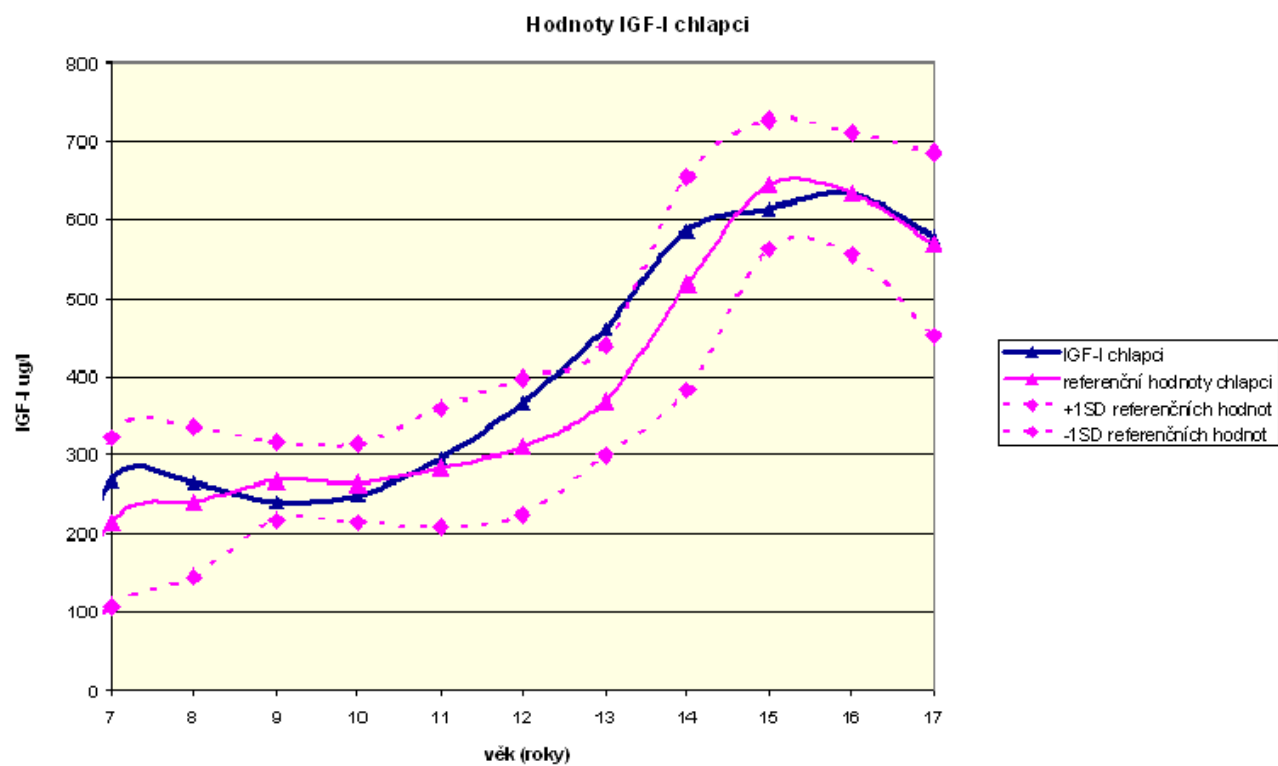
¹ Lebl et al. 1997; ² Lebl et al. 2000; NS, nesignifikantní rozdíl

Obrázek 18: Srovnání hladin IGF-I a IGFBP-3 mezi dívkami a chlapci na počátku pobytu, částečné výsledky (Bronský et al. 2007)

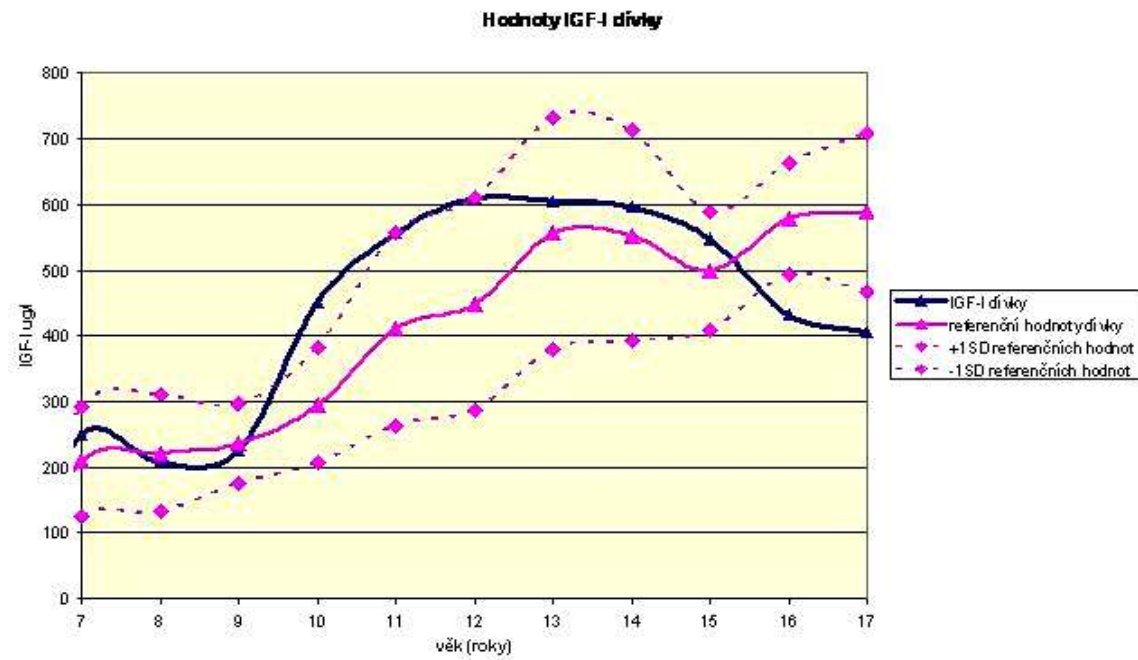


n. s., nesignifikantní rozdíl

Obrázek 19: Srovnání křivek hladin IGF-I v závislosti na věku u chlapců s nadváhou a obezitou a referenčního souboru chlapců



Obrázek 20: Srovnání křivek hladin IGF-I v závislosti na věku u dívek s nadváhou a obezitou a referenčního souboru dívek



Tabulka 38: Parciální korelace mezi hladinami IGF-I a dalšími sledovanými parametry u obézních dívek a chlapců

Parametr	IGF-I (µg/l): dívky			IGF-I (µg/l): chlapci		
	r	%R ²	p	r	%R ²	P
Tělesná hmotnost (kg)	0,3	12,2	p<0,001	0,15	40,6	NS
BMI (kg/m ²)	0,03	3,4	NS	0,115	40,0	NS
Suma 10 kožních řas (mm)	0,129	4,95	NS	-0,03	39,2	NS
IGFBP-3 (mg/l)	0,52	29,5	p<0,001	0,278	43,9	p<0,01
Inzulín (mU/l)	0,273	10,8	p<0,001	0,175	41,3	NS
C-peptid (pmol/l)	0,2	7,3	p<0,01	0,216	42,2	p<0,05
Leptin (µg/l)	0,214	7,85	NS	-0,106	40,68	NS

Všechny sledované parametry byly adjustovány na věk; leptin byl adjustován také na BMI; NS nesignifikantní rozdíl; r, parciální korelační koeficient; R², koeficient determinace (podíl sledovaného faktor na výsledné závislosti - %)

Tabulka 39: Parciální korelace mezi hladinami IGFBP-3 a dalšími sledovanými parametry u obézních dívek a chlapců

Parametr	IGFBP-3 (mg/l): dívky			IGFBP-3 (mg/l): chlapci		
	r	%R ²	p	r	%R ²	P
Tělesná hmotnost (kg)	0,167	2,9	NS	0,058	0,6	NS
BMI (kg/m ²)	0,069	0,6	NS	0,04	0,48	NS
Suma 10 kožních řas (mm)	0,069	0,6	NS	-0,094	1,1	NS
IGF-I (µg/l)	0,52	27,2	p<0,001	0,278	8,01	p<0,01
Inzulín (mU/l)	0,223	5,1	p<0,01	0,11	14	NS
C-peptid (pmol/l)	-0,088	0,9	NS	-0,28	7,9	p<0,01
Leptin (µg/l)	0,104	1,08	NS	-0,01	0,5	NS

Všechny sledované parametry byly adjustovány na věk; leptin byl adjustován také na BMI; NS nesignifikantní rozdíl; r, parciální korelační koeficient; R², koeficient determinace (podíl sledovaného faktor na výsledné závislosti - %)

4.5 Ad cíl 5: Vyhodnocení sledovaných polymorfismů genů pro *LEPR* a *PPARalfa*

Genotypové a alelické frekvence polymorfismu Pro1019Pro genu pro *LEPR* uvádí tabulka 39, polymorfismu Gln223Arg genu pro *LEPR* tabulka 40, polymorfismu Ser343Ser genu pro *LEPR* tabulka 41 a polymorfismu Leu162Val genu pro *PPARalfa* tabulka 42.

Tabulka 39: Genotypové a alelické frekvence polymorfismu Pro1019Pro genu pro *LEPR*

<i>LEPR</i> Pro1019Pro	Genotypy			Alely	
	GG	GA	AA	G	A
	70 (27,9 %)	145 (57,8 %)	36 (14,3 %)	285 (56,8 %)	217 (43,2 %)

Pro1019 = G; 1019Pro = A

Tabulka 40: Genotypové a alelické frekvence polymorfismu Gln223Arg genu pro *LEPR*

<i>LEPR</i> Gln223Arg	Genotypy			Alely	
	AA	AG	GG	A	G
	90 (26,8 %)	179 (53,3 %)	67 (19,9 %)	359 (53,4 %)	313 (46,6 %)

Gln223 = A; 223Arg = G

Tabulka 41: Genotypové a alelické frekvence polymorfismu Ser343Ser genu pro *LEPR*

<i>LEPR</i> Ser343Ser	Genotypy			Alely	
	TT	TC	CC	T	C
	163(62,7 %)	79 (30,4 %)	18 (6,9 %)	405 (77,9 %)	115 (21,1 %)

Ser343 = T; 343Ser = C

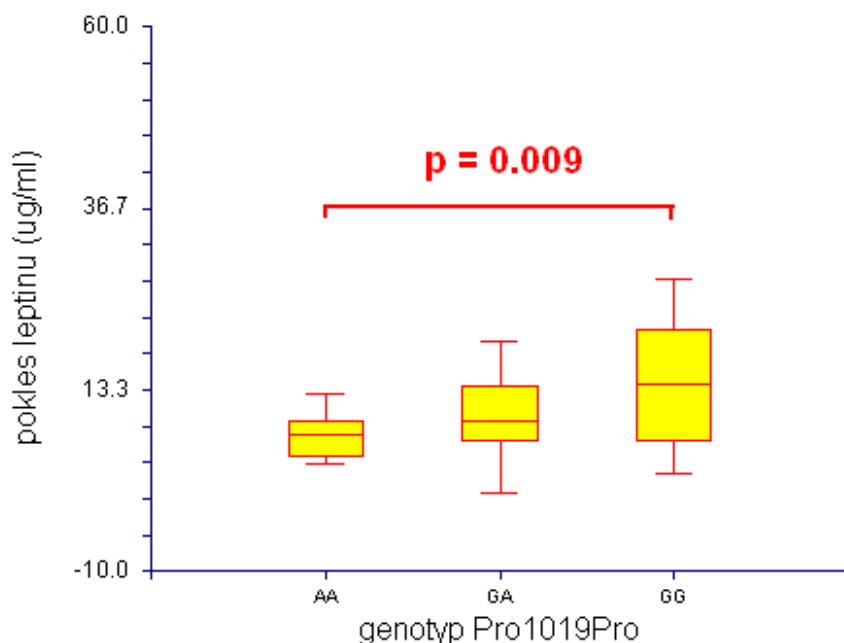
Tabulka 42: Genotypové a alelické frekvence polymorfismu Leu162Val genu pro *PPARalfa*

<i>LEPR</i> Leu162Val	Genotypy			Alely	
	CC	CG	GG	C	G
	221 (90,2 %)	23 (9,4 %)	1 (0,4 %)	465 (94,9 %)	25 (5,1 %)

Leu162 = C; 162Val = G

Všechny sledované polymorfismy genů pro *LEPR* a *PPARalfa* byly analyzovány ve vztahu k vybraným antropometrickým a biochemickým parametrům. S ohledem na široké věkové rozpětí souboru byl sledován vztah těchto polymorfismů ke změnám vybraných parametrů během léčby. U souboru chlapců s nadváhou a obezitou byla nalezena signifikantní asociace mezi polymorfismem Pro1019Pro v genu pro *LEPR* a změnou leptinu během lázeňského pobytu. Významně menší pokles ($p < 0,009$) hladin leptinu vykazovali homozygoti pro alelu A (medián 7,8 $\mu\text{g/l}$) oproti homozygotům pro alelu G (medián 14,2 $\mu\text{g/l}$) (Obr. 21). Obě skupiny se nelišily vstupními antropometrickými parametry ani hmotnostními úbytky.

