



ATHEROSKLEROSA

Praha 2012

ČESKÁ LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
Společnost patologické a klinické fyziologie - Sekce pro aterosklerosu
Česká pediatrická společnost - Komise pro prevenci aterosklerosy v dětském a
adolescentním věku

SLOVENSKÁ LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST
Společnost klinické biochemie - Sekce pro aterosklerosu

ve spolupráci se Společnostmi klinické biochemie, praktických lékařů pro děti a dorost, klinické
výživy a intenzivní metabolické péče, obesitologickou a diabetologickou

4. INTERNÍ KLINIKA 1. LF UK

INSTITUT POSTGRADUÁLNÍHO VZDĚLÁVÁNÍ VE ZDRAVOTNICTVÍ PRAHA
NÁRODNÍ CENTRUM OŠETŘOVATELSTVÍ A NELÉKAŘSKÝCH ZDRAVOTNICKÝCH
OBORŮ BRNO

Vás vítají na sympoziu s edukačním programem

A T H E R O S K L E R O S A

2 0 1 2

diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku
pořádaného na počest životního jubilea doc. MUDr. Jozefa Kollára, DrSc.

P r a h a 12. - 14. září 2012

Hlavní název: ATHEROSKLEROSA 2012
Podnázev: Diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku
Vydavatel: IV. interní klinika 1. LF UK Praha

Náklad: 100 ks
Měsíc a rok vydání: září 2012
Cena: neprodejné

ISBN: 978-80-260-2984-7

ČESTNÉ PŘEDSEDNICTVO

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.

děkan 1. LF UK Praha

Prof. MUDr. Jozef Kollár, DrSc.

president Sekce pro atherosklerosu SSKB

Prof. MUDr. Stanislav Štípek, DrSc.

proděkan 1. LF UK Praha

PROGRAMOVÝ VÝBOR

**Josef Hyánek, Ludmila Kazdová, Jozef Kollár, Eva Kohlíková, Petr Nachtigal,
František Stožický, Eva Tvrzická, Miloš Votruba, Miroslav Zeman, Aleš Žák**

ADRESA SYMPOSIA

Lékařský dům

Sokolská 31

120 26 Praha 2

tel.: 224 266 201-4



Doc. MUDr. Jozef Kollár, DrSc. se narodil 3. dubna 1932. Medicínu studoval nejprve na Lékařské fakultě Univerzity Komenského v Bratislavě, po 3 letech přešel na nově ustanovenou Univerzitu P. J. Šafaříka v Košicích, absolvoval v r. 1956. V letech 1956-67 pracoval nejprve jako praktický lékař, potom jako internista na poliklinice. V r. 1956 se stal odborným asistentem na 1. interní klinice, kde se mj. zabýval výzkumem kardiomyopatií. V r. 1974 obhájil kandidátskou dizertační práci na téma *Klinika alkoholického srdce a polykardiografická studie vlivu etanolu na srdce*.

V r. 1980 obhájil habilitační práci na téma *Vliv etanolu na metabolismus lipidů*. V rámci stipendia WHO studoval v letech 1969-70 biostatiku a epidemiologii rizikových faktorů ICHS na London School Hygiene and Tropical Medicine. Tento pobyt ho nasměroval na další studium. S prof. Takáčem realizoval první epidemiologickou sondu rizikových faktorů ICHS ve vesnických i městských oblastech Východního Slovenska. Popsal též vliv minerálky s vysokým obsahem sodíku na prevalenci esenciální hypertenze u dospělých v geologicky izolovaném okrsku.

Ve spolupráci s prof. Reinišem a doc. Pokorným z 1. LF UK se podílel na uspořádání Symposií o aterosklerose střídavě v Praze a na Slovensku. Po rozdělení státu byla jeho zásluhou uspořádána další 4 Mezinárodní symposia o aterosklerose na Slovensku. V letech 1979-89 byl řešitelem 4 výzkumných úkolů s tematikou epidemiologie rizikových faktorů ICHS. V letech 1984-98 zastával funkci ředitele Ústavu experimentální medicíny, kde byla pod jeho vedením zkoumána problematika reperfuse myokardu po ligatuře koronárních tepen a za podmínek výrazného psychického stresu. V té době publikoval 3 monografie, které získaly cenu prof. Reiniše jako nejlepší monografie z daného oboru.

Zorganizoval 8 Mezinárodních edukačních kurzů o aterosklerose konaných za přítomnosti delegáta Mezinárodní společnosti pro aterosklerosu. Byl dlouholetým vědeckým sekretářem Slovenské sekce pro aterosklerosu v rámci Slovenské společnosti klinické biochemie, v letech 2011-14 jejím předsedou. Od roku 1992 je hlavním odborným redaktorem časopisu *Ateroskleróza*, který je v evidenci Copernicus Publishing Database a vychází především jeho zásluhou.

V odborném růstu se specializoval na vnitřní lékařství, kardiologii a studium metabolismu lipidů a lipoproteinů. Atestace absolvoval v letech 1978 a 1980. Z celkových 40,5 let pracoval 12 let ve zdravotnictví, 16,5 let ve školství a 12 let ve výzkumu. Po dobu 14 let též vykonával diagnostiku srdečních onemocnění v rámci Krajské kardiologické poradny. Výsledky své vědecké práce prezentoval na domácích i zahraničních odborných akcích. Publikoval 159 původních vědeckých sdělení, z toho 21 v zahraničních časopisech, dále 233 přehledných článků a 11 monografií. Přednesl celkem 472 přednášek, z toho 55 na mezinárodních akcích. Citační ohlas doma i v zahraničí byl zaznamenán 175krát.

Za svoji plodnou práci byl oceněn zlatou medailí SLS, medailí SLS Dr. Guotha (zakladatele Slovenské medicíny v Budapešti), zlatou medailí Americké biografické společnosti za celoživotní práci, medailemi Karlovy Univerzity, University P. J. Šafaříka a ČSL vědecko-technické společnosti. Americká biografická instituce ho při příležitosti životního jubilea před 5 lety zařadila mezi pozoruhodné osobnosti světa. V r. 1984 se stal členem New Yorkské akademie věd a je členem několika vědecko-výzkumných mezinárodních společností. V r. 2002 mu bylo uděleno čestné členství Společnosti patologické a klinické fyziologie ČLS JEP. Po dobu 20 let se účastnil symposia „Atherosklerosa – diagnostika, léčba a prevence“ pořádaného touto Společností, kde přednesl celkem 44 plenárních přednášek. Při příležitosti letošního jubilea mu předsednictvo České lékařské společnosti J. E. Purkyně jako ocenění celoživotní práce udělilo čestné členství ČLS JEP.

Výbor Společnosti patologické a klinické fyziologie srdečně blahopřeje k významnému jubileu a do dalších let přeje životní optimismus, pevné zdraví a sílu k další tvořivé spolupráci.

O B S A H

Autor	Str.
Dobreová	1
Dostálová	2
Hyánek	8
Kohlíková	9
Kazdová	37
Koprovíčová	13
Macášek	42
Malínská	17
Oliyarnyk	21
Rosipal	26
Škop	27
Vařeka	47
Zeman	S9
Žák	S1
Ždychová	33

PREVENCIA SRDCOVOMETABOLICKÝCH OCHORENÍ V DETSKOM A JUVENILNOM VEKU

M. Debreová, Š. Rosipal

Metabolická ambulancia, Lipmet s.r.o., Poprad, Slovenská republika

Rozumne koncipovaná prevencia srdcovometabolických ochorení v pediatrii si vyžaduje aktuálny prístup. Riziková pyramída s komplikovanými poruchami metabolizmu okrem päťice orgánov zahŕňa tiež onkologické a duševné choroby. Ihlan umožňuje kaskádový skríning a podchytenie včasných štádií patologických dejov vrátane subklinickej aterosklerózy. Vyhľadávanie ohrozených jedincov sa uskutočňuje cestou univerzálneho skríningu v 11. a 17. roku a selektívneho medzi 6. a 18. rokom života. Obnovená rukoväť univerzálneho skríningu (2008) odporúča vyšetřovať BMI, obvod pásu, krvný tlak, celkovú cholesterolemiiu, HDL a non HDL cholesterol, identifikovať dysmetabolický syndróm. Na detekciu využíva špecifické hodnoty ukazovateľov pre slovenskú detskú populáciu. Manuál poskytuje výklad a klasifikáciu výsledkov ako aj popis zásahov, stanovenia rizikového profilu v 18. roku. Organizačná štruktúra pozostáva z ambulancií všeobecného lekára pre deti a dorast, odborných zariadení obsadených detskými kardiológmi alebo endokrinológmi s certifikáciou a špecializovaných pracovísk. Ochrana pred rizikovými faktormi a jej smerovanie k primárnemu prípadne primordiálnemu typu predstavuje ideál pre aktivity pediatrov. Trpkou konštatáciou zostáva slabá motivácia a záujem zdravotníkov, ale aj celej spoločnosti k preventívnej medicíne. Príčiny suboptimálnej prevencie vytvárajú zložitý komplex. Chýba vôľa sfunkčnit' a cibriť skríningový systém.

INOVOVANÁ VÝŽIVOVÁ DOPORUČENÍ PRO OBYVATELSTVO ČR

Jana Dostálová¹, Pavel Dlouhý², Petr Tláskal³

¹ Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

² Ústav výživy, 3. LF UK, Ruská 87, 100 00 Praha 10

³ Dětská poliklinika, FN Motol, V Úvalu 84, 150 00 Praha 5

Abstract

The full text of Dietary Guidelines for inhabitant of Czech Republic formulated by Czech Nutrition Society in 2012 is presented.

Úvod

Výživě je v současnosti věnována velká pozornost, protože je nejdůležitějším z vnějších faktorů, které ovlivňují zdravotní stav člověka a následně délku jeho života. Odborníci se většinou shodují na 40 % vlivu, někteří uvádějí dokonce 60 % ovlivnění. Ve všech vyspělých zemích jsou proto pro výchovu obyvatelstva ke správné výživě vydávána výživová doporučení pro obyvatelstvo. Cílem těchto doporučení je zlepšit výživu obyvatelstva a tím předcházet řadě onemocnění, jejichž léčba je nákladná a jsou příčinou většiny úmrtí.

I když ve vědě o výživě nedochází často k žádným převratným objevům, k určitým posunům v doporučeních ke správné výživě dochází, a proto jsou výživová doporučení v určitých časových intervalech inovována. Nejpropracovanější systém inovace výživových doporučení mají v USA, kde inovaci zajišťuje Ministerstvo zemědělství (USDA) ve spolupráci s Ministerstvem zdravotnictví a sociálních služeb (HHS). Výživová doporučení inovují pravidelně od roku 1980 každých pět let. Poslední inovovaná Výživová doporučení byla vydána v roce 2010. Na webových stránkách USDA je k dispozici celý rozsáhlý dokument čítající 112 stran (1).

Pro informaci uvádíme jednu z definic výživových doporučení: „Výživová doporučení jsou návody pro spotřebitele u nichž nejde o kvantitativní ukazatele, ale pouze o směrnice ke spotřebě nebo její změně“. Jsou ve dvou základních podobách – slovní nebo grafické (většinou tzv. Výživové pyramidy). Kvantitativní ukazatele pro příjem energie a jednotlivých živin jsou stanoveny v Doporučených výživových dávkách (DVD). Nejnovější DVD v českém jazyce vydala v roce 2011 SPV pod názvem Referenční hodnoty pro příjem živin (2). Jedná se o překlad z německého originálu Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr.

V České republice vydává Výživová doporučení pro obyvatelstvo Ministerstvo zdravotnictví a Společnost pro výživu (SPV). Poslední Výživová doporučení vydala SPV v roce 2004, a proto se rozhodla tato doporučení inovovat. Inovovaná Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky SPV jsou doplněna o výživová doporučení pro dětský věk a těhotné a kojící ženy. Inovovaná výživová doporučení vyšla v časopise Výživa a potraviny (3) a jsou na webových stránkách SPV (4).

Ve všech typech médií, ale i od výživových poradců se můžeme často dozvědět zcela protichůdná doporučení, která patří do oblasti tzv. mýtů, které byly předmětem sdělení v loňském roce. Řada lidí těmto mýtům však věří, a proto by se skuteční odborníci na výživu a zvláště lékaři měli věnovat propagaci správné výživy.

Plné znění textu inovovaných výživových doporučení.

Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky (Výživová doporučení jsou určena pro dospělý a dětský věk)

Ve většině průmyslově vyspělých zemích jsou již po desetiletí vydávána výživová doporučení pro obyvatelstvo, která jsou průběžně inovována.

V České republice vydalo první výživová doporučení pod názvem „Směry výživy obyvatelstva ČSR“ předsednictvo Společnosti pro racionální výživu (v současné době fungující pod názvem Společnost pro výživu) v roce 1986 a v roce 1989 jejich inovovanou formu. V roce 1994 byla Radou výživy Ministerstva zdravotnictví České republiky vypracována doporučení o výživě zdravého obyvatelstva „Jezte zdravě, žijte zdravě“. V roce 2004 vydala Společnost pro výživu "Výživová doporučení pro obyvatelstvo ČR" a v roce 2005 Ministerstvo zdravotnictví ČR leták s názvem „Výživová doporučení pro obyvatelstvo ČR“.

Společnost pro výživu nyní předkládá inovovaná Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky. Jedná se o dokument ve formě určené pro pracovníky, kteří se zabývají prevencí neinfekčních onemocnění hromadného výskytu výživou a propagací správných stravovacích návyků. Oproti předchozím jsou tato doporučení uvedena i ve vztahu k dětskému věku, k výživě těhotných a kojících žen a k výživě starších lidí.

Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky

V roce 2007 byl přijat pracovní dokument komise Evropských společenství s názvem: Strategie pro Evropu týkající se zdravotních problémů souvisejících s výživou, nadváhou a obezitou (bílá kniha). Uvedený dokument uvádí, že lze přepokládat, že 80 % případům nemocí srdce, cévních mozkových příhod, diabetu mellitu 2. typu a 40 % případům rakoviny by bylo možno předejít, pokud by se vyloučily rizikové faktory běžného životního stylu. Podle WHO většina hlavních faktorů, které se uplatňují nepříznivě na zdraví člověka, souvisí s výživou. V pořadí závažnosti jsou to: nadbytečný příjem solí, vysoký příjem alkoholu, nevhodné složení tuku, vysoký příjem energie a nedostatečný příjem ovoce a zeleniny. Nesprávná výživa se tak významně podílí na řadě onemocnění, které ovlivňují aktivitu člověka a zvyšují riziko jeho předčasného úmrtí.

V nutričních parametrech by mělo být dosaženo následující změn, které jsou v souladu s výživovými cíli pro Evropu (WHO) a s doporučením evropských odborných společností:

- upravení příjmu celkové energetické dávky u jednotlivých populačních skupin v souvislosti s pohybovým režimem tak, aby bylo dosaženo rovnováhy mezi jejím příjmem a výdejem pro udržení optimální tělesné hmotnosti v rozmezí BMI 18 - 25 u dospělých, u dětí v rozmezí mezi 10 - 90 percentilem referenčních hodnot BMI nebo poměru hmotnosti k výšce dítěte. U dětí s nitroděložním růstovým opožděním by neměl být při zajištění jejich přiměřeného růstu a vývoje energetický příjem nadměrně navyšován, aby nedocházelo k rozvoji jejich pozdější obezity
- snížení příjmu tuku u dospělé populace tak, aby celkový podíl tuku v energetickém příjmu nepřekročil 30 % optimální energetické hodnoty (tzn. u lehce pracujících dospělých cca 70 g na den), u vyššího energetického výdeje 35 %. U dětí by se měl podíl tuku na celkovém energetickém příjmu postupně snižovat tak, aby ve školním věku tvořil 30 - 35 % energetického příjmu a dále odpovídal doporučením dospělých

- příjem nasycených mastných kyselin by měl být nižší než 10 % (20 g), polenových 7 - 10 % z celkového energetického příjmu. Poměr mastných kyselin řady n-6:n-3 maximálně 5:1. Příjem *trans*-nenasycených mastných kyselin by měl být co nejnižší a neměl by překročit 1 % (cca 2,5 g/den) z celkového energetického příjmu
- snížení příjmu cholesterolu na max. 300 mg za den (s optimem 100 mg na 1000 kcal, včetně dětské populace)
- snížení spotřeby přidaných jednoduchých cukrů na maximálně 10 % z celkové energetické dávky (tzn. u dospělých lehce pracujících cca 60 g na den), při zvýšení podílu polysacharidů. U nekojených dětí má významnou roli příjem oligosacharidů s prebiotickým účinkem k podpoře rozvoje adekvátní střevní mikroflóry
- snížení spotřeby kuchyňské soli (NaCl) na 5 - 6 g za den a preferenci používání soli obohacené jodem. U starších lidí kde je častěji sledovaná hypertenze a další onemocnění, snížení příjmu soli pod 5 g na den. V kojeneckém věku stravu zásadně nesolíme, v pozdějším dětském věku užíváme sůl úměrně potřebám dítěte
- zvýšení příjmu kyseliny askorbové (vitaminu C) na 100 mg denně, u dětí v rámci odpovídajících doporučení
- zvýšení příjmu vlákniny na 30 g za den u dospělých, u dětí od druhého roku života 5 g + počet gramů odpovídajících věku (rokům) dítěte
- zvýšení příjmu dalších ochranných látek jak minerálních, tak vitaminové povahy a dalších přírodních nutrientů, které by zajistily odpovídající antioxidační aktivitu a další ochranné procesy v organismu (zejména Zn, Se, Ca, J, karotenů, vitaminu E, ochranných látek obsažených v zelenině aj.).

K dosažení těchto cílů by mělo dojít ve spotřebě potravin u dospělé populace k následujícím změnám:

a) obecně

- snížení příjmu živočišných tuků a zvýšení podílu rostlinných olejů v celkové dávce tuku, z nich pak zejména oleje olivového a řepkového, pokud možno bez tepelné úpravy pro zajištění optimálního složení mastných kyselin přijímaného tuku. Výrazné omezení příjmu potravin obsahujících kokosový tuk, palmojadrový tuk a palmový olej
- snížení příjmu cukru a omezení jeho náhrady fruktosou nebo sorbitolem
- zvýšení spotřeby zeleniny a ovoce včetně ořechů (vzhledem k vysokému obsahu tuku musí být příjem ořechů v souladu s příjmem ostatních zdrojů tuku, aby nedošlo k překročení celkového příjmu tuku) se zřetelem k přívodu ochranných látek, významných v prevenci nádorových i kardiovaskulárních onemocnění, ale též ve vztahu ke snižování přívodu energie a zvýšení obsahu vlákniny ve stravě. Denní příjem zeleniny a ovoce by měl dosahovat 600 g, včetně zeleniny tepelně upravené, přičemž poměr zeleniny a ovoce by měl být cca 2:1
- zvýšení spotřeby luštěnin jako bohatého zdroje kvalitních rostlinných bílkovin s nízkým obsahem tuku, nízkým glykemickým indexem a vysokým obsahem ochranných látek
- nahrazení výrobků z bílé mouky výrobky z mouky tmavé nebo celozrnné z důvodů snížení příjmu energie a zvýšení příjmu ochranných látek
- preferovat příjem potravin s nižším glykemickým indexem (méně než 70) - luštěniny, celozrnné výrobky, neloupaná ráže, těstoviny aj.
- výrazné zvýšení spotřeby ryb a rybích výrobků, včetně mořských, kde je výhodou u tučnějších ryb vyšší obsah omega 3 mastných kyselin. V celkovém množství cca 400 g/týden

- snížení spotřeby živočišných potravin s vysokým podílem tuku (např. vepřový bok, plnotučné mléko a mléčné výrobky s vysokým obsahem tuku, uzeniny, lahůdkářské výrobky, některé cukrářské výrobky, trvanlivé a jemné pečivo apod.)
- zajištění správného pitného režimu, tzn. denní příjem u dospělých 1,5 - 2 l vhodných druhů nápojů (při zvýšené fyzické námaze nebo zvýšené teplotě okolí přiměřeně více), přednostně neslazených cukrem, nejlépe s přirozenou ovocnou složkou
- alkoholické nápoje je nutno konzumovat umírněně, aby denní příjem alkoholu nepřekročil u mužů 20 g (přibližně 250 ml vína nebo 0,5 l piva nebo 60 ml lihoviny), u žen 10 g (přibližně 125 ml vína nebo 0,3 l piva nebo 40 ml lihoviny)

b) u těhotných a kojících žen

- strava těhotných žen by měla energeticky zajistit optimální váhový přírůstek a vývoj plodu a měla by mít dostatek bílkovin, vitaminů (nenavyšovat však příjem vitamínu A) a minerálních látek (zvláště zinku, jodu, vápníku a železa) i tekutin
- již měsíc před plánovaným početím a dále po dobu prvního trimestru těhotenství by výživa měla zajišťovat dostatečný příjem kyseliny listové, mezi jejíž přirozené zdroje patří především listová zelenina, pomerančová šťáva, sója, pšeničné zrnko, mandle a další potraviny. S výhodou je užívání potravin obohacených o kyselinu listovou
- v druhé polovině těhotenství je vyšší potřeba vápníku, mezi jehož přirozené zdroje patří mléko a mléčné výrobky (navíc denně 2 jogurty nebo 300 g tvarohu nebo 250 ml mléka)
- těhotné ženy by měly pravidelně konzumovat celozrnné a další výrobky z obilovin, zeleninu, čerstvé a sušené ovoce. Přirozeným zdrojem železa je maso, jodu ryby a plody moře
- těhotná žena by se měla vyvarovat konzumace alkoholu
- těhotná i kojící žena by měla ve své výživě preferovat tuky s dostatečným obsahem nenasycených mastných kyselin
- ve třetím trimestru by měla těhotná žena konzumovat nenadýmavou stravu
- u kojící ženy by měl být o 0,5 až 0,75 litru vyšší příjem tekutin, žena by měla konzumovat dostatek bílkovin s preferencí jejich živočišného původu, měla by mít dostatečný příjem vápníku i zinku z jejich přirozených zdrojů
- v případech vegetariánství se doporučuje lakto-ovo vegetariánský způsob výživy

c) u starších lidí

- je nutné věnovat pozornost dostatečnému příjmu tekutin a méně energeticky bohaté, ale nutričně kvalitní výživě
- potřeba bílkovin je u starších lidí vyšší, doporučuje se však snižovat příjem tuků
- mezi nedostatkové složky patří především zinek a vápník, z vitaminů jsou to vitamín D, vitamín C i některé z vitaminů skupiny B (zvláště kyselina listová, pyridoxin a vitamín B12). Z hlediska výživy se doporučuje dostatečně využívat přirozených zdrojů těchto složek výživy.

K dosažení optimálního růstu a vývoje dítěte a prevence rozvoje civilizačních onemocnění by měly být dodržovány určité zásady pro jídelníček dítěte:

- optimální výživou kojence je v prvních šesti měsících věku mateřské mléko, které v této době plně zajišťuje příjem všech živin potřebných pro růst a vývoj dítěte
- jídelníček dítěte by měl respektovat postupný přechod výživy kojenců, batolat, dětí předškolního a školního věku až k výživě adolescentů a dospělých

- strava dítěte ve věku od 1 do 3 ukončených let by měla být podána v pěti porcích, měla by obsahovat alespoň 500 ml mléka nebo mléčných výrobků, 4 - 5 porcí zeleniny a ovoce, 3 - 4 porce chleba a obilovin, 2 porce masa. Maso by mělo být méně tučné. Do jídelníčku by přednostně mělo být zařazováno rybí (bez kostiček), drůbeží a králičí maso. Dítě by nemělo dostávat uzeniny. Je nutné šetřit pamlsky. Pokrmy pro děti nepřesolujeme. Vynecháme všechno ostré a pálivé koření (pepř, čili, kari, pálivá paprika). Pro vysoký obsah solí a glutamové kyseliny nejsou vhodné sójové a worchestrové omáčky, bujónové kostky, masoxy a další podobné přípravky
- strava dítěte v předškolním věku by měla obsahovat 3 - 4 porce mléka a mléčných výrobků, 4 porce zeleniny a ovoce (z toho alespoň dvě porce v syrové formě), 3 - 4 porce chleba či obilovin (do jídelníčku bychom měli postupně zařazovat tmavé celozrnné pečivo), 2 porce masa (používají se všechny druhy masa, s preferencí méně tučného). Do jídelníčku bychom měli zařazovat luštěniny. Obdobně jako v batolecím věku pokrmy nepřesolujeme, vynecháváme ostré a pálivé koření (vhodné je koření z bylinek). Nesmíme zapomínat na pitný režim dítěte
- strava dětí ve školním a adolescentním věku by měla i dále obsahovat v každé porci obiloviny – pečivo (s preferencí celozrnných výrobků) nebo rýži, těstovinu. Denně by měly děti tohoto věku dostávat ve 3-5 porcích zeleninu a ovoce. Dále by mělo mít dítě ve dvou až třech porcích mléko a mléčné výrobky, v 1 - 2 porcích maso (nezapomínat na ryby a drůbež), vejce nebo rostlinné produkty s obsahem kvalitní bílkoviny (sójové výrobky, luštěniny). Volné tuky a cukry by měly být konzumovány omezeně. Džusy a slazené nápoje by měly být ředěny vodou
- z alternativní výživy nelze u dětí doporučit veganství, makrobiotiku, frutariánství a další podobné směry. Vhodně vedená lakto-ovo-vegetariánská dieta omezuje možnosti výběru výživy dítěte, ale je pro zajištění jeho růstu a vývoje možná
- pro zajištění zdravého vývoje dítěte je nejvhodnější dostatečně pestrá strava, ve výběru úměrná věku dítěte, jeho energetickým a nutričním potřebám.