Obrázek 21: Změna koncentrace leptinu v závislosti na genotypu polymorfismu Pro1019Pro v genu pro *LEPR* – obézní chlapci



Pro1019 = G; 1019Pro = A

5 Diskuse

5.1 Antropometrické, biochemické a hormonální charakteristiky u dětí s obezitou a nadváhou

Typickým znakem obézních jedinců je výrazně odlišná tělesná stavba s dominancí nadměrného rozvoje tukové složky. Antropometrické metody umožňují poměrně přesně určit tělesné složení a tak snadno kontrolovat redukční proces. Všechny sledované děti vykazovaly při srovnání se svými vrstevníky významně vyšší hodnoty tělesné hmotnosti, BMI a dalších antropometrických parametrů (hodnoceno pomocí SDS) nejenom na počátku, ale samozřejmě i na konci pobytu. Během 5–6týdenního pobytu nebylo možno tyto odchylky v žádném případě normalizovat. Pozitivně lze hodnotit, že během lázeňského redukčního pobytu došlo nejenom k signifikantnímu snížení tělesné hmotnosti a BMI, ale také významnému úbytku podkožní tukové tkáně stanovené pomocí metody Matiegky a Pařízkové. Velmi příznivé je i zmenšení obvodových rozměrů, zejména obvodu břicha. Tento parametr je považován za dobrý prediktor kardiovaskulárních a metabolických rizik nejen u dospělé (Schlett 2009), ale i dětské populace (Maffeis et al. 2003).

Snížení tělesné hmotnosti, ke kterému došlo u chlapců i dívek, bylo především důsledkem snížení podkožní tukové hmoty. Svalová hmota ubyła výrazně méně, v poměru úbytků 12,3 : 1 u dívek a 8,4 : 1 u chlapců, tzn. že dívky měly 1,5x vyšší úbytek podkožní tukové tkáně vůči svalové (stanoveno Matiegkovou metodou). Intersexuální rozdíly v úbytku podkožního tuku v jednotlivých věkových kategoriích byly zjištěny i metodou podle Pařízkové. Signifikantně vyšší úbytky byly pozorovány u obézních dívek oproti chlapcům ve věkových kategoriích do 15 let. Naopak Reiterer a kol. (1999) pozorovali větší úbytek tukové tkáně u chlapců po 3týdenní intervenci. Ke stanovení tělesného tuku však využívali metody bioelektrické impedance, která vypovídá o celkovém tělesném tuku.

Pokud jsme úspěšnost redukčního režimu hodnotili pomocí poklesu BMI, chlapcům se podařilo snížit hodnoty BMI více než děvčatům (BMI SDS na počátku/na konci: chlapci 4,10/2,92, $p < 0,01$; dívky 4,10/3,94, $p < 0,01$). Vyšší pokles BMI u chlapců oproti dívkám nevysvětluje vyšší úbytek podkožní tukové ani svalové tkáně, lze tedy spekulovat, že na snížení BMI u chlapců má výrazný podíl úbytek viscerálního tuku či tělesné vody. Tyto parametry nebylo možné pomocí uvedených metod stanovit.

Hypotézu ovšem podporuje fakt, že pubertální chlapci mívají oproti dívkám významně větší množství viscerální tukové tkáně a naopak menší množství podkožní tukové tkáně (Roemmich et al. 1998, 2000). Vyšší hmotnostní úbytek u obézních chlapců popisuje studie Epstein a kol. (2005), charakter studie je však poněkud odlišný (rodinná studie zaměřená zejména na zvýšení pohybové aktivity během jednoho roku). Lepší odpověď na redukční proces u chlapců oproti dívkám ve smyslu počtu úspěšných popisuje také Sabit a kol. (2007). Stejná studie zároveň poukázala na význam začít s léčbou dětské obezity co nejdříve, protože lepších výsledků dosahovaly mladší děti ve srovnání se staršími a zejména potom ty, které neměly pozitivní rodinnou zátěž obezity. Podobný trend byl zaznamenán i ve skupině námi sledovaných dětí s nadváhou a obezitou, signifikantně vyšších % úbytků tělesné hmotnosti dosáhly nejmladší dívky (7–9 let) oproti starším věkovým kategoriím (11–17 let).

Bylo by zajímavé opakovat vyšetření po určité době i u námi sledovaných dětí a vyhodnotit, do jaké míry jsou schopné udržet výrazné hmotnostní úbytky, jakých dosáhly během 5–6týdenního lázeňského pobytu i v domácích podmínkách. Odborníci z Léčebny dr. L. Filipa si uvědomují riziko opětovného zvýšení tělesné hmotnosti po návratu dětí do domácího prostředí. Z toho důvodu je součástí lázeňského programu i edukace v oblasti jídelních zvyklostí a pohybové aktivity. Samozřejmě nejdůležitější z hlediska udržení hmotnostního úbytku dětí je, pokud možno, zajištění spolupráce a podpory ze strany rodičů. V opačném případě je situace pro obézní dítě značně komplikovaná. Lze předpokládat, že po ukončení lázeňského pobytu dojde k mírnému zvýšení tělesné hmotnosti. I studie, která sledovala tělesnou hmotnost a BMI obézních dětí na počátku a na konci dvouměsíčního redukčního režimu a poté po jednom roce, zaznamenala mírný vzestup sledovaných parametrů. Nedošlo ovšem k návratu k hodnotám před redukcí (Gately et al. 2000). Při jasně definovaném řízeném pobytu je pro děti snadnější redukovat tělesnou hmotnost, na což poukázala i studie Gatelyho a kol. (2005). Obézní děti, které se o prázdninách zúčastnily pobytového tábora redukovaly tělesnou hmotnost. Naproti tomu obézní i štíhlé děti, které neměly organizovaný prázdninový program, tělesnou hmotnost významně zvýšily. Z hlediska zdravotních komplikací je ovšem třeba považovat za výhodné i „menší“ redukční úspěchy. O tom, že dietní, behaviorální a pohybové intervence má značný význam v terapii dětské obezity svědčí i závěry studie, která sledovala krátkodobou (3 měsíce) a dlouhodobou (12 měsíců) odezvu obézních dětí na intervenční program. Děti z tříměsíční intervence jednoznačně profitovaly. Při srovnání se skupinou obézních vrstevníků, ovšem bez této edukace, vykazovaly při

kontrole po 3 i 12 měsících významně příznivější hodnoty lipidového spektra i antropometrických parametrů, a to přestože se skupiny na počátku sledování nijak nelišily (Nemet et al. 2005).

Obezita je doprovázena kromě nadměrného množství tukové tkáně a nepříznivého rozložení tukových depozit – viscerální tuk, vnitrosvalový a jaterní tuk – (Cali et al. 2008) celou řadou metabolických abnormalit, které je možné často zaznamenat již u dětských pacientů a které výrazně zvyšují možnost rozvoje kardiovaskulárních komplikací. Význam prevalence, typ a mechanismy lipidových abnormalit u dětí jsou předmětem mnoha debat. Hladiny sérových lipidů jsou ovlivňovány pohlavím, věkem, dietními zvyky, fyzickou aktivitou, typem a stupněm obezity, genetickými faktory, koncentracemi inzulinu, glukokortikoidů a pohlavních hormonů (van Vliet et al. 2009, Johnson et al. 2009, Quijada et al. 2008, Kelishadi et al. 2008, Teixeira et al. 2001, Tamura et al. 2000). Zvýšené hladiny krevních lipidů (celkového cholesterolu, LDL, triacylglycerolů) mohou predikovat, u kterých z dětí je možné očekávat v budoucnu rozvoj kardiovaskulárního onemocnění. Sledované děti s obezitou a nadváhou měly zvýšené hladiny celkového cholesterolu nad referenčním rozmezím na začátku redukčního pobytu (celkem 39 % chlapců a 25 % dívek). Během pobytu došlo k signifikantnímu snížení celkového cholesterolu u všech věkových kategorií obou pohlaví. Na konci pobytu tedy mělo hladiny celkového cholesterolu vyšší než doporučené pouze 4,5 % chlapců a 11 % dívek.

Hladiny LDL cholesterolu převyšovaly na počátku lázeňské terapie doporučená referenční rozmezí u 22 % chlapců a 7,5 % dívek. LDL cholesterol je velmi významný rizikový faktor aterogeneze, ale sám o sobě, pokud jeho hladina není enormně vysoká, není prioritním faktorem v predikci individuálního rizika. Někteří jedinci mohou být ohroženi kardiovaskulárními komplikacemi i přes normální koncentraci LDL cholesterolu, a to z důvodů převahy malých denzních LDL částic. Riziko těchto komplikací stoupá se vzrůstající koncentrací a klesající velikostí těchto částic (Stampfe et al. 1996).

Hladiny HDL cholesterolu byly sníženy u téměř 50 % chlapců a 55 % dívek, což zvyšuje riziko možného výskytu kardiovaskulárního onemocnění v dospělosti. Framinghamská studie prokázala, že při jakékoliv hladině LDL cholesterolu znamená vysoká koncentrace HDL cholesterolu nižší kardiovaskulární riziko (Castelli et al 1986). Amarenko a kol. (2008) publikovali rozsáhlou metaanalýzu epidemiologických studií, které se zaměřily na zjišťování vztahů mezi hladinami HDL cholesterolu a

kardiovaskulárních rizik. Asociace HDL cholesterolu a mozkové mrtvice popisuje 18 studií, vztah HDL cholesterolu s tloušťkou stěny karotidy 37 studií.

Poněkud překvapivě pouze 13,6 % obézních chlapců a 8,4 % obézních dívek mělo zvýšené hladiny triacylglycerolů. Zajímavé je, že koncentrace triacylglycerolů byly u velké části sledovaných dětí s obezitou a nadváhou dokonce nižší, než byla doporučovaná referenční rozmezí (59 % chlapců resp. 52,5 % dívek mladších patnácti let). Nízké hladiny triacylglycerolů byly pozorovány zejména v mladších věkových kategoriích (do 15 let). Přitom u obézních dětí i dospělých bývají běžně popisované zvýšené hladiny triacylglycerolů. Lze tedy jen spekulovat, co bylo příčinou námi pozorovaných výsledků. Vysvětlením by mohl být velký počet malých, „hladových“, adipocytů u obézních dětí. Tyto adipocyty ochotně ukládají triacylglyceroly, což vysvětluje jejich nízké hladiny v plazmě. Triacylglyceroly, resp. volné mastné kyseliny, jsou pak metabolizovány beta-oxidací v mitochondriích těchto adipocytů. Dosáhnou-li hladiny mastných kyselin v mitochondriích toxických koncentrací, beta-oxidace selže a mastné kyseliny jsou uvolňovány z adipocytů do krevního oběhu a redistribuují se do dalších tkání. Toto ektopické ukládání triacylglycerolů je asociováno s rozvojem inzulínové rezistence ve svalu a v játrech a s lipotoxicitou v pankreatických beta-buňkách (Raz et al. 2005, Maassen et al. 2007).