V kulinářské technologii je třeba se zaměřit:

- na racionální přípravu stravy, zejména na snižování ztrát vitaminů a jiných ochranných látek. Preferovat vaření a dušení a zamezit tak zvýšenému příjmu toxických produktů vznikajících při smažení, pečení a grilování, zejména u potravin s vyšším podílem živočišných bílkovin (maso, ryby) a zvýšenému příjmu tuku ze smažených či fritovaných pokrmů
- na preferenci technologií s nižším množstvím přidaného tuku a volit vhodný druh tuku podle druhu technologického postupu
- na zachování dostatečného podílu syrové stravy, zejména zeleniny a ovoce
- na zvýšení spotřeby zeleninových salátů, zejména s přídavkem olivového nebo řepkového oleje a na rozšíření sortimentu zeleninových a luštěninových pokrmů
- na doplňování stravy vhodnými doplňky nebo obohacenými potravinami (např. používat sůl s jodem) při zjištění výrazného nedostatku některých nutričních faktorů.

K dosažení výživových cílů jsou žádoucí změny ve složení potravinářských výrobků, zejména:

- snížit obsah *trans*-nenasycených a nasycených mastných kyselin v jedlých tucích i ve výrobcích, kde se jedlé tuky používají. Omezit používání kokosového a palmového oleje

- snížit obsah cukru v nápojích a některých potravinách např. v džemech, kompotech, ale i v některých druzích pečiva, cukrářských výrobcích, ale i ochucených kysaných mléčných výrobcích a zmrzlině
- rozšířit sortiment výrobků z obilovin s vyšším podílem složek celého zrna a nižším glykemickým indexem
- udržet, eventuálně ještě rozšířit, nabídku mléčných výrobků s nižším obsahem mléčného tuku, především kysaných mléčných výrobků
- rozšířit nabídku zeleninových salátů, zejména čerstvých
- rozšířit nabídku luštěnin, zejména připravených pro rychlou kulinární úpravu
- rozšířit výběr potravin s nižším obsahem soli
- rozšířit sortiment potravin se zvýšeným obsahem složek podporujících zdraví
- zajistit odpovídající označování potravin se všemi informacemi, které jsou rozhodující pro spotřebitele k usměrňování jeho výživy
- dle možností omezovat používání látek přídatných (aditiv, látek s kódem E), zejména konzervačních prostředků, syntetických barviv a fosfátů.

Základním požadavkem je samozřejmě dosažení všech parametrů zdravotní nezávadnosti potravin a pokrmů při zachování principů bezpečnosti potravin.

Je nutno dodržovat správný stravovací režim: jíst pravidelně - tři hlavní denní jídla s maximálním energetickým obsahem pro snídani 20 %, oběd 35 % a večeři 25 - 30 % a dopolední a odpolední svačinu s maximálně 5 - 10 energetickými % a pauzou přibližně 3 hodiny mezi jednotlivými denními jídly.

Při tvorbě jídelníčku je třeba věnovat pozornost jak výběru potravin (je nutné sledovat údaje o složení na etiketách potravinářských výrobků), tak jejich úpravě. Strava by měla být dostatečně pestrá a přiměřená věku, pohlaví, pohybové aktivitě a zdravotnímu stavu.

Za Společnost pro výživu předkládá autorský kolektiv: prof. Ing. Jana Dostálová, CSc., doc. MUDr. Pavel Dlouhý, Ph.D., a MUDr. Petr Tláškal, CSc.

Ke konečné formulaci Výživových doporučení pro obyvatelstvo ČR přispěli svými připomínkami členové Správní rady SPV: prof. MUDr. Michal Anděl, CSc., doc. MUDr. Pavel Kohout, Ph.D., prof. Ing. Karel Kopec, DrSc., doc. MUDr. Marie Kunešová, CSc., MVDr. Halina Matějová, MUDr. Pavel Reil, prof. MUDr. Josef Šimek, DrSc.

Znění Výživových doporučení pro obyvatelstvo ČR bylo projednáno a schváleno presidiem a správní radou Společnosti pro výživu

Na závěr je nutno připomenout, že stále platí nejjednodušší výživové doporučení „**Pestrá strava – základ zdraví**“ a „**Střídmě z bohatého stolu**“.

Literatura

1. <http://www.cnpp.usda.gov/dietaryguidelines.htm> (8. 8. 2011)
2. Referenční hodnoty pro příjem živin, Výživaservis s.r.o., Praha, 2011
3. Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky, Výživa a potraviny 67(3), 80-82, 2012
4. <http://www.vyzivaspol.cz/rubrika-dokumenty/konecne-zneni-vyzivovych-doporuceni.html> (29. 8. 2011)

CHOLESTEROLEMIE A TĚHOTENSTVÍ-KAZUISTIKY Z METABOLICKÉ AMBULANCE NNH

J. Hyánek, V. Martinková, J. Privarová, L. Dubská

Metabolická ambulance, Nemocnice Na Homolce, Praha

Období gravidity je buď ze strachu nebo z nezájmu metabolů i porodníků málo prozkoumané období lidského života, které je provázeno zvýšením hladiny celkového cholesterolu (CCH) nejméně o 50 častěji 100 - 200 %. Zvýšení triacylglycerolů (TAG) je také přítomné, ale není tak výrazné. Zvýšení trvá až do konce laktace. Dokonce i jihoamerické Indiánky známé svou nejnižší cholesterolemií na světě - zvyšují v graviditě svůj cholesterol na dvojnásobek. Zřejmě je vysoký CCH potřebný pro tvorbu dostatečného množství Hedge-Hog proteinu určující úspěšnou organogenezu.

Autoři komentují vlastní zkušenosti s prevencí, diagnostikou a event. léčbou hypercholesterolemie v těhotenském období jak se s ní setkávali za uplynulých 20 let v metabolické ambulanci NNH.

Celkem byla diagnostikována familiární hypercholesterolemie (FH) u 9 gravidních odeslaných do ambulance k diferenciaci; jedinná z nich byla už 5 měs. na statinové léčbě. Žádná další nebyla léčena ani sekvestrany, statiny či ezetolem. U 12 léčených pacientek s FH byla před zamýšlenou graviditou přerušena smíšená léčba na 3 - 6 měs. bezmedikamentosní období a všechny tyto pacientky porodily celkem 14 zdravých dětí s dosud fyziologickým vývojem. Po skončení laktace byly všechny pacientky znova navedeny na kombinovanou léčbu (statin + ezetrol).

Na závěr předkládají zprávu o průběhu těhotenství léčeného 5 měsíců 20mg statinu, ze kterého nedonošené dítě se dožívá dnes 8 let věku, navštěvuje školní docházku a jeho psychomotorický vývoj je zatím zcela normální.

MŮŽE JEDNOMĚSÍČNÍ SUPLEMENTACE KREATINEM OVLIVNIT KREVŇÍ LIPIDY? DOES ONE MONTH CREATINE SUPPLEMENTATION IMPROVE BLOOD LIPIDS?

E. Kohlíková¹, M. Petr¹, T. Navrátil², M. Heyrovský², K. Přistoupilová³, T.I. Přistoupil³

¹ Department of Physiology and Biochemistry, Faculty of Physical Education and Sport, Charles University, José Martího, 162 52 Prague 6, Czech Republic;

² Heyrovský Institute of Physical Chemistry of AS CR, v.v.i., Dolejškova 3, 182 23 Prague 8, Czech Republic, E-mail: navratil@jh-inst.cas.cz;

³ Na Hřebenkách 19, 150 00 Prague 5, Czech Republic

Abstract

One month's administration of creatine (CR) in the dose of 5 g/day to 11 young active sportsmen affected their daily amount of CR excreted into urine, and the levels of cholesterol (CH), of triacylglycerols (TAG), of vitamin B₁₂ and of folates in blood. The probands were divided into 4 groups, according to the amount of CR found in urine, and of folates and vitamin B₁₂ determined in blood.

It is possible that added CR might induce individually higher offer of 2C units, released under catalysis of vitamin B₁₂ from HoCySH and serine in enzymatic reaction catalyzed by CBS, and in this way higher offer of cysteine and succinyl-CoA. This is the main effect of CR in the group D. Both vitamins influence the ratio between glycine (necessary mainly for CR synthesis, beside other metabolic pathways) and serine. The change of serine into glycine can be realized by THF, under catalysis of serine hydroxymethyltransferase. For the opposite change of glycine into serine the metabolic pathway is catalyzed by folates too, but in more complicated way.

Key Words: Creatine (CR), Folates, Vitamin B₁₂, HDL, LDL, TAD, Cholesterol

Úvod

Kreatin (CR) díky svým účinkům bývá v klinické praxi indikován k potlačení symptomů a progresu některých onemocnění včetně neurodegenerativních či glukózové intolerance (11,15,16). Pozornost je věnována i jeho možnému vlivu na lipidový profil a to v především v kombinaci s pohybovým režimem. Na základě doposud publikovaných nálezů lze konstatovat, že podávání CR zvyšuje objem svalové hmoty a tělní tekutiny, tvorbu ATP a výkon spojený s krátkodobou zátěží (6,7,10,11). Naše dosavadní studie spojené s hodnocením vlivu jak krátkodobé tak dlouhodobé suplementace CR se zabývaly především ovlivněním tvorby a vylučování kyseliny thiodiglykolové (TDGA) do moče. Námí zjištěná zvýšená exkrece TDGA po suplementaci CR zřejmě naznačuje nerovnováhu oxidačně-redukčních pochodů. Tomu odpovídá a významná korelace změn hladin TDGA v moči ve vztahu k současnému podávání vitamínu B₁₂ a folátů (1,2,4,11,12). Pro posouzení změn lipidového profilu ve vztahu k CR suplementaci byly u námí hodnocených probandů sledovány také změny hladin celkového cholesterolu, triacylglycerolu, HDL-C a LDL-C.

Experimentální část

Sledovali jsme změny vybraných parametrů jak v krvi tak moči u 11 mladých sportovců po jednoměsíčním podávání kreatin monohydrátu (CR) v dávce 5g/kg⁻¹. Krev byla odebrána před a po měsíční kreatinové suplementaci. Odběry i krevní rozborů byly provedeny pracovištěm KlinLab s.r.o. Praha. V rámci statistického hodnocení změn byly stanoveny

průměry, směrodatné odchylky, vyhodnocen F-test (test rozdílu 2 rozptylů), párový t-test a korelace (4,5,6,7,10,11,12).

Výsledky a diskuse

Měsíční suplementace kreatinem vedla k rozdílným nálezům hladin jak vitamínu B₁₂ a folátů v krvi, tak vylučovaného kreatinu močí. Tyto změny umožnily rozdělit probandy do následujících čtyř skupin.

V první skupině (skupina A - probandi č. 1 - 3), došlo po jednoměsíční suplementaci kreatinem v krvi k poklesu množství vitamínu B₁₂ (v průměru o 14 %), zvýšení folátů (v průměru o 45,4 %) a v moči zvýšeným ztrátám kreatinu, což svědčí pro téměř kompletní využití exogenně dodaného CR. Pokles TAG v krvi u dvou probandů odpovídá jejich zvýšené utilizaci. Vzestup celkového cholesterolu sledoval významnost poklesu TAG, u probanda s nezměněným TAG cholesterol mírně poklesl. U mužů došlo k mírnému vzestupu LDL-C.

Druhá skupina (skupina B - proband č. 4) tvořená jediným mužem byla charakteristická následným vzestupem výše uvedených sledovaných parametrů - tedy jak vitamínu B₁₂ (o 13 %), tak folátů (o 4,3 %) v krvi i kreatinu v moči. Pokles TAG byl sledován poklesem všech cholesterolových parametrů (celkového cholesterolu, HDL-C a LDL-C). Využití exogenně podávaného CR byla v porovnání s muži skupiny A nižší, což může být vyvoláno změněnými metabolickými cestami v souvislosti s využitím 2C jednotek.

Ve třetí skupině (skupina C - probandi č. 5 - 7) vedla kreatinová jednoměsíční suplementace ke zvýšení plasmatické hladiny vitamínu B₁₂ (v průměru o 12,6 %) a kreatinu v moči, ale poklesu folátů (v průměru o 34,4 %) v krvi. U všech probandů došlo ke zvýšení TAG, u jednoho k poklesu jak cholesterolu, tak HDL-C i LDL-C. Zvýšená nabídka CR pravděpodobně vyvolala zvýšenou účast folátů při oxidaci 1C zbytků.