Hladiny apoAI byly u obou pohlaví výrazně sníženy (u 64 % chlapců a 80 % dívek), což souvisí se zjištěnou sníženou koncentrací HDL cholesterolu u obézních. Nízké hodnoty apoAI jsou významným rizikovým faktorem kardiovaskulárních komplikací. Asi jedna pětina sledovaných obézních dětí vykazovala vyšší hladiny apoB. Některé epidemiologické studie prokázaly, že apoB je lepším prediktorem kardiovaskulárních onemocnění než LDL cholesterol. Obdobně významně se jeví i apoAI a poměr apoAI/apoB (Walldius et al. 2007, Lamarche et al. 1996). Podle finské studie mohou být hladiny apoAI i apoB v dětství významnými ukazateli subklinické aterosklerózy. Studie popsala významný pozitivní vztah mezi hladinou apoB, poměrem apoB/apoAI a tloušťkou stěny karotidy při kontrole po deseti letech, resp. negativní vztah mezi hladinou apoAI v dětství (3–18 let) (Juonala et al. 2008).

Ve skupině pubertálních obézních chlapců se projevil velmi silný pozitivní korelace mezi antropometrickými parametry (BMI, obvod břicha, boků, % tuku dle Pařízkové) a parametry lipidového a glukózového metabolismu (triacylglyceroly, C-peptid, inzulín, leptin). Ve skupině pubertálních obézních dívek se závislost biochemických parametrů na antropometrických projevila také, nicméně poněkud

odlišně. Asociace mezi triacylglyceroly a antropometrickými charakteristikami, vyjma množství tuku stanoveného metodou Matiegky i Pařízkové (%), nebyly významné. Na rozdíl od obézních chlapců se ale u obézních dívek projevily významné negativní korelace HDL cholesterolu s antropometrickými charakteristikami (obvod břicha, boků, BMI, tělesná hmotnost). U chlapců HDL cholesterol koreloval negativně pouze s množstvím tukové tkáně stanovené metodou dle Matiegky. Významné negativní korelace apoAI s tělesnou hmotností byly zjištěny ve skupině chlapců. U dívek hladiny apoAI negativně korelovaly s množstvím tuku stanoveným metodou dle Pařízkové. Přestože byl zjišťován obvod břicha, nikoliv pasu, potvrdilo se, že i v dětské populaci může jednoduchý antropometrický parametr pomoci snadno identifikovat jedince s abnormálními hodnotami lipidového metabolismu a tedy ohrožené kardiovaskulárními komplikacemi.

Přestože hladiny Lp(a) byly u obézních dětí zvýšené ve velké míře (u 47 % chlapců a 39 % dívek), nebyly zaznamenány žádné signifikantní korelace s antropometrickými znaky. Lp(a) nicméně patří mezi nezávislé rizikové faktory, tzn. jeho zvýšené hladiny (ostatní krevní lipidy mohou být normální) se mohou podílet na zvýšení aterogenního rizika. Zvýšená koncentrace Lp(a) zvyšuje riziko uzávěru arterie trombem a je rizikovým faktorem vzniku koronárních příhod (Dahlen et al. 1986, 1997). Také epidemiologická studie PROCAM popsala zvýšené hladiny Lp(a) jako samostatný rizikový faktor pro vznik ischemické choroby srdeční ve skupině mužů (von Eckardstein et al. 2001, Assmann et al. 1996).

Hladiny inzulínu nebyly zvýšené (hodnoty nad doporučené referenční rozmezí vykazovala pouze 4 % chlapců a necelé jedno procento dívek), taktéž C-peptid nejevil výrazné zvýšení (10,4 % chlapců, 8,4 % dívek) či snížení (8,8 % chlapců, 4,2 % dívek). Hyperinzulinemii, popisovanou i u obézních dětí (De Simone et al. 2001), jsme tedy u našeho souboru neprokázali.

Podle očekávání byla hmotnostní redukce u našeho souboru dětí s nadváhou a obezitou provázena signifikantním snížením hladiny leptinu. Byly nalezeny pozitivní korelace mezi hladinami leptinu a tělesnou hmotností. BMI a všemi parametry tukové tkáně (procento tuku podle Pařízkové, procento tuku dle Matiegky, obvod břicha, gluteální obvod) u obou pohlaví na počátku i konci. Výsledky jsou ve shodě se závěry dílčí studie publikované dříve (Bronský et al. 2007). U obou pohlaví koreloval leptin negativně s množstvím svalové hmoty vyjádřené procenty. U obézních, dětí i dospělých, jsou typicky nalézány vyšší koncentrace leptinu ve srovnání se zdravou populací. Studie

Huanga a kol. (2004) prokázala vztah leptinu k inzulinové rezistenci u souboru adolescentů, a to bez ohledu na věk, pohlaví, stádia biologického věku podle Tannera, BMI, obvod pasu, tukovou tkáň a hladinu triacylglycerolů. Významné asociace leptinu s řadou ukazatelů metabolického syndromu svědčí nejen o jeho významné roli v etiopatogenzi metabolického syndromu a kardiovaskulárních onemocnění (Moreno et al. 2002; Valle et al. 2005), ale i o možnosti pohlížet na leptin jako na prediktor rozvoje těchto onemocnění u adolescentů (Huang et al. 2004).

5.2 IGF-I a IGFBP-3 u obézních dětí ve srovnání se souborem normostenických dětí.

U obézních dětí je pozorována potlačená sekrece růstového hormonu, naopak hladiny významného růstového faktoru IGF-I bývají normální nebo mírně zvýšené. Přes takto narušené hormonální osy zůstává růst obézních dětí většinou normální. Potvrdilo se, že křivka daná hodnotami IGF-I v průběhu dětství a dospívání obézních dětí je při srovnání s referenční skupinou velmi podobná. U většiny obézních dětí se hodnoty IGF-I pohybovaly v pásmu $\pm 1,5$ SDS – porovnávalo se s hodnotami dětí referenční skupiny (Lebl et al. 1997, 2000). U několika jedinců hodnoty IGF-I přesáhly hranici ± 2 SDS, tedy hranici širšího pásma normy. Nejednalo se ale o děti s nadměrnou tělesnou výškou. Dříve publikované hladiny IGF-I u zdravých dětí ve věku 2–18 let (Lebl et al. 1997, 2000) ukazují postupný vzestup s charakteristickým vzrůstem a maximem v období puberty a posléze poklesem koncentrace. Vývoj křivky námi zjištěných hodnot IGF-I u obézních dětí zhruba odpovídá sekreci IGF-I u referenční skupiny dětí. Zatímco ale prudké zvýšení hladin IGF-I pozorujeme u dívek referenčního souboru mezi 10.–11. rokem, u dívek obézních nastává již mezi 9–10 lety. Ve skupině obézních dívek je patrný vrchol sekrece IGF-I mezi 12.–13. rokem, což je asi o rok dříve než bylo pozorováno u dívek referenčního souboru. Časnější pubertální nástup a tedy i časnější dosažení maximálních hodnot IGF-I u obézních dívek pravděpodobně vysvětluje zjištěné statisticky významně vyšší hodnoty u 12letých a naopak nižší u 16letých a 17letých. Signifikantní rozdíly v sekreci IGF-I mezi skupinou chlapců obézních a zdravých nebyly pozorovány. U obézních chlapců je, stejně jako u chlapců referenčního souboru, pubertální vzestup IGF-I pozorován asi o dva roky později než u dívek referenční skupiny, tedy mezi 15.–16. rokem.

Vzhledem k průměrným koncentracím IGFBP-3 dětí referenčního souboru byly u obézních dívek a chlapců pozorovány vyšší hladiny tohoto růstového faktoru zejména u mladších věkových kategorií. Naše pozorování jsou ve shodě se závěry studie Falornio a kol. (1997), kteří popisují rozdílné koncentrace IGFBP-3 v závislosti na stádiu puberty. Zatímco obézní chlapci i dívky v I.–III. stadiu puberty (stanoveno dle Tannera a Whitehouse) vykazovali oproti neobézním signifikantně vyšší koncentrace IGFBP-3, u starších dětí, resp. u dětí v IV.–V. stadiu puberty tyto rozdíly už pozorovány nebyly.

Prezentovaná studie prokázala, stejně jako např. studie Woelfleho et al. (2007) pozitivní korelace mezi IGF-I a IGFBP-3, inzulinem. Ve studii prepubertálních obézních dětí se ale tyto korelace nepotvrdily (Saitoh et al. 1998).

Námi zjištěnou signifikantní korelaci mezi IGF-I a leptinem u obézních dívek naopak nepozoroval Coutant (1998). Pozitivní korelaci mezi leptinem a IGF-I a IGFBP-3 popisuje studie Kilica et al. (2004) u dětí s proteinou malnutricí, ale i u dětí zdravých.

5.3 Stanovení množství tělesného tuku metodami dle Matiegky a Pařízkové, srovnání s metodou DEXA

Sledované antropometrické metody pro stanovení tělesného složení (množství tukové tkáně stanovené metodou dle Matiegky a Pařízkové) významně korelují s hodnotami, které poskytuje metoda DEXA. Nicméně průměrné procento tuku stanovené metodou DEXA je jak u souboru obézních chlapců, tak u souboru obézních dívek statisticky významně vyšší, než průměrné procento tuku určené podle Matiegkových rovnic, a zvláště pak oproti průměrnému procentu tuku určenému podle modifikované metody Pařízkové. U referenčního souboru dívek je trend podobný. Matiegkovy rovnice množství tělesného tuku, ve srovnání s výsledky metody DEXA, značně podhodnocují. Je ovšem třeba vzít v úvahu, že zatímco kaliperační metody poskytují informace pouze o podkožní tukové tkáni, metoda DEXA analyzuje celkový tělesný tuk. Velmi vysoké pozitivní korelace u všech tří skupin byly zaznamenány s množstvím tukové tkáně stanovené pomocí metody DEXA a BMI. Tyto korelace potvrzuje i studie Gouldinga a kol. (1996). Stejně jako v naší analýze byly korelace silnější u štíhlých dívek. Pozitivní korelaci mezi množstvím tukové tkáně a sumou šesti kožních řas obézních dětí a adolescentů na počátku 8 týdenního cvičebního programu popisují Watts a kol. (2007).

Nicméně podle této studie suma šesti kožních řas ani procento tuku vypočítané na základě hodnot kožních řas na konci programu neodpovídaly dobře úbytku tukové tkáně stanovenému pomocí metody DEXA.

I přes patrný rozdíl v hodnotách množství tukové tkáně, které poskytují všechny srovnávané metody, existují mezi metodou DEXA, která je obecně považována za přesnější, a metodami kaliperačními silné pozitivní korelace. Zjištěné rozdíly mohou být zapříčiněny tím, že obě testované antropometrické metody (Matiegka, Pařízková) vycházejí ze starších populačních údajů. Původní vzorce byly tedy sestaveny na základě dat konstitučně odlišné populace. Navíc Pařízková pro sestavení svých rovnic použila populaci sportovců. Proto možná výsledky její metody lépe odpovídají výstupům s DEXA u referenčního souboru štíhlých dívek, což se ostatně týká i korelací mezi výsledky DEXA a metodou podle Matiegky. Do budoucna by bylo vhodné tyto postupy modifikovat pro současnou populaci se zohledněním sekulárního trendu. Nespornou výhodou těchto metodik je jejich finanční nenáročnost a snadná proveditelnost. Z těchto důvodů mají stále svůj význam při běžném sledování změn tělesného složení.

Prezentovaná data jsou dostupná v publikacích Zamrazilová a Bláha (2005) a Bláha a kol. (2004).

5.4 Sledované polymorfismy genů pro *LEPR* a *PPAR α*

V dizertační práci byly sledovány polymorfismy Pro1019Pro, Gln223Arg, Ser343Ser genu pro *LEPR* a polymorfismus Leu162Val genu pro *PPAR α* . Oba geny a jejich proteinové produkty se významně podílejí na regulaci energetické homeostázy, lipidového a glukózového metabolismu. V našem souboru byly sledovány asociace uvedených polymorfismů nejen s antropometrickými a biochemickými charakteristikami dětí s nadváhou a obezitou na počátku redukčního režimu, ale také jejich vliv na změny některých z těchto parametrů po 5–6týdenním pobytu.

Frekvence minoritní alely Arg223 polymorfismu Gln223Arg genu pro *LEPR* v našem souboru 46,6 %. Tento polymorfismus se ovšem vyznačuje výraznými mezipopulačními rozdíly. Zatímco u evropských populací jsou popisovány frekvence alely Arg223 v rozsahu 32–58 %, u asijských a australské populace je nalézána frekvence mnohem vyšší (85–89 %). Naproti tomu velice nízká frekvence této alely (26–32 %) byla zaznamenána u Indiánů kmene Pima (Paracchini et al. 2005). Alelické frekvence ostatních polymorfismů jsou podobné publikovaným. (Mammès et al. 2001, Liu et al.

2004, Mattevi et al. 2002, de Silva et al. 2001, Gouni-Berthold et al. 2004, Tai et al. 2002).

Jedním ze sledovaných polymorfismů byl Pro1019Pro genu pro leptinový receptor (*LEPR*). Jedná se o tichý polymorfismus, tzn. že i přes nukleotidovou záměnu je zařazena opět aminokyselina prolin. Polymorfismus Pro1019Pro je lokalizován v exonu 20 genu pro *LEPR*. Tento exon se vyskytuje v dlouhé izoformě leptinového receptoru. Vysoká koncentrace této izoformy se nachází v hypotalamu, což je u člověka jediný orgán, kde je dlouhá izoforma receptoru přítomna ve vyšších koncentracích než izoforma krátká. Receptory pro leptin se v hypotalamu vyskytují v oblastech, u kterých se předpokládá významná úloha v regulaci příjmu potravin (Haluzík 2002). Frekvence minoritní alely v našem souboru dětí s nadváhou a obezitou byla o něco vyšší (43,2 %) než v jiných studiích, které sledovaly obézní i normostenické jedince (v rozmezí 35–38 %) (Mattevi et al. 2002; de Silva et al. 2001; Mammes et al. 2001). Polymorfismus byl popsán ve vztahu s fenotypem obezity např. u indiánů kmene Pima (Thompson DB 2001). Studie De Silvy (2001) prokázala během dvouletého sledování signifikantní zvýšení tělesné hmotnosti, tělesného tuku a BMI u homozygotek AA. My jsme pozorovali u chlapců homozygotů AA (minoritní alela) oproti homozygotům GG signifikantně nižší pokles hladiny leptinu během redukčního režimu, přestože úbytek tělesné hmotnosti i tukové tkáně byl ve všech skupinách stejný. Přítomnost minoritní alely A v homozygotním stavu tedy pravděpodobně zasahuje do regulace hladiny sérového leptinu, protože úbytek tělesné hmotnosti, resp. tukové tkáně bývá provázen úměrným poklesem koncentrace leptinu.

6 Závěr

Sledovaný soubor dětí s obezitou a nadváhou je jedinečný zejména s ohledem na unifikovaný 5–6týdenní lázeňský redukční režim, a k poměrně velké četnosti. Vzhledem k těmto výjimečným podmínkám bylo možné kvalitně analyzovat odpověď dětí na intervenci spočívající ve vhodně zvolené dietní restrikci a zvýšené pohybové aktivitě, ale především také v edukaci dětí s nadváhou a obezitou v oblasti jídelních zvyklostí a pohybové aktivity.

Výsledky jednoznačně prokázaly, že významná část dětí a adolescentů s obezitou a nadváhou je vzhledem k abnormalitám v lipidovém spektru ohrožena kardiovaskulárními komplikacemi už v útlém věku, nikoliv až v dospělosti.

Studie prověřila validitu odhadu procentuálního i absolutního množství tělesného tuku v souboru obézních i normostenických dětí pomocí klasických kaliperačních metod podle Matiegky a Pařízkové. Jako standard byly použity hodnoty množství tělesného tuku, stanovené metodou DEXA. Kaliperační metody, ve vztahu k DEXA, množství celkového tělesného tuku značně podhodnocují, především metoda podle Pařízkové. Vzhledem k faktu, že metody vycházejí z údajů starších, tedy konstitučně odlišných populací, bylo by vhodné je aktualizovat. Antropometrické metody zauímají při hodnocení tělesného složení v běžné pediatričké praxi s ohledem na svou jednoduchost a neinvazivnost stále významné postavení.

Genetickou analýzou se podařilo prokázat souvislost polymorfismu Pro1019Pro genu pro *LEPR* a rozdílným poklesem koncentrace serového leptinu u chlapců a dívek. Další statisticky významné asociace mezi sledovanými polymorfismy dvou kandidátních genů pro obezitu (*LEPR*, *PPAR α*) a antropometrickými ukazateli tělesného složení či hladinami krevních lipidů se prokázat nepodařilo.

Při dalším sledování obézních dětí by bylo vhodné zaměřit pozornost i na sledování psychobehaviorálních parametrů ovlivňujících jídelní chování, stejně jako podrobněji sledovat inzulinovou rezistenci a senzitivitu.

Výsledky studie poukázaly na důležitost včasného zahájení léčby dětské obezity, jejíž významnou součástí může být i popisovaný lázeňský pobyt.

7 Seznam použité literatury

- Amarencio P, Labreuche J, Touboul PJ. High density lipoprotein-cholesterol and risk of stroke and carotid atherosclerosis: a systematic review. *Atherosclerosis* 2008; 196 (2): 489–496.
- American Diabetes Association. Type 2 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care* 2000; 23: 381–389. Available at: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/reprint/23/3/381>.
- Argente J, Caballo N, Barrios V, Munoz MT, Pozo J, Chowen JA, Morande G, Hernandez M. Multiple endocrine abnormalities of the growth hormone and insulin-like growth factor axis in patients with anorexia nervosa: effect of short- and long-term weight recuperation. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2084–2092.
- Ashwell M, Cole TJ, Dixon AK. Ratio of waist circumference to height is strong predictor of intra-abdominal fat. *BMJ* 1996; 31 (313): 559–560.
- Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996; 77 (14): 1179–1184.
- Attia N, Tamborlane WV, Heptulla R, Maggs D, Grozman A, Sherwin RS, Caprio S. The metabolic syndrome and insulin-like growth factor I regulation in adolescent obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1467–1471.
- Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le Marchand-Brustel Y, Lewin MJ. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998; 20 (394): 790–793.
- Balaban G, Silva GA. Protective effect of breastfeeding against childhood obesity. *J Pediatr (Rio J)* 2004; 80 (1): 7–16.
- Ball GD, McCargar LJ. Childhood obesity in Canada: a review of prevalence estimates and risk factors for cardiovascular diseases and type 2 diabetes. *Can J Appl Physiol* 2003; 28 (1): 117–140.
- Ballerini MG, Ropelato MG, Domene HM, Pennisi P, Heinrich JJ, Jasper HG. Differential impact of simple childhood obesity on the components of the growth hormone-insulin-like growth factor (IGF)-IGF binding proteins axis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2004; 17 (5): 749–757.
- Baserga R, Rubin R: Cell cycle and growth control. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1993; 1: 47–61.
- Bini V, Igli Baroncelli G, Papi F, Celi F, Saggese G, Falorni A. Relationships of serum leptin levels with biochemical markers of bone turnover and with growth factors in normal weight and overweight children. *Horm Res* 2004; 61 (4): 170–175.

- Bláha P. Antropometrie československé populace od 6 do 55 let. Československá spartakiáda 1985. Díl II, část 2. Praha, Ústřední štáb Československé spartakiády 1985 ve spolupráci s ÚV ČSTV a ÚNZVS, 1985, p 357.
- Bláha P. ANTROPO-ein Programm fur automatische Bearbeitung antropologischer Daten. *Wiss. Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin* 1991; 5: 153–156.
- Bláha P, Vignerová J. VI. celostátní antropologický výzkum dětí a mládeže 2001. *Čes-slov Pediat* 2003; 58 (12): 766–770.
- Bláha P, Lisá L, Zamrazilová H, Brabec M, Kouba M, Vacková B. Stanovení tělesného složení obézních dětí. Porovnání metod klasické antropometrie s moderní zobrazovací metodou - duální rentgenovou absorpciometrií. *Čes-slov Pediat* 2004; 59 (4): 176–181.
- Bláha P, Vignerová J, Riedlová J, Kobzová J, Krejčovský L, Brabec M. 6. Celostátní antropologický výzkum dětí a mládeže 2001. Praha, SZÚ, 2005, p 71.
- Boden G, Chen X, Kolaczynski JW, Polansky M. Effects of prolonged hyperinsulinemia on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Invest* 1997; 100 (5): 1107–1113.
- Bouchard, C, Perusse L. Genetic aspects of obesity. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 699, 26–35.
- Bouhours-Nouet N, Gatelais F, Boux de Casson F, Rouleau S, Coutant R. The insulin-like growth factor-I response to growth hormone is increased in prepubertal children with obesity and tall stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (2): 629–35.
- Bronský J, Nedvídková J, Zamrazilová H, Pechová M, Chada M, Kotaska K, Nevorál J, Průša R. Dynamic changes of orexin A and leptin in obese children during body weight reduction. *Physiol Res.* 2007; 56 (1): 89–96.
- Bundred P, Kitchiner D, Buchan I. Prevalence of overweight and obese children between 1989 and 1998: population based series of cross sectional studies. *Br Med J* 2001; 322: 1–4.
- Cali AM, Caprio S. Ectopic fat deposition and the metabolic syndrome in obese children and adolescents. *Horm Res* 2009; 71 Suppl 1: 2–7.
- Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *JAMA* 1986; 256 (20): 2835–8.
- Chagnon YC, Wilmore JH, Borecki IB, Gagnon J, Perusse L, Chagnon M, Collier GR, Leon AS, Skinner JS, Rao DC, and Bouchard C. Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middleaged Caucasian males from the HERITAGE family study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 29–34.
- Chaput E, Saladin R, Silvestre M, Edgar AD. Fenofibrate and rosiglitazone lower serum triglycerides with opposing effects on body weight. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 10; 271 (2): 445–450.

- Charney E, Goodman HC, McBride M, Lyon B, Pratt R. Childhood antecedents of adult obesity. Do chubby infants become obese adults? *N Engl J Med.* 1976 Jul 1;295(1): 6–9.
- Christian AH, Mochari H, Mosca LJ. Waist circumference, body mass index, and their association with cardiometabolic and global risk. *J Cardiometab Syndr* 2009; 4 (1): 12–19.
- Clément K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gormelen M, Dina C, Chambaz J, Lacorte JM, Basdevant A, Bougnères P, Lebouc Y, Froguel P, Guy-Grand B. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 26; 392 (6674): 398–401.
- Cummings DM, Henes S, Kolasa KM, Olsson J, Collier D. Insulin resistance status: predicting weight response in overweight children. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2008; 162 (8): 764–768.
- Costet P, Legendre C, Moré J, Edgar A, Galtier P, Pineau T. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-isoform deficiency leads to progressive dyslipidemia with sexually dimorphic obesity and steatosis. *J Biol Chem* 1998; 6; 273 (45): 29577–29585.
- Coutant R, Lahlou N, Bouvattier C, Bougnères P. Circulating leptin level and growth hormone response to stimulation tests in obese and normal children *Eur J Endocrinol* 1998; 139(6): 591–597.
- Češka R. Dyslipidémie u metabolického syndromu a její léčba. *Medicína po promoci* 2008; Suppl.2: 13.
- Dahlen GH, Guyton JR, Attar M, Farmer JA, Kautz JA, Gotto AM Jr. Association of levels of lipoprotein Lp(a), plasma lipids and other lipoproteins with coronary artery disease documented by angiography. *Circulation* 1986; 74: 758–765.
- Dahlén GH, Stenlund H. Lp(a) lipoprotein is a major risk factor for cardiovascular disease: pathogenic mechanisms and clinical significance. *Clin Genet* 1997; 52 (5): 272–280.
- De Silva AM, Walder KR, Aitman TJ, Gotoda T, Goldstone AP, Hodge AM, de Courten MP, Zimmet PZ, Collier GR. Combination of polymorphisms in OB-R and the OB gene associated with insulin resistance in Nauruan males. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23 (8): 816–822.
- De Silva AM, Walder KR, Boyko EJ, Whitecross KF, Nicholson G, Kotowicz M, Pasco J, Collier GR. Genetic Variation and Obesity in Australian Women: A Prospective Study. *Obesity Research* 2001; 9 (12): 733–740.
- De Simone M, Verrotti A, Tughetti L, Palumbo M, Farello G, Di Cesare E, Bernabei R, Rosato T, Lozzi S, Criscione S. Increased visceral adipose tissue is associated with increased circulating insulin and decreased sex hormone binding globulin levels in massively obese adolescent girls. *J Endocrinol Invest* 2001; 26 (6): 438–444.