Poslední skupina (skupina D - probandi č. 8 - 11) byla charakteristická vzestupem pouze vitamínu B₁₂ (v průměru o 13,3 %) a poklesem jak folátů (v průměru o 16,5 %) v krvi tak kreatinu v moči. Exogenní podávání CR mohlo paradoxně zvýšit schopnost organismu využít endogenně vytvořený CR, případně zabránit jeho nadbytečné tvorbě. Lipidové parametry byly hodnoceny u tří probandů. K významnému poklesu TAG došlo u jednoho z nich (č. 11 - dg. familiární hyperhomocysteinémie) se současným vzestupem cholesterolových hodnot. Suplementovaný CR pravděpodobně u něj umožnil zpracovat více HoCySH na cystein a homoserin (jedna metabolická cesta) a na methionin (druhá metabolická cesta) (tab.).

Účinek podávaného CR lze hledat v propojení jeho syntézy s intermediáty močovinového a citrátového cyklu a s metabolismem purinových nukleotidů. Syntéza CR je také bezprostředně propojena s recyklací serinu a glycinu v metabolismu fosfolipidů (7,9). Nahrazení endogenní syntézy CR jeho exogenním zdrojem proto může ovlivnit průběh všech těchto návazných metabolických drah a tvorbu energie, která s tím souvisí. Exogenní CR představuje zvýšenou nabídku glycinu a 1C zbytku, případně serinu (12). Glycin se může uplatnit např. při syntéze kolagenu, protoporfyrinu, glykocholové kyseliny apod., ale i jako zdroj serinu pro syntézu fosfolipidů. Hladiny cholesterolu, HDL-C a LDL-C reagovaly shodně na podávání CR jen mírným kolísáním hladin (1,2,13).

Tabulka: Lipidové parametry u jednotlivých probandů před a po měsíční suplementaci kreatinem

číslo probanda	cholesterol (mmol.l ⁻¹)		triacylglyceroly (mmol.l ⁻¹)		HDL-C (mmol.l ⁻¹)		LDL-C (mmol.l ⁻¹)	
	před	po	před	po	před	po	před	po
1	4,47	4,61	0,92	0,56	1,29	1,27	2,74	3,23
2	4,01	4,36	0,59	0,39	1,07	1,17	2,66	2,98
3	5,01	4,92	0,69	0,69	1,13	1,11	3,55	3,53
4	2,68	2,43	0,62	0,47	0,78	0,7	1,74	1,29
5	5,25	5,74	1,29	2,67	1,06	1,18	4,1	3,49
6	4,75	4,53	0,73	1,48	1,33	1,14	3,46	2,47
7	3,45	3,89	0,78	1,42	1,1	1,15	2	2,1
8								
9	4,61	4,51	0,59	0,52	1,75	1,76	2,35	2,43
10	3,79	4,66	0,81	0,45	1,42	1,72	1,87	2,77
11	3,98	4,48	0,62	0,65	1,2	1,52	2,63	2,69
Průměr změny	4,20	4,41	0,76	0,93	1,21	1,27	2,71	2,70
Median	4,24	4,52	0,71	0,61	1,17	1,18	2,65	2,73
Minimum	2,68	2,43	0,59	0,39	0,78	0,7	1,74	1,29
Maximum	5,25	5,74	1,29	2,67	1,75	1,76	4,1	3,53
s	0,78	0,84	0,21	0,73	0,26	0,32	0,78	0,68
Korelace		0,896		0,797		0,866		0,724

Souhrn

Kreatin je v organismu endogenně syntetizován a navíc je přijímán v potravě, přičemž jeho endogenní tvorba se přizpůsobuje exogennímu příjmu, což se projevuje měnící se recipročně hladinou folátů vůči hladině vitamínu B₁₂ v krvi. Podle změn těchto hladin byli probandi rozděleni do čtyř skupin (A, B, C, D). Podávání CR vedlo u všech probandů k nárůstu svalové hmoty a recipročně ztrátě tukové tkáně (2,3,8). Bylo to spojeno se zvýšením hladiny HoCySH (1,3,8,9,11,12,13) v krvi. Při zvýšeném vyplavování CR močí a současně zvýšené hladině folátů v krvi došlo k poklesu TAG po suplementaci CR. Změny HDL-C byly statisticky nevýznamné u všech skupin, většina probandů inklinovala k vzestupu LDL-C.

Acknowledgment

This research has been supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Research Project No. MSM 0021620864 and grant project No. MSM 11510002), by the Czech science foundation (GAČR No. 203/07/1195) and by the Internal Grant Agency of Ministry of Health of the Czech Republic (grant No. 8107-3/2004).

References

1. M.C. Anguera, M.S. Field, C. Perry, H. Ghandour et al: *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 18335.
2. J. Barek, J. Fischer, T. Navrátil, K. Peckova, B. Yosypchuk, *Sensors-Basel* **2006**, *6*, 445.
3. A. Goyer, E. Collakova, R.D. de la Garza, E.P. Quinlivan, J. Williamson, J.F. Gregory, Y. Shachar-Hill, A.D. Hanson, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 26137.
4. E. Kohlíková, M. Petr, T. Navrátil, K. Přistoupilová, T.I. Přistoupil, D. Pelclová, J. Žák and M. Heyrovský: *Atherosklerosa* **2009**. ISBN 978-80-254-5389-6. Praha
5. E. Kohlíková, M. Petr, K. Přistoupilová, T.I. Přistoupil, D. Pelclová, J. Žák, M. Heyrovský, T. Navrátil: *Atherosklerosa* **2008**. ISBN 978-80-254-2834-4. Praha.
6. E. Kohlíková, M. Petr, K. Přistoupilová Z. Šenholdová, T.I. Přistoupil, D. Pelclová, J. Žák, M. Heyrovský, T. Navrátil: *Atherosklerosa* **2007**. ISBN 978-80-254-0238-2. Praha

7. R.K. Murray, K.D. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell: *Harper's Biochemistry*, Appleton and Lange, Stamford **1996**.
8. T. Navrátil, E. Kohlíková, M. Petr, D. Pelclová, M. Heyrovský, K. Přistoupilová: *Physiol Res.* **2010**, 59, 3
9. T. Navrátil, E. Kohlíková, M. Petr, M. Heyrovský, D. Pelclová, K. Přistoupilová, T.I. Přistoupil, Z. Šenholdová: *Food Chem.* **2009**, 112, 500.
10. T. Navrátil, M. Petr, Z. Šenholdová, K. Přistoupilová, T. I. Přistoupil, M. Heyrovský, D. Pelclová, E. Kohlíková: *Physiol. Res.* **2007**, 56, 113.
11. M. Petr, *PhD Thesis*, Charles University, Department of Physiology and Biochemistry, Faculty of Physical Education and Sport, Prague **2007**.
12. K. Přistoupilová, T. Navrátil, M. Petr, Z. Šenholdová, T.I. Přistoupil, D. Pelclová, J. Žák, E. Kohlíková, M. Heyrovský: *Aterosklerosa Praha* **2007**. ISBN 978-80-254-0238-2
13. K. Přistoupilová, T. Navrátil, Z. Šenholdová, T.I. Přistoupil, M. Heyrovský, E. Kohlíková, M. Petr, D. Pelclová: *Aterosklerosa* **2006** Praha. ISBN 80-239-7726-1 Praha
14. K. Přistoupilová, T.I. Přistoupil, T. Navrátil, M. Heyrovský, Z. Šenholdová, D. Pelclová, *Anal. Lett.* **2005**, 38, 613.
15. G. Steventon, R. Waring, S. Sturman, et al: *Med. Sci. Res.* **1999**, 27, 119.
16. M. Tarnopolsky and J. Martin: *Neurology* **1995**, 45, 854.

NADVÁHA V KORELÁCH SO ZMENENOU SÉROVOU KONCENTRÁCIOU APOLIPOPROTEÍNOV AKO POTENCIÁLNY RIZIKOVÝ FAKTOR PREDČASNEJ ATEROTROMBÓZY U VYSOKOŠKOLÁKOV

OVERWEIGHT IN CORRELATION WITH CHANGED SERUM CONCENTRATION OF APOLIPOPROTEINS AS A POTENTIAL RISK FACTOR OF PREMATURE ATHEROTHROMBOSIS IN UNIVERSITY STUDENTS

J. Koprovičová, D. Petrášová

Ústav experimentálnej medicíny LF UPJŠ Košice, Slovenská republika

Abstract

Obesity is the epidemic of 21st century in industrially developed countries in the world. At present it is already a well known fact that overweight also represents a cardiovascular risk. The aim of our study was to find the extent of risk at university students with overweight from the point of view of arising dyslipidemia as a significant risk factor of early atherothrombosis. Dyslipidemia was found at university students with overweight. Besides increased values of lipids, apolipoproteins B and C-III and very atherogenous nonHDL-CH also increased value of insulin resistance index and decreased concentration of protective apoA-I and HDL-CH were found. It means that our probands are significantly at risk due to arising metabolic syndrome as well as early atherothrombosis.

Úvod

Novodobou epidémiou 21. storočia vo vyspelých štátoch sveta sa stáva obezita. Obezita už prestáva byť problémom iba dospelaj populácie. Podľa aktuálnych štatistických údajov sa odhaduje, že v súčasnosti na svete asi 160 miliónov detí a adolescentov je obéznymi, alebo má nadváhu (Pařízková & Lisá, 2007).

Podľa údajov WHO v súčasnosti v Európskom regióne asi polovica obyvateľstva, z toho každé tretie dieťa trpí obezitou, alebo nadváhou. Alarmujúca je skutočnosť, že ročný nárast obezity v súčasnosti je desaťkrát rýchlejší ako bol v roku 1970. Žiaľ, do uvedenej štatistiky zapadá aj nepriaznivá situácia na Slovensku, keďže toho času až 70 % slovenskej populácie má nadváhu, alebo obezitu

Obezita znamená vážny zdravotný problém, pretože výrazne prispieva ku vzniku závažných civilizačných ochorení, predovšetkým na báze predčasnej aterotrombózy.

Cieľ štúdie

Zistiť mieru ohrozenia mladých dospelých, konkrétne vysokoškolákov s nadváhou z hľadiska dyslipidémie, ako závažného rizikového faktora predčasnej aterotrombózy.

Materiál a metódy

Sledovali sme sérovú koncentráciu apolipoproteínov apoA-I, apoB₁₀₀, z lipidov koncentráciu celkového cholesterolu (TCH), triacylglycerolov (TG), cholesterolu – nonHDL (nonHDL-CH), cholesterolu-HDL (HDL-CH) a hodnotu aterogenných indexov apoB₁₀₀/apoA-I a TG/HDL-CH v krvnom sére u 21 vysokoškolákov s nadváhou (BMI = 27 ± 1 kg.m⁻²) s vekovým priemerom 20 ± 2 rokov (NV). Kontrolnú skupinu sme vytvorili z 23 vysokoškolákov s normálnou telesnou hmotnosťou (BMI = 23 ± 2 kg.m⁻²) zrovnateľného vekového priemeru (K).

Koncentráciu apoA-I sme určovali metódou radiálnej imunodifúzie (RID) a koncentráciu apoB₁₀₀ pomocou metódy elektroimunodifúzie (EIA) za použitia štandard a antisér nemeckej

výroby (fy Behringwerke, Marburg). Koncentrácie TCH, TG a HDL-CH sme vyšetřovali pomocou komerčných biochemických setov českej výroby (fy Pliva-La-Chema), pričom HDL-CH sme izolovali precipitačne podľa Gidéza. Koncentráciu nonHDL-CH a hodnoty aterogenných indexov apoB/apoA-I a TG/HDL-CH sme vypočítali z príslušných matematických vzorcov (Friedewald a De Backer).

Výsledky sme vyhodnotili štatisticky χ^2 testom a výpočtom lineárnej regresie.

Výsledky

Priemerné sérové koncentrácie s príslušnými smerodajnými odchýlkami apolipoproteínov (apoA-I, apoB₁₀₀), lipidov (TCH, TG, nonHDL-CH, HDL-CH) ako aj hodnoty aterogenných indexov (apoB/apo A-I, TG/HDL-CH) znázorňujeme graficky (grafy 1 - 8).

V skupine vysokoškolákov s nadváhou (NV) zistili sme štatisticky významne zníženú sérovú koncentráciu protektívneho apoA-I v porovnaní s kontrolnou skupinou vysokoškolákov (K) ($p < 0,01$; graf 1).