- Demerath EW, Reed D, Choh AC, Soloway L, Lee M, Czerwinski SA, Chumlea WC, Siervogel RM, Towne B. Rapid Postnatal Weight Gain and Visceral Adiposity in Adulthood: The Fels Longitudinal Study. *Obesity* (Silver Spring) 2009; Epub ahead of print.
- Deng C, Moinat M, Curtis L, Nadakal A, Preitner F, Boss O, Assimacopoulos-Jeannet F, Seydoux J, Giacobino JP. Effects of beta-adrenoceptor subtype stimulation on obese gene messenger ribonucleic acid and on leptin secretion in mouse brown adipocytes differentiated in culture. *Endocrinology* 1997; 138 (2): 548–552.
- Després JP, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E, Rodés-Cabau J, Bertrand OF, Poirier P. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28 (6): 1039–1049.
- Doney AS, Fischer B, Lee SP, Morris AD, Leese G, Palmer CN. Association of common variation in the PPARA gene with incident myocardial infarction in individuals with type 2 diabetes: a Go-DARTS study. *Nucl Recept* 2005; 25 (3): 4.
- Eckel RH. *Obesity: mechanisms and clinical management*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2003, p 592.
- Endo K, Yanagi H, Hirano C, et al. Association of Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene and no association of Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor gene in Japanese schoolchildren with obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24: 443–449.
- Epstein LH, Paluch RA, Raynor HA. Sex differences in obese children and siblings in family-based obesity treatment. *Obes Res* 2001; 9 (12): 746–753.
- Evans D, Aberle J, Wendt D, Wolf A, Beisiegel U, Mann WA. A polymorphism, L162V, in the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) gene is associated with lower body mass index in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Mol Med* 2001; 79 (4):198–204.
- Falorni A, Bini V, Cabiati G, Papi F, Arzano S, Celi F, Sanasi M. Serum levels of type I procollagen C-terminal propeptide, insulin-like growth factor-I (IGF-I), and IGF binding protein-3 in obese children and adolescents: relationship to gender, pubertal development, growth, insulin, and nutritional status. *Metabolism* 1997; 46 (8): 862–871.
- Feinleib M, Garrison RJ, Fabsitz R, Christian JC, Hrubec Z, Borhani NO, Kannel WB, Rosenman R, Schwartz JT, Wagner JO. The NHLBI twin study of cardiovascular disease risk factors: methodology and summary of results. *Am J Epidemiol* 1977; 106 (4): 284–285.
- Flavell DM, Pineda Torra I, Jamshidi Y, Evans D, Diamond JR, Elkeles RS, Bujac SR, Miller G, Talmud PJ, Staels B, Humphries SE. Variation in the PPARalpha gene is associated with altered function in vitro and plasma lipid concentrations in Type II diabetic subjects. *Diabetologia* 2000; 43 (5): 673–680.

- Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison DB. Years of life lost due to obesity. *JAMA* 2003; 289: 187–193.
- Fomon SJ, Thomas LU, Anderson TA, Nelson SE. Influence of fat and carbohydrate content of diet on food intake of growth of male infants. *Acta Paediatr Scand* 1976; 65: 136.
- Freedman DM, Ron E, Ballard-Barbash R, Doody MM, Linet MS. Body mass index and all-cause mortality in a nationwide US cohort. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30 (5): 822–829.
- Frye C, Heinrich J. Trends and predictors of overweight and obesity in East German children. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27: 963–969.
- Frystyk J, Vestbo E, Skjaerbaek C, Mogensen CE, Orskov H: Free insulin-like growth factors in human obesity. *Metabolism* 1995; 44; Suppl 4: 37–44.
- Gately PJ, Cooke CB, Butterly RJ, Mackreth P, Carroll S. The effects of a children's summer camp programme on weight loss, with a 10 month follow-up. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24 (11): 1445–1452.
- Gately PJ, Cooke CB, Barth JH, Bewick BM, Radley D, Hill AJ. Children's residential weight-loss programs can work: a prospective cohort study of short-term outcomes for overweight and obese children. *Pediatrics*. 2005; 116 (1): 73–77.
- Ghandehari H, Le V, Kamal-Bahl S, Bassin SL, Wong ND. Abdominal obesity and the spectrum of global cardiometabolic risks in US adults. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33 (2): 239–248.
- Gleeson HK, Lissett CA, Shalet SM. Insulin-like growth factor-I response to a single bolus of growth hormone is increased in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90 (2): 1061–1067.
- Goulding A, Gold E, Cannan R, Taylor RW, Williams S, Lewis-Barned NJ. DEXA supports the use of BMI as a measure of fatness in young girls. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; 20 (11): 1014–1021.
- Gouni-Berthold I, Giannakidou E, Müller-Wieland D, Faust M, Kotzka J, Berthold HK, Krone W. Association between the PPARalpha L162V polymorphism, plasma lipoprotein levels, and atherosclerotic disease in patients with diabetes mellitus type 2 and in nondiabetic controls. *Am Heart J* 2004; 147 (6): 1117–1124.
- Gouni-Berthold I, Giannakidou E, Faust M, Berthold HK, Krone W. The peroxisome proliferator-activated receptor delta +294T/C polymorphism in relation to lipoprotein metabolism in patients with diabetes mellitus type 2 and in non-diabetic controls. *Atherosclerosis* 2005; 183 (2): 336–341.
- Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 25; 112 (17): 2735–2752.

- Guerre-Millo M, Gervois P, Raspé E, Madsen L, Poulain P, Derudas B, Herbert JM, Winegar DA, Willson TM, Fruchart JC, Berge RK, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem* 2000; 275 (22): 16638–16642.
- Hainer V, Stunkard A, Kunesová M, Parízková J, Stich V, Allison DB. A twin study of weight loss and metabolic efficiency. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25 (4): 533–537.
- Hainer V. *Základy klinické obezitologie*. Praha, Grada, 2004, p 356.
- Hajnis K, Kunesová M. Development of abdominal and gluteal circumference (waist and hips) in adults. *Cas Lek Cesk* 2000; 139 (17): 537–543.
- Hajnis K, Kunesová M. Abdominal and gluteal circumference as diagnostic criteria for the distribution of fat in childhood, adolescence and early adulthood. *Sb Lek* 2000; 101 (1): 43–49.
- Haluzík M., Svačina Š. *Metabolický syndrom a nukleární receptory: PPAR*. Praha: Grada, 2005, p 126.
- Han HR, Ryu HJ, Cha HS, Go MJ, Ahn Y, Koo BK, Cho YM, Lee HK, Cho NH, Shin C, Shin HD, Kimm K, Kim HL, Oh B, Park KS. Genetic variations in the leptin and leptin receptor genes are associated with type 2 diabetes mellitus and metabolic traits in the Korean female population. *Clin Genet* 2008; 74 (2): 105–115.
- Hebebrand J, Wulfstange H, Goerg T, Ziegler A, Hinney A, Barth N, Mayer H, Remschmidt H. Epidemic obesity: are genetic factors involved via increased rates of assortative mating? *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24 (3): 345–353.
- Haitmann BL, Lissner L, Sörensen TI. Dietary fat intake and weight gain in women genetically predisposed for obesity. *Amer J Clin Nutr* 1995; 61: 1213–1217.
- Herman KM, Craig CL, Gauvin L, Katzmarzyk PT. Tracking of obesity and physical activity from childhood to adulthood: The Physical Activity Longitudinal Study. *Int J Pediatr Obes* 2008 15: 1–8.
- Higgins M, D'Agostino R, Kannel W, Cobb J, Pinsky J. Benefits and adverse effects of weight loss. Observations from the Framingham Study. *Ann Intern Med* 1993; 119 (7 Pt 2): 758–763.
- Ho TF. Cardiovascular risks associated with obesity in children and adolescents. *Ann Acad Med Singapore* 2009; 38 (1): 48–49.
- Holeček M. *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*. Praha: Grada, 2006, p 286.
- <http://www.euro.who.int/Document/e82923.pdf>
- <http://www.euro.who.int/Document/e82923.pdf>
- <http://www.iotf.org>

- <http://www.zijzdrave.cz/tiskovy-servis.html>
- Huang KC, Lin RC, Kormas N, Lee LT, Chen CY, Gill TP, Caterson ID. Plasma leptin is associated with insulin resistance independent of age, body mass index, fat mass, lipids, and pubertal development in nondiabetic adolescents. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28 (4): 470–475.
- Jacob R, Barrett E, Plewe G, Fagin KD, Sherwin RS: Acute effects of insulin-like growth factor I on glucose and amino acid metabolism in the awake fasted rat. Comparison with insulin. *J Clin Invest* 1989; 83 (5): 1717–1723.
- Janssen I. Influence of age on the relation between waist circumference and cardiometabolic risk markers. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19 (3): 163–169.
- Johnson DA. Obesity and the gastroenterologist. Philadelphia, Saunders, 2005, p 172.
- Johnson WD, Kroon JJ, Greenway FL, Bouchard C, Ryan D, Katzmarzyk PT. Prevalence of risk factors for metabolic syndrome in adolescents: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2001–2006 *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009; 163 (4): 371– 377.
- Jones JI, Clemmons DR: Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16 (1): 3–34.
- Juonala M, Viikari JS, Kähönen M, Solakivi T, Helenius H, Jula A, Marniemi J, Taittonen L, Laitinen T, Nikkari T, Raitakari OT. Childhood levels of serum apolipoproteins B and A-I predict carotid intima-media thickness and brachial endothelial function in adulthood: the cardiovascular risk in young Finns study. *J Am Coll Cardiol* 2008; 22, 52 (4): 293–9.
- Juul A, Fisker S, Scheike T, Hertel T, Muller J, Orskov H, Skakkebaek NE. Serum levels of growth hormone binding protein in children with normal and precocious puberty: relation to age, gender, body composition and gonadal steroids. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 52: 165–72.
- Kelishadi R, Cook SR, Motlagh ME, Gouya MM, Ardalan G, Motaghian M, Majdzadeh R, Ramezani MA. Metabolically obese normal weight and phenotypically obese metabolically normal youths: the CASPIAN Study *J Am Diet Assoc* 2008; 108 (1): 82–90.
- Kilic M, Taskin E, Ustundag B, Aygun AD. The evaluation of serum leptin level and other hormonal parameters in children with severe malnutrition. *Clin Biochem* 2004; 37 (5): 382–387.
- Kim JA, Park HS. Association of abdominal fat distribution and cardiometabolic risk factors among obese Korean adolescents. *Diabetes Metab* 2008; 34 (2): 126–130.
- Koopmans SJ, Frolich M, Gribnau EH, Westendorp RG, DeFronzo RA. Effect of hyperinsulinemia on plasma leptin concentrations and food intake in rats. *Am J Physiol.* 1998; 274: E998–E1001.