Opačná situácia bola v prípade aterogenného apoB₁₀₀, keďže v skupine NV jeho koncentrácia bola štatisticky významne zvýšená ($p < 0,001$; graf 2).

Z lipidov, koncentrácia celkového cholesterolu TCH bola signifikantne zvýšená v skupine NV ($p < 0,01$; graf 3).

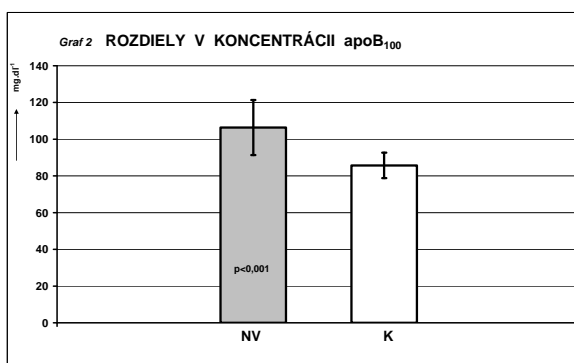
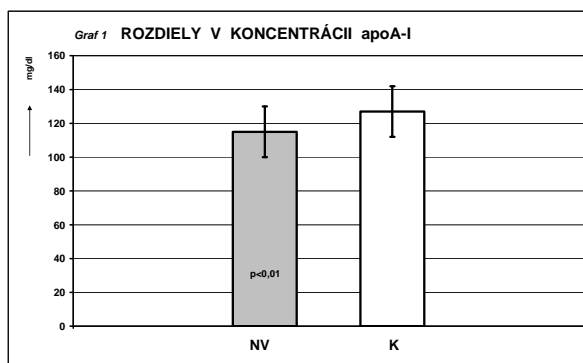
Obdobne, v skupine NV detekovali sme aj významne zvýšenú sérovú koncentráciu triacylglycerolov - TG na vysokej štatistickej významnosti ($p < 0,001$; graf 4).

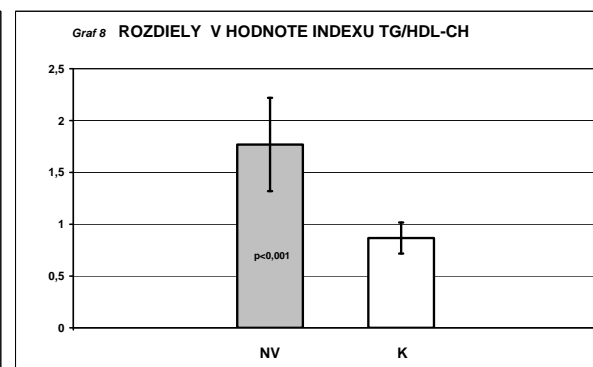
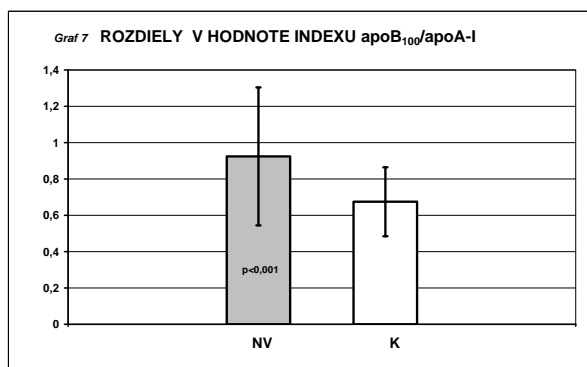
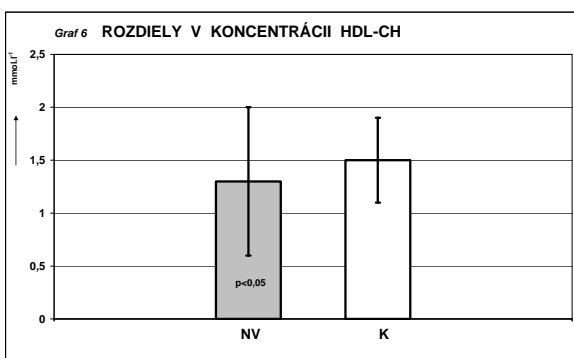
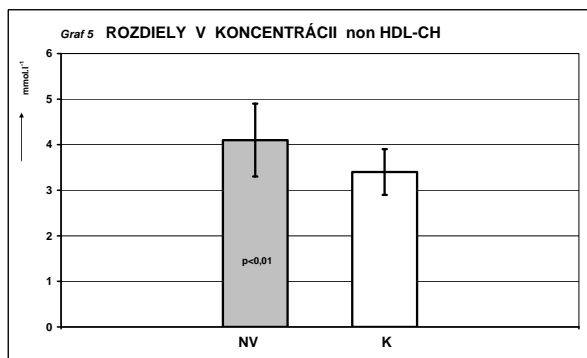
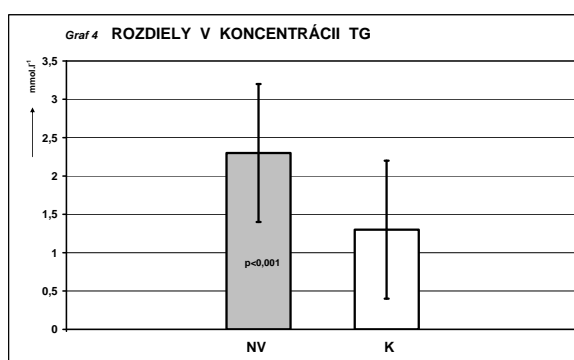
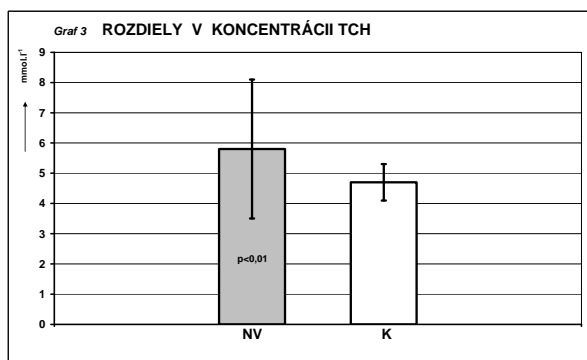
Koncentrácia veľmi aterogenného nonHDL-CH bola taktiež signifikantne zvýšená v skupine NV oproti skupine K ($p < 0,01$; graf 5)

V logickej súvislosti s predchádzajúcimi výsledkami bol aj nález ohľadom koncentrácie HDL-CH, ktorá bola štatisticky významne znížená v skupine NV ($p < 0,01$; graf 6).

Podľa očakávania sme zistili významne vyššiu hodnotu aterogenného indexu apoB₁₀₀/apoA-I v skupine NV v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($p < 0,001$; graf 7).

A napokon zaznamenali sme aj štatisticky významne zvýšenú hodnotu indexu inzulínovej rezistencie TG/HDL-CH v skupine NV oproti skupine K ($p < 0,001$; graf 8).





Diskusia

Okrem zriedkavejších genetických príčin veľmi častou príčinou iniciácie dyslipidémie ako aj aterotrombózy v detskom veku je vznik nadváhy a obezity. V súčasnosti výskyt obezity u detí a adolescentov v mnohých štátoch Európy a sveta sa rapídne šíri a je mnohonásobne vyšší ako v predchádzajúcom období.

V blízkej minulosti sa predpokladalo, že aterotrombóza a jej komplikácie sa vôbec netýkajú detí, iba ľudí stredného a vyššieho veku. Dnes už vieme, že nie je to celkom pravda, keďže máme k dispozícii dôkazy, ktoré svedčia o tom, že rozvoj aterotrombózy začína už v detskom veku. Početné rizikové faktory (cca 250) podmieňujú totiž vznik a progresiu tohto ochorenia v detstve alebo v období adolescencie (Beauloye et al., 2007; Raj, 2012).

Obezita, aj v mladom veku dokázateľne má za následok vznik hyperlipidémie, hypertenzie a tak bezpochyby podporuje aterosklerotické ochorenia vaskulárnych štruktúr a aorty, čo urýchľuje aterosklerotický proces. Dokonca podľa mienky autorov niektorých novších prác už aj nadváha asocjuje s komplexom zmien v lipidovom metabolizme, čo úzko súvisí s predčasným vývojom aterotrombózy už v mladom veku (Nagel et al., 2008).

Keďže aterotrombotické lézie v detskom a juvenilnom veku sa len ťažko dajú identifikovať pomocou klinických príznakov, doporučuje sa upriamiť pozornosť na biochemické parametre predovšetkým lipidového metabolizmu.

Dyslipidémia v súčasnosti patrí medzi najfrekvencovanejšie metabolické choroby detského veku, preto zvýšené hodnoty sérových koncentrácií celkového cholesterolu (TCH), LDL-cholesterolu (LDL-CH) a non-HDL-cholesterolu nie sú zriedkavým nálezom v bežnej klinickej praxi pediatra.

Podľa mienky viacerých významných lipidológov, určovanie koncentrácie apolipoproteínov má lepšiu výpovednú hodnotu pre mieru rizika predčasnej aterotrombózy, ako stanovenie koncentrácie lipidových parametrov (Packard et al., 2009).

Venezuelskí autori popri iných autorov pripisujú význam stanoveniu apolipoproteínov apo B, apo A.I a najmä apo C-III nielen u dospelých ale aj u adolescentov s obezitou. Autori štúdiá na základe ich výsledkov vyhlasujú apo C-III za výborný marker pre inzulínovú rezistenciu a kardiovaskulárne riziko u adolescentov (Fernandéz a spol., 2004).

Inzulínová rezistencia je závažným rizikovým faktorom metabolického syndrómu (MS). Závažnosť MS spočíva najmä v tom, že je hlavným predispozičným rizikovým faktorom aterotrombózy. Zistilo sa totiž, že ľuďom s MS hrozí dvojnásobné riziko výskytu predčasnej aterotrombózy (Standeven a Grant, 2011).

Z výsledkov našej štúdie vyplýva, že vysokoškóľáci s nadváhou už majú dyslipidémiu a okrem zvýšených hodnôt apolipoproteínov B a C-III a veľmi aterogenného nonHDL-CH majú aj zvýšenú hodnotu indexu inzulínovej rezistencie. To znamená, že sú výrazne ohrození vznikom metabolického syndrómu a predčasnej aterotrombózy.

Záver

V štúdií odprezentované koncentrácie lipidov a apolipoproteínov a hodnoty aterogenných indexov u vysokoškóľákov s nadváhou sú už rizikové, a preto môžeme konštatovať, že sú ohrození vznikom predčasnej aterotrombózy.

Práca bola podporená projektom: VEGA 1/0456/11

Literatúra

1. Beauloye, V., Zech, Z. et al.: Determinants of Early Atherosclerosis in Obese Children and Adolescents. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 92, (8), 2007, 3025-3032
2. Packard, C.J., Collins, R.: Major lipids, apolipoproteins and risk of vascular disease. Jama, 11, 302, (18), 2009, 1993-2000.
3. Pařízková, J. a Lisá, L.: Obezita v dětství a dospívání, Galén, 2007, 18-38.
4. Raj, M.: Obesity and cardiovascular risk in children and adolescents. Indian J. Endocrinol. Metab., 16(1), 2012, 13-19.
5. Standeven, K.A., Grant, P.J.: Atherosclerosis and the Metabolic Syndrome. The Metabolic Syndrome. Second Edition, Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2011, 34-49.

PROTIZÁNĚTLIVÉ A ANTIDIABETOGENNÍ ÚČINKY ROSUVASTATINU U TRANSGENNÍCH POTKANŮ SE ZVÝŠENOU EXPRESÍ CRP

ANTIINFLAMMATORY, HYPOLIDEMIC AND ANTIDIABETIC EFFECTS OF ROSUVASTATIN IN CRP-TRANSGENIC RATS

H. Malínská¹, M. Maxová¹, O. Oliyarnyk¹, L. Kazdová¹, M. Pravenec²

¹*Institut klinické a experimentální medicíny, Praha*

²*Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha*

Abstract

The JUPITER trial suggested that treatment with rosuvastatin could reduce relative risk for cardiovascular disease and inflammatory state in individuals normal LDL cholesterol but elevated C-reactive protein (CRP). However, the use of statins in primary prevention remains controversial owing limitation of these study: early termination, exclusion of patients with low levels of CRP, and the increased incidence of diabetes. Recently, we derived „humanized“ spontaneously hypertensive rats (SHR-CRP) in which transgenic expression of human CRP induces inflammation, oxidative stress, several features of metabolic syndrome and target organ damage. In the current study, we tested the effects of rosuvastatin (5 mg/kg for 10 weeks) in this animal model.

Treatment with rosuvastatin was associated with significantly reduced endogenous CRP ($P < 0.05$) and significantly reduced epididymal and perirenal fat depots ($P < 0.05$). In addition, rosuvastatin treatment reduced triglycerides in the liver and kidney ($P < 0.01$) and increased adipose tissue insulin sensitivity ($P < 0.01$) and serum levels of adiponectin ($P < 0.05$). Finally, statin treated rats showed significantly reduced microalbuminuria ($P < 0.01$) suggesting amelioration of renal function.

Results indicate that rosuvastatin may reduce markers of inflammation and may improve insulin resistance and further features of metabolic syndrome.

Úvod

Klíčovou úlohu v patogenezi kardiovaskulárního poškození při metabolickém syndromu a diabetu mají dyslipidémie, oxidační stres a podle novějších poznatků také zánětlivé procesy. Pozornost v posledních letech je zaměřena na roli C-reaktivního proteinu (CRP), který je ukazatelem zánětu. CRP je proteinem akutní fáze a podílí se na přirozené imunitní reakci organismu. Je syntetizován převážně v játrech a v menší míře i v adipocytech. Podnětem k jeho syntéze je zejména cytokin IL-6 produkovaný makrofágy, T lymfocyty a adipocyty (Pepys and Hirschfield, 2003). CRP má schopnost vázat řadu exogenních a endogenních ligandů, ke kterým patří například fosforylovaný cholin v poškozených buněčných membránách nebo chromatin uvolňovaný při nekroze buněk při zánětu. Po navázání ligandu CRP aktivuje komplement, váže se na receptory fagocytů nebo na T a B lymfocyty a umožňuje tak eliminaci navázaných ligandů. Vzhledem k tomu, že CRP se také váže na LDL a je identifikován v aterosklerotických lézích a podle současných představ může hrát kauzální roli v různých stádiích aterosklerózy od endoteliálních dysfunkcí (inhibuje syntázu NO) přes formování a destabilizaci plátu až k aterotrombotickým komplikacím (Kones, 2010).

Pleiotropní účinek statinů

Statiny jsou velmi účinné léky snižující hladiny LDL-cholesterolu, jsou široce používány v sekundární prevenci kardiovaskulárních onemocnění u pacientů s metabolickým

syndromem, diabetem a dyslipidemií. Jejich použití v primární prevenci však zůstává nejasné (Kones, 2010). Kromě svého výrazného hypolipidemického účinku mohou mít statiny i další metabolické účinky a tím mohou přispívat ke snížení kardiovaskulárního rizika nezávisle na hodnotách LDL-cholesterolu. Statiny mohou zlepšovat endoteliální vazorelaxaci zvýšenou produkcí NO, mohou zvyšovat hladiny adiponektinu a tím příznivě ovlivnit inzulinovou senzitivitu. V poslední době byly publikovány studie, které ukázaly, že statiny (pravastatin) mohou zlepšovat metabolismus vitamínu D a zvyšovat jeho cirkulující hladiny (Wilding, 2012). Účinek statinů na vitamin D by mohl být jedním z mechanismů jejich vlivu na inzulinovou senzitivitu. Naproti tomu některé studie ukázaly, že statiny mohou zvyšovat riziko rozvoje diabetu. V mechanismu tohoto negativního účinku by se mohla uplatnit zhoršená inzulinová signalizace v důsledku deplece isoprenoidů (poškození isoprenylace G proteinů může snížit translokaci GLUT4) a deplece intracelulárních dolicholů (poškozuje inzulinovou signalizaci snížením glykosylace inzulinového receptoru) (Beltowski, 2011).

V poslední době jsou především sledovány možné protizánětlivé účinky statinů hlavně s ohledem na hladiny CRP a jejich klinický význam. Ukázalo se totiž, že vyšší hladiny CRP (> 3mg/l) lze detekovat až u jedné třetiny normální populace (Rifai and Ridker, 2003), a že vyšší hladiny CRP jsou spojeny s horší prognosou u nemocných s kardiovaskulárními chorobami, diabetem a hypertenzí (Kones, 2010). Některé studie ukazují, že CRP by mohl být nezávislým prediktorem budoucích kardiovaskulárních příhod (Koenig, 1999).

V současné době není přesně známo, zda má CRP kauzální vztah k patofyziologickým mechanismům kardiovaskulárního poruch nebo zda je jen ukazatelem poškození tkání.

Studie JUPITER – výsledky a její kritika

Účinky statinů v primární prevenci kardiovaskulárních chorob se v poslední době zabývala klinická studie JUPITER, která ukázala, že terapie rosuvastatinem (20mg/den) snížila relativní kardiovaskulární riziko o 44% ($P < 0,00001$) i celkovou mortalitu o 20 % ($P < 0,02$) u osob s normálními hladinami lipidů a zvýšenými hladinami CRP (≥ 2 mg/l). Tato studie byla po 2 letech předčasně ukončena pro své velmi pozitivní výsledky na primární sledovaný cíl (relativní kardiovaskulární riziko) nicméně otevřela řadu otázek a rovněž byly kritizovány její nedostatky (Samson, 2011; Kostapanos, 2011). Kritici poukazují především na nedostatky v souvislosti s výběrem pacientů (chybí kontrolní skupina s nízkou hladinou CRP), předčasným ukončením (studie byla plánovaná na 5 let) a rovněž protizánětlivé účinky nebyly jednoznačně objasněny. Přes všechny svoje nedostatky studie JUPITER ukázala, že snížení hladin CRP snížilo kardiovaskulární riziko bez ohledu na lipidový profil. Téměř polovina kardiovaskulárních příhod se objevuje u pacientů s normální nebo dokonce nižší hladinou LDL-cholesterolu (López, 2012).

Studie JUPITER také jako první publikovala mírně zvýšenou incidenci diabetu po podání rosuvastatinu a zvýšení glykovaného hemoglobinu u nediabetiků léčených rosuvastatinem. Na tuto skutečnost upozornily i další studie (Bellia, 2012), nicméně riziko rozvoje diabetu je nízké ve srovnání se snížením kardiovaskulárního rizika. Vliv rosuvastatinu na glukózovou homeostázu a inzulinovou rezistenci však zůstává stále nejasný.

Cíl

Cílem studie proto bylo sledovat vliv podávání rosuvastatinu u kontrolní skupiny spontánně hypertenzních potkanů (SHR) a u skupiny transgenních SHR potkanů se zvýšenou expresí lidského CRP, který indukuje zánět, oxidační stres a zhoršuje inzulinovou senzitivitu (Pravenec, 2011).

Metodika

Pokusy byly provedeny na dospělých samcích ve stáří 12 měsíců kmene spontánně hypertenzních potkanů (SHR) a u kmene transgenních SHR potkanů se zvýšenou expresí lidského genu pro CRP v játrech (SHR-Tg). Transgenní exprese byla provedena mikroinjektováním zygot s konstruktem obsahujícím cDNA pod kontrolou promotoru ApoE. Rosuvastatin byl podáván v dietě (vysokosacharózová dieta – 70cal%) v dávce 5mg rosuvastatinu/kg t.hm. po dobu 10 týdnů. Pro stanovení sérových koncentrací glukózy, triglyceridů a NEMK byly použity komerčně dostupné kity Erba Lachema a Roche Diagnostic. Koncentrace lidského i potkaního CRP byly sledovány podle ELISA kitů (Alpha Diagnostic USA). Hladiny inzulínu a adiponektinu byly stanoveny ELISA kity (Mercodia Švédsko, B-Bridge USA). Inzulínová sensitivita byla sledována *in vitro* podle inkorporace radioaktivně značené ¹⁴C-glukózy do lipidů v tukové tkáni nebo glykogenu ve svalu. Mikroalbuminurie byla stanovena HPLC metodou s UV detekcí.

Výsledky

Podávání rosuvastatinu neovlivnilo tělesnou hmotnost zvířat, ale významně snížilo hmotnost viscerální tukové tkáně měřené jako hmotnost epididymálního a retroperitoneálního tukového tělesa u kontrolních i u transgenních SHR potkanů (tab. 1). Léčba rosuvastatinem neovlivnila koncentrace transgenního CRP, ale významně snížila koncentrace endogenního CRP u kontrolních (248 ± 45 vs 335 ± 51 $\mu\text{g/ml}$, $P < 0,05$) i transgenních SHR potkanů (138 ± 10 vs 219 ± 22 $\mu\text{g/ml}$, $P < 0,05$). Hladiny dalších prozánětlivých cytokinů MCP-1 a TNF- α nebyly podáváním rosuvastatinu ovlivněny. U transgenních potkanů rosuvastatin příznivě ovlivnil koncentraci triglyceridů v játrech, ledvinách a aortě ($P < 0,01$) a snížil inzulinemii v průběhu OGTT (tab. 2). Rosuvastatin rovněž snížil lipoperoxidaci v játrech měřenou jako TBARS produkty u kontrolních ($P < 0,05$) i transgenních potkanů ($P < 0,001$).

K důležitým nálezům patří výrazné zvýšení senzitivity tukové tkáně k účinku inzulínu po podání rosuvastatinu u kontrolních i transgenních zvířat (tab. 2). Senzitivita svalové tkáně nebyla podáváním rosuvastatinu ovlivněna. Rovněž glukózová tolerance ani hladiny NEMK měřené v průběhu OGTT nebyly podáváním rosuvastatinu ovlivněny. Příznivé ovlivnění senzitivity tukové tkáně spolu se zvýšením hladin adiponektinu v séru (tab. 2) po podání rosuvastatinu mohou přispět ke zlepšení inzulinové rezistence.

Rosuvastatin rovněž výrazně snižoval hodnoty mikroalbuminurie u kontrolních (20 ± 5 vs 57 ± 10 mg/g kreatinin, $P < 0,02$) i transgenních zvířat (100 ± 14 vs 171 ± 18 mg/g kreatinin, $P < 0,01$) a může tak přispět ke zlepšení renálních funkcí. Hladiny cholesterolu v séru ani v játrech nebyly rozdílné po podání rosuvastatinu.

Tabulka 1 Vliv podávání rosuvastatinu na lipidové parametry a hmotnost tukových těles u kontrolních SHR potkanů a u transgenních SHR potkanů se zvýšenou expresí CRP

	SHR	SHR + rosuvastatin	SHR-Tg	SHR-Tg + rosuvastatin
triglyceridy v séru	1,3 \pm 0,1	1,3 \pm 0,2	1,5 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1*
cholesterol v séru	2,2 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	2,9 \pm 0,5	2,9 \pm 0,2
cholesterol v játrech	8,1 \pm 0,2	7,3 \pm 0,3	7,8 \pm 0,3	7,8 \pm 0,2
triglyceridy v játrech	9,0 \pm 0,9	8,5 \pm 0,6	9,8 \pm 0,7	6,8 \pm 0,4**
triglyceridy v ledvinách	6,6 \pm 1,0	4,6 \pm 1,3*	7,5 \pm 1,7	4,5 \pm 1,6**
hm. epididymal. tuk těl	1,45 \pm 0,07	1,17 \pm 0,26*	1,36 \pm 0,15	0,66 \pm 0,10*
hm. retroperiton. tuk těl	1,02 \pm 0,07	0,72 \pm 0,21*	0,92 \pm 0,13	0,54 \pm 0,05*

Hodnoty udávají průměr \pm SE, počet zvířat ve skupině 6-10; * $p < 0,5$; ** $p < 0,01$; rosuvastatin vs kontroly
Jednotky: sérové triglyceridy, sérový cholesterol - mmol/l; tkáňové triglyceridy a cholesterol - $\mu\text{mol/g}$, hmotnost tukových těles – g/100g těl hm

Tabulka 2 Vliv podávání rosuvastatinu na parametry inzulinové senzitivity a mikroalbuminurii u kontrolních SHR potkanů a u transgenních SHR potkanů se zvýšenou expresí CRP

	SHR	SHR + rosuvastatin	SHR-Tg	SHR-Tg + rosuvastatin
lipogeneze	548±61	1132±332***	622±93	1535±182***
adiponektin v séru	6,3±0,4	6,8±0,1	6,8±0,5	8,7±0,5*
AUC při OGTT	803±28	835±29	855±59	801±14
inzulin při OGTT-60 min	0,19±0,01	0,01±0,06**	0,21±0,05	0,11±0,05**
albumin v moči	57±10	20±5**	171±18	100±14**

Hodnoty udávají průměr ± SE, počet zvířat ve skupině 6-10; * p < 0,5; ** p < 0,01; *** p < 0,01; rosuvastatin vs kontroly

Jednotky: inzulin - nmol/l; adiponektin - µg/ml, albumin v moči – mg/g kreatininu, lipogeneze – nmol glukózy/g/2 hod

Lipogeneze inzulinem stimulovaná – hodnocena jako inkorporace ¹⁴C-glukózy do lipidů

Závěr

Rosuvastatin snížil hladiny CRP, ektopické ukládání triglyceridů a mikroalbuminurii a zvýšil hladiny adiponektinu a inzulinovou senzitivitu tukové tkáně. Příznivé účinky byly výraznější u potkanů se zvýšenou expresí lidského CRP. Výsledky podporují hypotézu o protizánětlivých a antidiabetogenních účincích rosuvastatinu.