- Kopecký J, Flachs P. Tkáňový metabolismus a obezita. Fyziologický ústav Akademie věd České republiky. <http://www.lf2.cuni.cz/Ustavy/biochemie/vyuka/metazita.pdf>.
- Korkeila M, Kaprio J, Rissanen A, Koskenvuo M. Effects of gender and age on the heritability of body mass index. *Int J Obes* 1991; 15(10): 647–654.
- Kršek M, Škrha J, Sucharda P, Justová V, Lacinová Z: Změny koncentrací IGF-1 a jeho vazebných proteinů u diabetes mellitus a obezity. *Cas Lek Cesk* 2003; 142 (4): 216–219.
- Kunesová M, Phinney S, Hainer V, Tvrzická E, Stich V, Parížková J, Zák A, Stunkard A. The responses of serum and adipose Fatty acids to a one-year weight reduction regimen in female obese monozygotic twins. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 967: 311–323.
- Lacquemant C, Lepretre F, Pineda Torra I, Manraj M, Charpentier G, Ruiz J, Staels B, Froguel P. Mutation screening of the PPARalpha gene in type 2 diabetes associated with coronary heart disease. *Diabetes Metab* 2000; 26(5): 393–401.
- l'Allemand D, Schmidt S, Rousson V, Brabant G, Gasser T, Gruters A. Associations between body mass, leptin, IGF-I and circulating adrenal androgens in children with obesity and premature adrenarche. *Eur J Endocrinol* 2002; 146(4): 537–43.
- Lamarche B, Moorjani S, Lupien PJ, Cantin B, Bernard PM, Dagenais GR, Després JP. Apolipoprotein A-I and B levels and the risk of ischemic heart disease during a five-year follow-up of men in the Québec cardiovascular study. *Circulation* 1996; 94 (3): 273–278.
- Leach R and Lobstein T. International Obesity Task Force (IOTF) global database on overweight and obesity. 2004, International Obesity Task Force, London.
- Lebl J, Horká I, Pechová M: IGF-I serum levels in health czech children. *Pediatr* 1997; 52: 604–606.
- Lebl J, Krásničanová H, Horká I: Axis growth hormone –IGF-I in children. In: Jenšovský J, Lebl J, Growth hormone, Praha, Galén, 2000: 37–52.
- Lewitt MS, Saunders H, Phyu JL, Baxter RC: Regulation of insulin-like growth factor-binding protein-1 in rat serum. *Diabetes* 1994; 43 (2): 232–239.
- Li C, Ford ES, Mokdad AH, Cook S. Recent trends in waist circumference and waist–height ratio among US children and adolescents. *Pediatrics* 2006; 118: e1390–1398.
- Lisá, L.: Obezita v dětském věku. *Forum Medicinae* 2000; 3: 69–71.
- Liu CY, Wang YQ, Liu HY, Ji JF, Li WH, Bie HL, Li LX. Relationship of variation 3057 G-->A of exon 20 of leptin receptor gene to lipid metabolism and fat distribution of children with obesity. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2004; 21(3): 252.
- Lopez-Sall P, Bard JM, Nazih H, Ciss A, Bobin-Dubigeon C, Sall ND. PPAR alpha-L162V, frequency and relationship with type 2 diabetes among black senegalese people *Ann Biol Clin* 2008; 66 (4): 475–477.

- Lu H, Sun J, Sun L, Shu X, Xu Y, Xie D. Polymorphism of human leptin receptor gene is associated with type 2 diabetic patients complicated with non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(2): 228–232.
- Maassen JA, Romijn JA, Heine RJ. Fatty acid-induced mitochondrial uncoupling in adipocytes as a key protective factor against insulin resistance and beta cell dysfunction: do adipocytes consume sufficient amounts of oxygen to oxidise fatty acids? *Diabetologia*. 2008; 51 (5): 907–908.
- Maffeis C, Corciulo N, Livieri C, Rabbone I, Trifiro G, Falorni A, Guerraggio L, Peverelli P, Cuccarolo G, Bergamschi G, Di Pietro M, Grezzani A. Weist circumference as a predictor of cardiovascular and metabolic risk factor in obese girls. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57 (4): 566–572.
- Mammès O, Aubert R, Betoulle D, Péan F, Herbeth B, Visvikis S, Siest G, Fumeron F. LEPR gene polymorphisms: associations with overweight, fat mass and response to diet in women. *Eur J Clin Invest* 2001; 31 (5): 398–404.
- Mamun AA, Hayatbakhsh MR, O'Callaghan M, Williams G, Najman J. Early overweight and pubertal maturation-pathways of association with young adults' overweight: a longitudinal study. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33 (1): 14–20.
- Mancini FP, Lanni A, Sabatino L, Moreno M, Giannino A, Contaldo F, Colantuoni V, Goglia F. Fenofibrate prevents and reduces body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *FEBS Lett*. 2001; 23; 491(1–2): 154–158.
- Manson JE, Willet WC, Stampfer MJ. Body weight and mortality among women. *N. Engl. J. Med* 1995; 333: 677–685.
- Martin R, Saller K. *Lehrbuch der Anthropologie in systematischer Darstellung*. Stuttgart 1957.
- Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970; 45 (239): 13–23.
- Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969; 44 (235): 291–303.
- Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, Nishimura H, Yoshimasa Y, Tanaka I, Mori T, Nakao K. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997; 3 (9): 1029–1033.
- Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda J, Masuzaki H, Miyawaki T, Azuma N, Natsui K, Nishimura H, Yoshimasa Y, Nishi S, Thompson DB, and Nakao K. Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity. *Diabetologia* 1997; 40: 1204–1210.
- Mattevi VS, Zembrzuski VM, Hutz MH. Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes* 2002; 26: 1179–1185.

- Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 26; 387(6636): 903–908.
- Moreno LA, Sarri´a A, Fleta J, Rodriguez G, Bueno M. Trends in body mass index and overweight prevalence among children and adolescents in the region of Aragón (Spain) from 1985 to 1995. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24: 925–931.
- Moreno LA, Pineda I, Rodríguez G, Fleta J, Giner A, Juste MG, Sarri´a A, Bueno M. Leptin and metabolic syndrome in obese and non-obese children. *Horm Metab Res* 2002; 34 (7): 394-399.
- Nemet D, Barkan S, Epstein Y, Friedland O, Kowen G, Eliakim A. Short- and long-term beneficial effects of a combined dietary-behavioral-physical activity intervention for the treatment of childhood obesity. *Pediatrics*. 2005; 115 (4): e443–449.
- Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999–2004. *JAMA* 2006; 295:1549–1555.
- Ong K, Kratzsch J, Kiess W, Costello M, Scott C, Dunger D: Size at birth and cord blood levels of insulin, insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, IGF-binding protein-1 (IGFBP-1), IGFBP-3, and the soluble IGF-II/mannose-6-phosphate receptor in term human infants. The ALSPAC Study Team. *Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85 (11): 4266–4269.
- Owen CG, Whincup PH, Odoki K, Gilg JA, Cook DG. Infant feeding and blood cholesterol: a study in adolescents and a systematic review. *Pediatrics* 2002; 110 (3): 597–608.
- Pades C, Fernandes T, Moura I, Moreira P, Rosado V. Prevalence of Overweight and Obesity in 7–9-Year-Old Portuguese Children: Trends in Body Mass Index From 1970–2002. *Am J Hum Biol* 2004; 16 (6): 670–678.
- Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005; 162 (2): 101–114.
- Park MJ, Kim HS, Kang JH, Kim DH, Chung CY. Serum levels of insulin-like growth factor (IGF)-I, free IGF-I, IGF binding protein (IGFBP)-1, IGFBP-3 and insulin in obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1999; 12 (2): 139–144.
- Pařízková J. Body fat and physical fitness. M. Nijhoff, Hague, 1977: 32–51.
- Pařízková J., Lisá L. Obezita v dětství a dospívání : terapie a prevence. Praha, Galén, 2007, p 239.
- Phillips LK, Prins JB. The link between abdominal obesity and the metabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep* 2008; 10 (2): 156–164.

- Pombo M, Herrera-Justiniano E, Considine RV, Hermida RC, Galvez MJ, Martin T, Barreiro J, Casanueva FF, Dieguez C. Nocturnal rise of leptin in normal prepubertal and pubertal children and in patients with perinatal stalk-transection syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82 (8): 2751–2754.
- Quijada Z, Paoli M, Zerpa Y, Camacho N, Cichetti R, Villarroel V, Arata-Bellabarba G, Lanes R. The triglyceride/HDL-cholesterol ratio as a marker of cardiovascular risk in obese children; association with traditional and emergent risk factors. *Pediatr Diabetes* 2008; 9 (5): 464–471.
- Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, and Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet* 2001; 108: 233–236.
- Radetti G, Bozzola M, Pasquino B, Paganini C, Agliandolo A, Livieri C, Barreca A. Growth hormone bioactivity, insulin-like growth factors (IGFs), and IGF binding proteins in obese children. *Metabolism* 1998; 47(12): 1490–1493.
- Rand L, Winchester EC, Millwood IY, Penny MA, Kessler AM. Maternal leptin receptor gene variant Gln223Arg is not associated with variation in birth weight or maternal body mass index in UK and South Asian populations. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25 (5): 753–755.
- Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Pérusse L, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14 (4): 529–644.
- Ravussin E, Valencia ME, Esparza J, Bennett PH, Schulz LO. Effects of a traditional lifestyle on obesity in Pima Indians. *Diabetes Care* 1994; 17 (9): 1067–1074.
- Raz I, Eldor R, Cernea S, Shafrir E. Diabetes: insulin resistance and derangements in lipid metabolism. Cure through intervention in fat transport and storage. *Diabetes Metab Res Rev.* 2005 Jan-Feb;21(1):3–14.
- Reiterer EE, Sudi KM, Mayer A, Limbert-Zinterl C, Stalzer-Brunner C, Föger G, Borkenstein MH. Changes in leptin, insulin and body composition in obese children during a weight reduction program. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1999; 12 (6): 853–862.
- Roemmich JN, Clark PA, Berr SS, Mai V, Mantzoros CS, Flier JS, Weltman A, Rogol AD. Gender differences in leptin levels during puberty are related to the subcutaneous fat depot and sex steroids. *Am J Physiol* 1998; 275(3 Pt 1): E543–551.
- Roemmich JN, Clark PA, Walter K, Patrie J, Weltman A, Rogol AD. Pubertal alterations in growth and body composition. V. Energy expenditure, adiposity, and fat distribution. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279 (6): E1426–1436.
- Rolland-Cachera MF, Deheeger M, Guilloud-Bataille M, Avons P, Patois E, Sempé M. Tracking the development of adiposity from one month of age to adulthood. *Ann Hum Biol* 1987; 14 (3): 219–229.

- Rolland-Cachera M-F, Castetbon K, Arnault N, Bellisle F, Romano M-C, Lehingue Y, Frelut M-L, Hercberg S. Body mass index in 7–9-y-old French children frequency of obesity, overweight and thinness. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 1610–1616.
- Sabin MA, Ford A, Hunt L, Jamal R, Crowne EC, Shield JP. Which factors are associated with a successful outcome in a weight management programme for obese children? *J Eval Clin Pract*. 2007; 13 (3): 364–368.
- Saitoh H, Kamoda T, Nakahara S, Hirano T, Nakamura N. Serum concentrations of insulin, insulin-like growth factor(IGF)-I, IGF binding protein (IGFBP)-1 and -3 and growth hormone binding protein in obese children: fasting IGFBP-1 is suppressed in normoinsulinaemic obese children. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998; 48(4): 487–492.
- Sapone A, Peters JM, Sakai S, Tomita S, Papiha SS, Dai R, Friedman FK, Gonzalez FJ. The human peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene: identification and functional characterization of two natural allelic variants. *Pharmacogenetics* 2000; 10 (4): 321–33.
- Sara VR, Hall K. Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol Rev* 1990; 70 (3): 591–614.
- Schlett CL, Massaro JM, Lehman SJ, Bamberg F, O'Donnell CJ, Fox CS, Hoffmann U. Novel measurements of periaortic adipose tissue in comparison to anthropometric measures of obesity, and abdominal adipose tissue. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33 (2): 226–232.
- Schwartz MW, Morton GJ: Obesity: Keeping hunger at bay. *Nature* 2002; 418: 595–597.
- Seidell JC, Visscher TL. Body weight and weight change and their health implications for the elderly. *Eur. J. Clin. Nutr* 2000; 54: 33–39.
- Shaibi GQ, Goran MI. Examining metabolic syndrome definitions in overweight Hispanic youth: a focus on insulin resistance. *J Pediatr* 2008;152 (2): 171–176.
- Shimizu H, Tsuchiya T, Sato N, Shimomura Y, Kobayashi I, Mori M. Troglitazone reduces plasma leptin concentration but increases hunger in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1998; 21 (9): 1470–1474.
- Shin MJ, Kanaya AM, Krauss RM. Polymorphisms in the peroxisome proliferator activated receptor alpha gene are associated with levels of apolipoprotein CIII and triglyceride in African-Americans but not Caucasians. *Atherosclerosis* 2008; 198 (2): 313–319.
- Silbernagel G, Stefan N, Hoffmann MM, Machicao-Arano F, Machann J, Schick F, Winkelmann BR, Boehm BO, Häring HU, Fritsche A, März W. The L162V polymorphism of the peroxisome proliferator activated receptor alpha gene (PPARA) is not associated with type 2 diabetes, BMI or body fat composition. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2009;117 (3): 113–118.