Studie byla podpořena projektem (Ministerstva zdravotnictví) rozvoje organizace 00023001 (IKEM) - Institucionální podpora.

Literatura

- Bellia A et al. *Atherosclerosis* **223**: 197-203, 2012.
- Beltowski J et al. *Atherosclerosis* **219**: 526-531, 2011.
- Koenig W, Sund M, Frohlich M et al. *Circulation* **99**: 237-242, 1999.
- Kones R. *Drug Design, Development and Therapy* **4**: 383-413, 2010.
- Kostapanos MS, Elisaf MS. *World J Cardiol* **3**: 207-214, 2011.
- López A, Wright JM. *Int J Occup Environ Health* **18**: 70-78, 2012.
- Pepys MB and Hirschfield GM, *J Clin Invest* **111**: 1805-1812, 2003.
- Pravenec M et al. *Hypertension* **57**: 731-7, 2011.
- Rifai N a Ridker PM *Clin Chem* **49**:666-229, 2003.
- Samson RH, Nair DG. *Semin Vasc Surg* **24**: 172-179, 2011.
- Wilding PM. *Br J Nurs* **21**: 214-220, 2012.

ACTIVATION OF TRANSCRIPTIONAL FACTOR NRF2 IN THE PREVENTION AND TREATMENT OF COMPLICATIONS ASSOCIATED WITH METABOLIC SYNDROME

O. Oliyarnyk¹, H. Malinska¹, H. Seidlova¹, J. Urbanova¹, L. Kazdova¹, M. Pravenec²

¹*Department of Metabolism and Diabetes, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic*

²*Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic., Prague, Czech Republic*

Abstract

Nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2 or Nfe2l2) is a key transcription factor responsible for constitutive and inducible expression of ARE-regulated genes of antioxidant enzymes. To test the role Nrf2 in the pathogenesis of metabolic syndrome, we derived a transgenic line of the spontaneously hypertensive rat (SHR) overexpressing Nrf2 cDNA. Nrf2 overexpression was associated with increased activities of antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase in liver (276 ± 11 vs 200 ± 10 μ M NADPH min/ mg protein, $p < 0.05$), myocardium (132 ± 8 vs 101 ± 9 , $p < 0.05$), aorta (63 ± 5 vs 48 ± 3 , $p < 0.05$), and renal cortex (191 ± 8 vs 138 ± 7 , $p < 0.001$). Activity of glutathione transferase was increased in plasma (6.38 ± 0.29 vs 4.74 ± 0.36 nM CDNB/min/ml, $p < 0.01$), liver (169 ± 9 vs 132 ± 6 nM CDNB/min/mg, $p < 0.05$), myocardium (30.7 ± 1.4 vs 24.4 ± 0.9 , $p < 0.01$), aorta (2.664 ± 0.161 vs 2.027 ± 0.181 , $p < 0.05$), and renal cortex (64 ± 2 vs 49 ± 2 , $p < 0.001$). Activation of antioxidant enzymes contributed to decreased lipid peroxidation in all investigated tissues measured as concentration of thiobarbituric acid reactive substances. Supplementation with natural sources of Nrf2 inducers might have a beneficial effect on antioxidant system in treatment of different pathologies associated with metabolic syndrome.

Oxidative stress has been implicated as a casual factor in the pathogenesis of metabolic syndrome. Understanding the molecular pathway(s) of antioxidant genes regulation is important for developing antioxidant-inducing agents for the intervention of complications associated with metabolic syndrome. Nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (*Nrf2* or *Nfe2l2*) is a key molecule in the regulation of more than 600 genes including: 1) antioxidant enzymes (e.g., haem oxygenase 1, NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1); 2) conjugating enzymes (e.g. glutathione S-transferases and uridine diphosphoglucuronosyltransferases); 3) proteins that enhance export of xenobiotics and/or their metabolites (e.g., solute carrier- and ATP-binding cassette transporters); 4) enzymes that participate in the synthesis and regeneration of glutathione (e.g., γ -glutamylcysteine ligase, glutathione reductase); 5) enzymes that promote the synthesis of reducing equivalents, i.e., NADPH (e.g., glucose 6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase); 6) enzymes that inhibit inflammation (e.g., leukotriene B₄ dehydrogenase); 7) proteins that do not have enzymatic activities, but are nevertheless essential for cytoprotection (e.g., ferritin which has an enormous capacity to protect against iron overload, metallothioneins); 8) proteins that participate in the repair and removal of damaged proteins (e.g., subunits of the 26S proteasome); 9) proteins that regulate the expression of other transcription factors and growth factors. [1].

Under basal resting conditions, *Nrf2* is sequestered in the cytoplasm by the cytoskeleton-associated, Kelch-like ECH-associated protein 1 (*Keap1*). *Keap1* functions as a negative regulator of *Nrf2* by promoting ubiquitination and proteasomal degradation of Nrf2[13] M. Furukawa and Y. Xiong, BTB protein Keap1 targets antioxidant transcription factor Nrf2 for ubiquitination by the Cullin 3-Roc1 ligase, Mol. Cell. Biol. 25 (2005), pp.

162–171. Full Text via CrossRef | View Record in Scopus | Cited By in Scopus (156). Upon stimulation of cells with free radicals, the reactive cysteine (Cys 151, Cys273, Cys288 and Cys 297) residues within *Keap1* undergo oxidation and form intramolecular disulfide bonds. *Nrf2* detaches from *Keap1*, translocates into the nucleus and forms a heterodimer with a small *Maf* (*sMaf*) protein. The *Nrf2*–*sMaf* dimer then binds to antioxidant response element (ARE), a cis-acting DNA regulatory element with a core nucleotide sequence of 5'-GTGACNNNGCN-3', localized in the promoter region of many genes coding for endogenous antioxidant and detoxifying enzymes (see above) [1]. Another mechanism of *Nrf2* induction is stabilization of *Nrf2* protein due to phosphorylation by different kinases: protein kinase C δ (in the position Ser40), mitogen activated protein kinases (in the positions Ser215, Ser480, Ser558, Tre559, Ser577) [2].

Nrf2 knockout mice show a deficiency in this coordinated gene regulatory program and have a higher susceptibility to oxidative stress and chemical carcinogenesis, are highly prone to developing fatty liver/steatohepatitis when fed a special diet deficient in methionine and choline. The absence of *Nrf2* leads to activation of serine/threonine kinases, which phosphorylates key components in the insulin signaling pathway (IRS-1 and IRS-2) disrupting the ability of the IRS proteins to interact with insulin receptor. As a consequence, phosphoinositol-3-kinase is inactivated and its downstream insulin signaling is impaired. Thus, deficiency of *Nrf2* activity and expression play an important role in the development of insulin resistance [3].

Although many studies report *Nrf2* induced *expression* of antioxidant enzymes, most experiments have been done in vitro or using *Nrf2* knockout mice, and limited information is available about the effect of *Nrf2* on antioxidant enzymes *activity*. We derived a new transgenic line of the spontaneously hypertensive rat (SHR) overexpressing *Nrf2* and determined the activity of the most important antioxidant enzymes: superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione reductase (GR), glutathione transferase (GST), thioredoxin, catalase, concentration of reduced glutathione (GSH) and lipid peroxidation products - conjugated dienes and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). These parameters were measured in plasma, liver, myocardium, aorta and renal cortex - tissues mostly damaged by metabolic disorders and hypertension in SHR rats.

We derived a transgenic line of the SHR rats by microinjecting zygotes with the mix of the Sleeping Beauty (SB) construct containing mice *Nrf2* cDNA under control of the CAGGS universal promoter and the SB100X transposase (referred to as the SHR-*Nrf2* transgenic rats). Control group comprised age-matched nontransgenic SHRs. All groups were fed a high fructose diet (60% fructose). Antioxidant enzymes activities were detected using kits of Cayman Chemicals, MI, USA, concentrations of GSH, conjugated dienes and TBARS were measured spectrophotometrically according to previously described methods [for review see 4].

Activity of antioxidant enzyme SOD increased only in renal cortex of the SHR-*Nrf2* transgenic rats in comparison to SHR controls (0.054 ± 0.002 vs 0.035 ± 0.003 U/mg protein, $p < 0.001$). The activity of GSH-dependent enzymes, GSH-Px and GST, was more influenced by *Nrf2* overexpression. GSH-Px was activated in liver, myocardium, aorta and renal cortex in SHR-*Nrf2*, GST- in all investigated tissues (Table 1). Thioredoxin activity elevated only in myocardium (18.1 ± 0.7 vs 15.1 ± 0.7 nM NADPH/min/mg protein, $p < 0.01$). The activity of GSH-regenerating enzyme GR was elevated in liver (116 ± 5 vs 101 ± 5 nM NADPH/min/mg protein, $p < 0.05$) in transgenic rats, but concentration of GSH remained unchanged. In contrast, GSH level significantly elevated in plasma (5.90 ± 0.28 vs 4.79 ± 0.13 μ M/l, $p < 0.01$) and aorta (5.16 ± 0.16 vs 4.43 ± 0.22 mM/mg protein, $p < 0.05$). The activity of catalase was increased in liver, aorta and renal cortex. Induction of the antioxidant enzymatic system by *Nrf2* overexpression contributed to ameliorated lipid peroxidation. Although

concentration of intermediate lipoperoxidation products conjugated dienes, was reduced only in plasma (27.4 ± 2.1 vs 37.6 ± 1.3 nmol/ml, $p < 0.001$) and renal cortex (17.6 ± 0.7 vs 20.7 ± 1.2 μ mol/mg protein, $p < 0.05$), the level of final products, the TBARS, was decreased in all investigated tissues (Table 1).

We explored the effect of transgenic expression of *Nrf2* on parameters of lipid and carbohydrate metabolism. We have not found any significant changes in basal and insulin stimulated lipogenesis or basal and adrenalin stimulated lipolysis. Also the concentrations of plasma glucose, triacylglycerols, and non-esterified fatty acids were unaltered. In addition, we have not shown any changes in antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in epididymal adipose tissue in SHR rats overexpressing *Nrf2* (data not shown).

Table 1 Parameters of oxidative stress associated with transgenic expression of *Nrf2*

Tissue	SHR	SHR- <i>Nrf2</i>
Glutathione peroxidase		
Plasma, μ M NADPH/min/ ml	246 ± 13	262 ± 15
Liver, μ M NADPH/min/ mg protein	200 ± 10	$276 \pm 11^*$
Myocardium, μ M/NADPH min/ mg protein	101 ± 9	$132 \pm 8^*$
Aorta, μ M NADPH min/ mg protein	48 ± 3	$63 \pm 5^*$
Renal cortex μ M NADPH/min/ mg protein	138 ± 7	$191 \pm 8^{***}$
Glutathione transpherase		
Plasma, nM CDNB/min/ml	4.74 ± 0.36	$6.38 \pm 0.29^{**}$
Liver, nM CDNB/min/mg protein	132 ± 6	$169 \pm 9^{**}$
Myocardium, nM CDNB/min/mg protein	24.4 ± 0.9	$30.7 \pm 1.4^{**}$
Aorta, nM CDNB/min/mg protein	2.027 ± 0.181	$2.664 \pm 0.161^*$
Renal cortex, nM CDNB/min/mg protein	49 ± 2	$64 \pm 2^{***}$
Catalase		
Plasma, μ M H ₂ O ₂ /min/ ml	1056 ± 45	1120 ± 52
Liver, μ M H ₂ O ₂ /min/ mg protein	1154 ± 29	$1361 \pm 64^{**}$
Myocardium, μ M H ₂ O ₂ /min/ mg protein	740 ± 22	758 ± 30
Aorta, μ M H ₂ O ₂ /min/ mg protein	136 ± 8	$176 \pm 7^{***}$
Renal cortex, μ M H ₂ O ₂ /min/ mg protein	624 ± 13	$725 \pm 26^{**}$
TBARS		
Plasma, nM/ml	1.256 ± 0.145	$0.931 \pm 0.034^*$
Liver, nM/mg protein	1.965 ± 0.13	$1.583 \pm 0.136^*$
Myocardium, nM/mg protein	0.835 ± 0.04	$0.713 \pm 0.029^*$
Aorta, nM/mg protein	0.752 ± 0.047	$0.413 \pm 0.028^{***}$
Renal cortex, nM/mg protein	0.716 ± 0.026	$0.499 \pm 0.036^{***}$

Values are mean \pm SE, n=10, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, and * $p < 0.05$.