- Silver K, Walston J, Chung WK, Yao F, Parikh VV, Andersen R, Cheskin LJ, Elahi D, Muller D, Leibel RL, and Shuldiner AR. The Gln223Arg and Lys656Asn polymorphisms in the human leptin receptor do not associate with traits related to obesity. *Diabetes* 1997; 46: 1898–1900.
- Sniderman A, Vu H, Cianflone K. Effect of moderate hypertriglyceridemia on the relation of plasma total and LDL apo B levels. *Atherosclerosis* 1991; 89 (2–3): 109–116.
- Solomon CG, Manson JE. Obesity and mortality: a review of the epidemiologic data. *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (4 Suppl): 1044S–1050S.
- Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, Hennekens CH. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1996; 276 (11): 882–888.
- Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998; 18 (3): 213–215.
- Stunkard AJ, Foch TT, Hrubec Z. A twin study of human obesity. *JAMA* 1986; 4; 256 (1): 51–54.
- Stunkard J, Sorensen TI, Hanis C, Teasdale TW, Chakraborty R, Schull WJ, Schulsinger F. An adoption study of human obesity. *N. Engl. J. Med* 1986; 314: 193–198.
- Sung RY, Yu CC, Choi KC, McManus A, Li AM, Xu SL, Chan D, Lo AF, Chan JC, Fok TF. Waist circumference and body mass index in Chinese children: cutoff values for predicting cardiovascular risk factors. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31 (3): 550–558.
- Svačina Š. *Obezita a diabetes*. Galén, 2000, Praha.
- Schwartz MW, Morton GJ. Obesity: Keeping hunger at bay. *Nature* 2002; 418: 595–597.
- Tai ES, Demissie S, Cupples LA, Corella D, Wilson PW, Schaefer EJ, Ordovas JM. Association between the PPARA L162V polymorphism and plasma lipid levels: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22 (5): 805–810.
- Tai ES, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Coltell O, Schaefer EJ, Tucker KL, Ordovas JM; Framingham heart study. Polyunsaturated fatty acids interact with the PPARA-L162V polymorphism to affect plasma triglyceride and apolipoprotein C-III concentrations in the Framingham Heart Study. *J Nutr* 2005; 135 (3): 397–403.
- Tamura A, Mori T, Komiyama A. Unfavorable lipid profiles in mild obesity with excess body fat percentage. *Pediatr Int* 2000; 42 (1): 8–13.
- Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995; 29, 83 (7): 1263–1271.

- Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol Chem* 1997; 272 (10): 6093–6096.
- Teixeira PJ, Sardinha LB, Going SB, Lohman TG. Total and regional fat and serum cardiovascular disease risk factors in lean and obese children and adolescents. *Obes Res* 2001; 9 (8): 432–442.
- Thompson DB, Ravussin E, Bennett PH, and Bogardus C. Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 675–679.
- Togashi K, Masuda H, Rankinen T, Tanaka S, Bouchard C, Kamiya H. A 12-year follow-up study of treated obese children in Japan. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26 (6): 770–777.
- Travers SH, Labarta JI, Gargosky SE, Rosenfeld RG, Jeffers BW, Eckel RH: Insulin-like growth factor binding protein-I levels are strongly associated with insulin sensitivity and obesity in early pubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83 (6): 1935–1939.
- Treuth MS, Butte NF, Sordin JD. Predictors of body fat gain in nonobese viros with a familial predisposition to obesity. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 1212–1218.
- Ukkola O, Tremblay A, Després JP, Chagnon YC, Campfield LA, Bouchard C. Leptin receptor Gln223Arg variant is associated with a cluster of metabolic abnormalities in response to long-term overfeeding. *J Intern Med* 2000; 248 (5): 435–439.
- Uthurralt J, Gordish-Dressman H, Bradbury M, Tesi-Rocha C, Devaney J, Harmon B, Reeves EK, Brandoli C, Hansen BC, Seip RL, Thompson PD, Price TB, Angelopoulos TJ, Clarkson PM, Moyna NM, Pescatello LS, Visich PS, Zoeller RF, Gordon PM, Hoffman EP. PPARalpha L162V underlies variation in serum triglycerides and subcutaneous fat volume in young males. *BMC Med Genet* 2007; 16; 8: 55.
- Valle M, Martos R, Gascón F, Cañete R, Zafra MA, Morales R. Low-grade systemic inflammation, hypoadiponectinemia and a high concentration of leptin are present in very young obese children, and correlate with metabolic syndrome. *Diabetes Metab* 2005; 31 (1): 55–62.
- van Rossum CT, Hoebee B, van Baak MA, Mars M, Saris WH, and Seidell JC. Genetic variation in the leptin receptor gene, leptin, and weight gain in young Dutch adults. *Obes Res* 2003; 11: 377–386.
- van Vliet M, von Rosenstiel IA, Schindhelm RK, Brandjes DP, Beijnen JH, Diamant M. Ethnic differences in cardiometabolic risk profile in an overweight/obese paediatric cohort in the Netherlands: a cross-sectional study. *Cardiovasc Diabetol* 2009; 19; 8: 2.
- Vanhorebeek I, De Vos R, Mesotten D, Wouters PJ, De Wolf-Peeters C, Van den Berghe G. Protection of hepatocyte mitochondrial ultrastructure and function by strict blood glucose control with insulin in critically ill patients. *Lancet* 2005; 365 (9453): 53–59.

- Vatten LJ, Nilsen ST, Odegard RA, Romundstad PR, Austgulen R: Insulin-like growth factor I and leptin in umbilical cord plasma and infant birth size at term. *Pediatrics* 2002; 109(6): 1131–5.
- Vignerová J, Bláha P. Sledování růstu českých dětí a dospívajících; norma, vyhublost, obezita. Státní zdravotní ústav a Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha, ISBN 80–7071–173–6, 2001.
- Virdis A, Ghiadoni L, Masi S, Versari D, Daghini E, Giannarelli C, Salvetti A, Taddei S. Obesity in the childhood: a link to adult hypertension. *Curr Pharm Des* 2009; 15 (10): 1063–1071.
- Vohl MC, Lepage P, Gaudet D, Brewer CG, Bétard C, Perron P, Houde G, Cellier C, Faith JM, Després JP, Morgan K, Hudson TJ. Molecular scanning of the human PPAR α gene: association of the L162v mutation with hyperapobetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 2000; 41 (6): 945–952.
- von Eckardstein A, Schulte H, Cullen P, Assmann G. Lipoprotein(a) further increases the risk of coronary events in men with high global cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37 (2): 434–439.
- Wabitsch M, Jensen PB, Blum WF, Christoffersen CT, Englaro P, Heinze E, Rascher W, Teller W, Tornqvist H, Hauner H. Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells. *Diabetes* 1996; 45 (10): 1435–1438.
- Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein A-I versus HDL cholesterol in the prediction of risk for myocardial infarction and stroke. *Curr Opin Cardiol* 2007; 22 (4): 359–367.
- Watts K, Naylor LH, Davis EA, Jones TW, Beeson B, Bettenay F, Siafarikas A, Bell L, Ackland T, Green DJ. Do skinfolds accurately assess changes in body fat in obese children and adolescents? *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38 (3): 439–444.
- Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, Allen K, Lopes M, Savoye M, Morrison J, Sherwin RS, Caprio S. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*; 350 (23): 2362–2374.
- Weiss R, Caprio S. The metabolic consequences of childhood obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005;19 (3): 405–419.
- WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894, Geneva, 2000.
- Woelfle JF, Harz K, Roth C. Modulation of circulating IGF-1 and IGFBP-3 levels by hormonal regulators of energy homeostasis in obese children, *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007; 115: 17–23.
- Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D, and Mantzoros CS. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4434–4439.

- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364 (9438): 937–952.
- Zamrazilová H, Bláha P. Different methods of body fat assesment in obese children and their comparison. *Acta Universitatis Carolinae Biologica*, 2005, 49: 127–134.
- Zhang YY, Gottardo L, Mlynarski W, Frazier W, Nolan D, Duffy J, Marescotti MC, Gervino EV, Johnstone MT, Mantzoros CS, Avogaro A, Doria A. Genetic variability at the leptin receptor (LEPR) locus is a determinant of plasma fibrinogen and C-reactive protein levels. *Atherosclerosis* 2007; 191 (1): 121–127.

8 Seznam zkratek

apoA, apolipoprotein A

apoB, apolipoprotein B

ATP, adenosintrifosfát

BMI, body mass index, podíl tělesné hmotnosti (kg) a druhé mocniny výšky (m²)

CAV, Celostátní antropologická výzkum

CRHR1, corticotropin releasing hormone receptor 1

CRHR2, corticotropin releasing hormone receptor 2

CRP, C-reaktivní protein, c-reactive protein

DEXA, duální emisní rentgenová absorpcimetrie, dual-energy X-ray absorptiometry

DIT, postprandiální termogeneze, diet induced thermogenesis

dNTP, deoxynukleotidtrifosfát

DNA, deoxyribonukleová kyselina

EASO, European Association for the Study of Obesity

ECOG, European Childhood Obesity Group

EDTA, ethylene diamine tetraacetic acid, kyselina ethylendiamintetraoctová

GPR24, G protein-coupled receptor 24

HDL, high density lipoprotein, lipoprotein s vysokou hustotou

IGF-I, insulin-like growth faktor I, inzulínu podobný růstový faktor I

IGFBP-3, insulin-like growth factor binding protein-3, vazebný protein-3 růstového faktoru podobného inzulínu

IOTF, International Obesity Task Force

IASO, International Association for the Study of Obesity

LDL, low density lipoprotein, lipoprotein s nízkou hustotou

LEP, leptin

LEPR, leptinový receptor

MC3R, melanocortin 3 receptor

MC4R, melanocortin 4 receptor

NTRK2, neurotrophic tyrosine kinase receptor type 2

PCR, polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce

PCSK1, proprotein convertase subtilisin/kexin type 1

POMC, proopiomelanocortin

PPAR, receptory aktivované peroxizomovými proliferátory

PPRE, peroxizome proliferator responsivní elementy

PUFA, polyunsaturated fatty acids, polynenasycené mastné kyseliny

RFLP, restriction fragment length polymorphism, polymorfismus délky restrikčních fragmentů, metoda DNA analýzy

RMR, klidový metabolický obrat, resting metabolic rate

SDS, skóre směrodatné odchylky, standard deviation score

SIM1, single-minded homolog 1

TE pufr, Tris-HCl 10 mmol l⁻¹, EDTA 1 mmol l⁻¹

VLDL, very low density lipoprotein, lipoprotein s velmi nízkou hustotou

WHR, waist to hip ratio, poměr obvodu pasu a boků

9 Přílohy

Práce na grantových projektech

- Vliv polymorfismů vybraných kandidátních genů, nutričních psychobehaviorálních a biochemických ukazatelů na tělesné složení a úspěšnost redukčního režimu obézních pacientů oficiální název. 2008–2009.
- Výskyt metabolického syndromu – jeho prevence včasnou diagnostikou a léčbou obezity u dětí a adolescentů. 2008–2011. Evropský rámcový program.
- Monitorování obezity u dětí. 2008–2011. IGA MZ CR NS/9832-4.
- Studium kandidátních genů a jejich role v patogenezi diabetes mellitus 2. typu a gestačního diabetu. 2004–2008. IGA MZ CR NR/7809-5.
- Vliv genetických, psychobehaviorálních, hormonálních a nutričních faktorů na změny tělesné hmotnosti a zdravotní rizika spojená s obezitou. 2004–2007. IGA MZ CR NR/7800-4.
- Studium genetického pozadí syndromu polycystických ovárií. 2004–2006. GA CR 301/04/1085.
- Monitorování zdravotního stavu obyvatel vybraných regionů České republiky se zaměřením na tyreopatie a jejich etiologická agens oficiální název. 2004–2006. IGA MZ CR NR/7763-3.
- Komplexní metabolicko-genetické hodnocení české dětské obézní populace. 2001-2003. IGA MZ CR NB6597-3/2001.
- Vliv časně postnatální výživy předčasně narozených dětí na jejich antropometrické a hormonální charakteristiky. 2000-2001. Institut Danone.

Články a abstrakta v časopisech s definovaným impakt faktorem:

- Zamrazilová H, Hainer V, Sedláčková D, Papežová H, Kunešová M, Bellisle F, Hill M, Nedvídková, J. Plasma obestatin levels in normal weight, obese and anorectic women. *Physiol Res* 2008; 57, Suppl 1: S49–55.
- Spálová J, Zamrazilová H, Včelák J, Vaňková M, Lukášová P, Hill M, Hlavatá K, Šrámková D, Fried M, Aldhoon B, Kunešová M, Bendlová B, Hainer V. Neuromedin beta: P73T polymorphism in overweight and obese subject. *Physiol Res* 2008; 57, Suppl 1: S39–48.
- Hainer V, Zamrazilová H, Spálová J, Hainerová I, Kunešová M, Aldhoon B, Bendlová B. Role of hereditary factors in weight loss and its maintenance. *Physiol Res* 2008; 57 Suppl 1: S1–15.
- Bronský J, Nedvídková J, Zamrazilová H, Pechová M, Chada M, Kotaška K, Nevorál J, Průša R. Dynamic changes of orexin A, leptin and anthropometrical data in obese children during reduction of body weight. *Physiol Res* 2007; 56: 89–96.

- Bronský J, Nedvídková J, Zamrazilová H, Pechová M, Kotaška K, Průša R. Ghrelin, Leptin, IGF1 and IGF1BP-3 and Their Relationship in Obese Children During Reduction of Body Weight. *Clin Chem Lab Med* 2003; Special Supplement 41: 347.
- Bronský J, Pechová M, Nedvídková J, Zamrazilová H, Průša R. Orexin A Fasting Plasma Levels Increase After Weight Loss In Obese Children and Adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; Special Supplement 36 (4): 520–583.

Ostatní publikace:

- Zamrazilová H, Hainer V, Černá M, Kunešová M, Braunerová R, Štěpán J, Nedvídková J, Hill M, Pařízková J. Vliv časně postnatální výživy u předčasně narozených dětí na jejich antropometrické a hormonální charakteristiky ve věku 10 let. *Cas Lek Cesk* 2007; 146: 278–283.
- Zamrazil V, Čeřovská J, Bílek R, Dvořáková M, Němeček J, Vavrejšnová V, Zamrazilová H. Hodnocení výsledků jodové profylaxe v České republice. *Cas Lek Cesk* 2007; 146 (3): 262–266.
- Čeřovská J, Bílek R, Dvořáková M, Zamrazilová H, Hoskovcová P, Vosátková M, Zamrazil V. Změny v zásobení jódem po eradikaci jódového deficitu a jejich možné příčiny: Randomizovaná studie dětské populace dvou regionů České republiky s odstupem 5 let. První publikace výsledků. *Česko-slovenská pediatrie* 2007; 62 (2): 65–72.
- Čeřovská J, Hoskovcová P, Vosátková M, Zamrazilová H, Zamrazil V. Prevalence hladin C-reaktivního proteinu u dospělé populace dvou regionů České republiky a jejich vztah k tělesnému složení. *Vnitr Lek* 2006; 52: 1045–1050.
- Čeřovská J, Bílek R, Zamrazilová H, Hoskovcová P, Vosátková M. Změny v zásobení jódem české dospělé populace po eradikaci jódového deficitu a jejich příčiny, Randomizovaná studie dospělé populace dvou regionů České republiky s odstupem 5 let *Vnitr Lek* 2006; 52: 858–863.
- Zamrazilová H, Bláha P. Different methods of body fat assesment in obese children and their comparison. *Acta Universitatis Carolinae Biologica*, 2005, 49: 127–134.
- Bláha P, Lisá L, Zamrazilová H, Brabec M, Kouba M, Vacková B. Stanovení tělesného složení obézních dětí. Porovnání metod klasické antropometrie s moderní zobrazovací metodou - duální rentgenovou absorpciometrií. *Čes.-slov. Pediat* 2004; 59 (4): 176–181.
- Kunc J, Zamrazilová H, Bláha P. Antropometrické charakteristiky elitních českých judistů a veslařů. In: *Sborník příspěvků konference "Tělesná výchova a sport 2004, Liberec – Euroregion NISA*. Liberec: Technická univerzita Liberec, 2004.

Přednášky a postery:

- Zamrazilová H, Hlavatá K, Gojová M, Hlavatý P, Kunešová M, Nedvídková J, Hill M, Hainer V. The short-term weight management, adipokines and their relation to health risks. EASO Björntorp Symposium. Differential roles of the various adipose compartments in obesity. Stirin Castle, Czech Republic, 24.–27. March 2009, prezentovaný poster.
- Hlavatý P, Kunešová M, Kalousková P, Kopecký J, Vlacha P, Tvrzická E, Staňková B, Vecka M, Nedvídková J, Srbová L, Hlavatá K, Zamrazilová H, Žák A, Hill M. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on adiponectin level in moderately obese women. EASO Björntorp Symposium. Differential roles of the various adipose compartments in obesity. Stirin Castle, Czech Republic, 24.–27. March 2009, prezentovaný poster.
- Zamrazilová H. Polygenní dědičnost u obezity. Seminář Endokrinologického ústavu a Subkatedry endokrinologie IPVZ. Praha 4.4.2008, přednáška.
- Zamrazilová H, Kosíková L, Vaňková M, Šrámková D, Kunešová M, Bendlová B, Hainer V. PPAR- α : polymorfismus Leu162Val u pacientů s nadváhou a obezitou a u normostenických jedinců. XXXI. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Štrbské pleso, Slovensko, 2.–4.10.2008, ústní sdělení.
- Vaňková M, Zamrazilová H, Lukášová P, Včelák J, Kvasničková H, Vondra K, Bendlová B. Indexy hodnotící orální glukózový toleranční test a studium jejich determinace. XXXI. endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Štrbské pleso, Slovensko, 2.–4.10.2008, poster.
- Zamrazilová H, Šrámková P, Aldhoon B, Šrámková D, Spálová J, Bendlová B, Kunešová M, Hainer V. Uncoupling protein 2: the promoter polymorphism -866 G/A in czech overweight and obese women. Central European Congress on Obesity (from Nutrition to Metabolic Syndrome), Karlovy Vary, 25.–27.9.2008, poster.
- Aldhoon B, Zamrazilová H, Bendlová B, Hainer V. PPAR γ gene polymorphism does not affect the long-term weight loss maintenance in obese women. Central European Congress on Obesity (from Nutrition to Metabolic Syndrome), Karlovy Vary, 25.–27.9.2008, poster.
- Hlavatý P, Kalousková P, Kopecký J, Flachs P, Tvrzická E, Vecka M, Nedvídková J, Srbová L, Hlavatá K, Zamrazilová H, Žák A, Hill M, Kunešová M. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on adiponectin level in moderately obese women. Central European Congress on Obesity (from Nutrition to Metabolic Syndrome), Karlovy Vary, 25.–27.9.2008, poster.
- Zamrazilová H, Kunešová M, Vaňková M, Šrámková P, Václavíková E, Kosíková L, Bendlová B. Monogenní obezita- mutace genu pro POMC a MC4R, Obezitologie 2007, Plzeň, 18.–20.10.2007, ústní sdělení.
- Spálová J, Zamrazilová H, Včelák J, Vaňková M, Lukášová P, Hill M, Hlavatá K, Šrámková P, Fried M, Kunešová M, Bendlová B, Hainer V. Neuromedin beta :sledování polymorfismu P73T u pacientů s nadváhou a obezitou. Obezitologie 2007, 18.–20.10.2007, Plzeň, poster.

- Zamrazilová H, Sedlak P, Adášková J, Bláha P, Mazura I, Zvárová J. Hladiny IGF-1 a IGFBP-3 u českých obézních dětí ve věku 7-17 let. XXX. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Špindlerův mlýn, 3.–6.11.2007, poster.
- Hainer V, Sedláčková D, Zamrazilová H, Papežová H, Kunešová M, Hill M, Nedvídková J. Plasmatický obestatin u normostenických a obézních žen a u pacientek s mentální anorexií. Obezitologie 2006, Brno, 9. –11.11.2006, ústní sdělení.
- Zamrazilová H, Čerovská J, Pobišová Z, Němeček J, Zamrazil V. Vztah funkce štítné žlázy k vybraným antropometrickým parametrům u dětí dvanácti regionů České republiky ve věkových kategoriích 6, 10, 13 a 14–17 let. XXVIII. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 20. –22.10.2005, poster.
- Zamrazilová H, Vaňková M, Šrámková D, Bendlová B, Bláha P. Role of the Gln27Glu polymorphism of the beta 2- adrenoreceptor gene in weight reduction in obese children. 13th European Congress on Obesity, Prague, 26.–29.5.2004, poster.
- Zamrazilová H, Šrámková D, Bláha P. Vztah vybraných antropometrických a genetických parametrů sledovaných ve skupině českých obézních dětí. X. celostátní konference s mezinárodní účastí Obezitologie 2003, Olomouc, 16.–18. 10.2003, ústní sdělení.
- Bláha P, Vignerová J, Brabec M, Zamrazilová H. Adipose tissue in obese children –comparison of assessment by classical anthropological methods and DEXA. 12th European Congress on Obesity, 29 May–1 June 2003, Helsinki, Finland. Int. J. of Obesity, Vol. 27, Suppl. 1 (S76), 2003. ISSN 0307-0565.
- Bronský J, Nedvídková J, Zamrazilová H, Pechová M, Kotaška K, Průša R. Ghrelin, Leptin, IGF1 and IGFBP-3 and Their Relationship in Obese Children During Reduction of Body Weight. Poster. 15th IFCC-FESCC European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Barcelona, Španělsko, 2003.
- Bronský J, Pechová M, Nedvídková J, Zamrazilová H, Průša R. Orexin A Fasting Plasma Levels Increase After Weight Loss In Obese Children and Adolescents. Poster. Symposium of European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN), Praha, 2003.
- Bronský J, Pechová M, Nedvídková J, Zamrazilová H, Průša R. Orexin A Fasting Plasma Levels Increase After Weight Loss In Obese Children and Adolescents. Poster. ESPGHAN Summer School, Almunecar, Španělsko, 2003.
- Bronský J, Nedvídková J, Zamrazilová H, Pechová M, Kotaška K, Průša R. Ghrelin, Leptin, IGF1 and IGFBP-3 and Their Relationship in Obese Children During Reduction of Body Weight. Poster, ESPGHAN Summer School, Almunecar, Španělsko, 2003.

- Bronský J, Nedvídková J, Pechová M, Zamrazilová H, Průša R. Plasma levels of Orexin A in the relationship to biochemical and anthropometrical markers of nutritional status. Přednáška. VI. Celostátní sjezd ČSKB, Hradec Králové, 2003, abstrakt ve sborníku příspěvků, ISBN 80-239-1885-0.
- Šrámková D, Zamrazilová H, Bendlová B, Bláha P. Polymorphism Pro12Ala of the PPARgamma Gene in a Group of Czech Obese Children. 13th Congress of the EAA, Zagreb, Croatia, 30.8.–3.9.2002, Collegium Antropologicum, Suppl. 26: 194–195. ISSN 0350-6134, 2002.
- Bláha P, Brabec M, Šrámková D, Lisá L, Vignerová J, Kouba M, Zamrazilová H, Riedlová Porovnání metod klasické antropometrie stanovení tělesného složení s moderní metodou DEXA. IX. celostátní konference Obezitologie 2002, 24.–26.10. 2002 Karlovy Vary.
- Zamrazilová H, Mikulová R, Černá M, Kunešová M, Bendlová B, Kytarová J, Pařízková J, Hainer V. Výživa v časném postnatálním období u předčasně narozených dětí: vliv na antropometrické charakteristiky, koncentraci leptinu a IGF-1 v dětství. XXIV. Endokrinologické dny, Hradec Králové, 25.–27.9.2001. Abstrakta Diabet. Metabol. Endokrin Výž 2001; 4, 3: 46–47.