Numerous studies have shown that the *Nrf2*/ARE pathway regulates several clusters of genes important in antioxidation and detoxification in different pathologic conditions like cancer, obesity, diabetes, inflammation, atherosclerosis, autoimmune diseases etc. [for review see 5]. Current study was performed using a unique model of transgenic SHR-*Nrf2* rats. In contrast to many previous studies demonstrating increased *expression* of antioxidant enzymes, including SOD, GSH-Px, GST, GR, thioredoxin and catalase, we showed elevated *activity* of these enzymes and their tissue specific activation. For instance, the activity of SOD was increased only in the renal cortex. Likewise, Zhu et al have shown that SOD expression was not increased in *Nrf2*^{+/+} cells in comparison to *Nrf2*^{-/-} cells under basal conditions suggesting

that *Nrf2* signaling was not involved in the regulation of basal SOD expression [6]. Unchanged liver GSH concentration in SHR rats overexpressing *Nrf2* in condition of increased GR activity could be ascribed to the enhanced transport of GSH to other tissues which is evidenced by increased GSH concentration in plasma and aorta. Unaltered GSH level in myocardium and kidney might be ascribed to using this cofactor by GSH-dependent enzymes (GSH-Px, GST, and thioredoxin) which activities were elevated in transgenic rats.

A variety of compounds that stimulate Nrf2 dependent transcription have been identified from natural sources, dietary inputs, metabolites, and synthetic agents. Most *Nrf2* inducers are electrophilic species subsequently react with Keap1 cysteine residues. Classes of ARE-inducing electrophiles include: 1) oxidisable diphenols, phenylenediamines and quinones (*resveratrol*); 2) Michael reaction acceptors (olefins or acetylenes conjugated with electron-withdrawing groups- *curcumin*); 3) isothiocyanates and sulfoxythiocarbamates (*sulforaphane*); 4) organosulfur compounds (*lipoic acid*); 5) dithiolethione; 6) conjugated polyenes; 7) hydroperoxides; 8) trivalent arsenicals; 9) heavy metals; 10) vicinal dimercaptans [7]. In area of great interests are natural sources of *Nrf2* inducers which give a possibility of nutritional correction of different metabolic disorders (Table 2).

Table2 Natural sources of Nrf2 inducers

Nrf inducer	Main sources
Sulforaphane	Cruciferous vegetables
Resveratrol	Wine, peanuts, black currants, blueberries, mulberries
Curcumin	<i>Curcuma longa</i> (Zingiberaceae)
Cinnamon oil	Bark and leaves of cinnamon
Lipoic acid	Beef, spinach, broccoli, yeast
Caffeic acid	Propolis, coffee
Tocopherol γ (not α)	Soybean oil, pistachios
Hydroxytyrosol	Olives
Carnosol	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Quercetin	Green tea, apples, red onion, red grapes, citrus fruits, tomatoes

Series of clinical studies have shown the protective effect of treatment with *Nrf2* inducers in different pathologies. For example, resveratrol supplementation to patients with type 2 diabetes contributed to activation of antioxidant enzymes, increased concentrations of vitamins C and E, and to decreased expression of proinflammatory cytokines [8]. Recent clinical studies have shown, that resveratrol treatment improved left ventricle diastolic function, endothelial function, lowered LDL-cholesterol level and protected against unfavourable hemorheological changes measured in patients with coronary artery disease [9]. Resveratrol supplementation to obese patients had a hypoglycaemic effect, decreased HOMA index, plasmatic NEFA, adipose tissue lipolysis and systolic blood pressure [10].

Several pilot studies have been done in human subjects to examine the effect of curcumin treatment on obesity-related parameters. For example, curcumin lowered blood glucose levels in diabetic patients [11]. Administration of 10 mg curcumin per day for 30 days to healthy human subjects increased HDL-cholesterol, decreased LDL-cholesterol, and increased ApoA, but decreased ApoB or ApoA/B [12]. In recent pilot study a lecithinized formulation of curcumin (Meriva), was administered at the dosage of two tablets/day (1 g Meriva/day) to 25 diabetic patients for four weeks contributed to decrease in skin flux at the surface of the foot, a finding diagnostic of an improvement in microangiopathy, reduction in the edema score and a corresponding improvement in the venoarteriolar response [13].

Several human studies involving the effects of spices on obesity and diabetes have tested cinnamon [for review see 14]. All these studies suggested that cinnamon favorably

modulated the levels of various biomarkers linked with insulin resistance and obesity. Crawford showed that in patients cinnamon could lower serum HbA1C in type 2 diabetes [15]. In another study, cinnamon was also found to affect postprandial blood glucose levels, ghrelin concentration and improves insulin sensitivity [16].

Clinical studies about effect of broccoli consumption have shown activation of plasmatic antioxidant enzymes GST and γ -glutamylcysteine ligase in smokers [17], and in patients with prostate cancer [18].

An important finding is different effect of α - and γ tocopherols on *Nrf2* expression. *Nrf2* can be activated only γ -tocopherol, predominantly in diet, rather than α -tocopherol [19], which is a pharmaceutical form of vitamin E. This finding might partly explain the failure of clinical studies dealt with vitamin E therapy in the preventing of cardiovascular and other diseases. In addition, high doses of α -tocopherol, administered in clinical trials, 400 - 1200 mg (recommended daily dose is 30 mg) might inhibit the utilization of γ -tocopherol. Excess of α -tocopherol in supplements causes a reduction of γ -tocopherol concentration in plasma [20]. Moreover, γ -tocopherol, but not α -tocopherol, decreases proinflammatory eicosanoids and inflammation damage in rats [21].

Conclusion

Our results indicate that *Nrf2* transgenic expression ameliorated oxidative stress in plasma, liver, myocardium, aorta and kidney in SHR rats. Given the regulatory role of the *Nrf2* of antioxidant system the nutritional manipulation of *Nrf2*, for instance with sulforaphane, resveratrol, curcumin, and cinnamon might be beneficial in treating pathologies related to metabolic syndrome.

Supported by the project (Ministry of Health, Czech Republic) for development of research organization 00023001 (IKEM, Prague, Czech Republic)

References

1. Baird L, Dinkova-Kostova AT. *Arch Toxicol.* 2011. 85: 241-272.
2. Sykietis GP, Habeos IG, Samuelson AV et al. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011 14(1): 41-48.
3. Wang X, Tao L, Hai C, *Mol Cell Endocrinol.* 2012. 26; 349(2): 111-127.
4. Malinska H, Oliyarnyk O, Hubova M et al, *Mol Cell Biochem.* 2010. 335(1-2): 119-258.
5. Kim J, Cha YN, Surh YJ. *Mutation Res.* 2010. 690: 12-23.
6. Zhu H, Itoh K, Yamamoto M. et al *FEBS Letters.* 2005. 579(14): 3029-3036.
7. Hur W, Grey NS. *Curr Opin Chem Biol.* 2011. 15: 162-173.
8. Smoliga JM, Baur JA, Hausenbckas HA. *Mol Nutr Food Res.* 2011. 55, 1129-1141.
9. Magyar K, Halmosi R, Palfi A et al. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2012. 50(3): 179-187.
10. Timmers S, Konings E, Bilet L et al. *Cell Metab.* 2011. 14(5): 612-622.
11. Srinivasan M. *Indian J. Med. Sci.* 1972. 26: 269-270.
12. Ramirez-Bosca A, Soler A, Carrion-Gutierrez MA, et al. *Mech Ageing Dev.* 2000. 114: 207-210.
13. Appendino G, Belcaro G, Cornelli U. et al. *Panminerva Med.* 2011. 53: 43-49.
14. Aggarwal BB. *Annu Rev Nutr.* 2010. 21; 30: 173-199.
15. Crawford P. *J Am Board Fam Med.* 2009. 22: 507-512.
16. Hlebowicz J, Darwiche G, Bjorgell O, Almer LO. *Am J Clin Nutr.* 2007. 85: 1552-1556.
17. Traka M, Gasper AV, Melchini A et al. *PLoS One.* 2008. 12;3(7): e2568.
18. Gasper AV, Traka M, Bacon JR et al. *J Nutr.* 2007. 137: 1718-1724.
19. Pazdro R, Burgess JR. *Mech Ageing and Dev.* 2011. 131: 276-286.
20. Wolf G. *Nutr Rev.* 2006. 64(6): 295-299.
21. Jiang Q, Ames BN. *FASEB J.* 2003. 17(8): 816-822.

POSTAVENIE LIPOPROTEÍNU(A) V PEDIATRICKEJ PRAXI**Š. Rosipal, M. Debreová***Metabolická ambulancia, Lipmet s.r.o., Poprad, Slovenská republika*

Uplynulo takmer 50. rokov, kedy K. Berg rozpoznal lipoproteín (a), genetický variant LDL. Doteraz neskončila jeho ucelená identifikácia, kompletne poznanie metabolických ciest a biologický význam Lp(a) v ľudskom organizme. Z klinického aspektu zostáva potreba objasňovať pôsobenie osobitého lipoproteínu v aterosklerotických dejoch. Epidemiologické a genetické štúdie spolu s pokusmi na zvieratách poukazujú na podobnosť patomechanizmov Lp(a) a LDL cholesterolu pri vzniku a vývoji srdcovocievnych ochorení. Lp(a) a apolipoproteín (a) spôsobujú cytoskeletovú prestavbu výstelky ciev, čím zhoršujú endotelovú dysfunkciu. Interakcie apo(a) spúšťajú aktiváciu zápalového transkripčného faktoru NFkB. Napriek viacerým znalostiam, nie je dostatočne definovaný špecifický účinok apo(a)/Lp(a) v aterotrombóze. Protrombotický stav so zníženým trombolytickým potenciálom endotelu narúšajú hemokoagulačnú homeostázu. Doterajšie poznatky chorobných zmien pri zvýšených hodnotách Lp(a) nejdú bez výhrad aplikovať v klinickej medicíne. Pacienti s kongenitálnou analbuminémiou majú výrazne vyššie koncentrácie Lp(a) voči zdravým súrodencom, čo do určitej miery spochybňuje iba genetickú determináciu sérových hodnôt. Autori prezentujú špecifické percentilové hodnoty lipoproteínu (a) i arbitrárny horný limit v pediatrii. Odporúčajú selektívny skrining po 6. roku života u jedincov s vysokým rizikovým profilom pre srdcovometabolické ochorenia. Vyšetrenie indikuje erudovaný lipidológ. Chýbajú dôkazy, že zvýšené hodnoty Lp(a), polymorfizmy apo(a) u adolescentov urýchľujú subklinickú aterosklerózu. Stratégia úpravy rizikových hodnôt v detskom a juvenilnom veku je značne deravá, odmieta dnešnú preventívnu farmakoterapiu. Prvenstvo majú intervencie na zmiernenie až odstránenie ovplyvniteľných rizikových faktorov, predovšetkým modifikovanie nezdravého životného štýlu.

VZTAH FYZICKÉHO POHYBU K AKTIVITĚ HNĚDÉ TUKOVÉ TKÁNĚ A PARAMETRŮ METABOLICKÉHO SYNDROMU

V. Škop, H. Malínská, M. Burian, L. Kazdová

Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Abstract

Physical activity has been heavily studied because of its positive effects on metabolic syndrome and insulin sensitivity, however, detailed information about mechanisms of its protective role is still unclear. Recent studies dealing with metabolic syndrome and related complications has been focused on brown adipose tissue (BAT), because depots of this tissue has been recent found in adult humus, and because of its well documented role in preventing diet induced metabolic complications. Informations about impact of physical activity on BAT activity are still conflicted. In this study we analyzed effect of spontaneous physical activity for 5 weeks on metabolic syndrome parameters and BAT activity in hereditary hypertriacylglycerolemic rats feed with standard or high sucrose diet.

In our study physical activity decreased serum levels of nonesterified fatty acids, triacylglycerols and insulin, and triacylglycerols accumulation in the liver, aorta and muscle. Physical activity had also positive effect on visceral fat tissue amount and composition of fatty acids in the muscle membrane phospholipids. Negative effects of high sucrose diet were ameliorated by physical activity. BAT was more active after physical activity, which suggests that it could be a physiological stimulus to counteract obesity by BAT activation.

Úvod

Lidé nejsou evolučně nastaveni na fyzicky neaktivní životní styl. V posledních několika desetiletích vedla kombinace sedavého způsobu života a neustálé dostupnosti energeticky bohaté potravy k rapidnímu nárůstu obezity, diabetu mellitu 2. typu a kardiovaskulárních komplikací (Szostak, 2011). Nedostatek fyzické aktivity byl identifikován jako čtvrtý hlavní rizikový faktor celosvětové úmrtnosti (Trachta, 2012). Fyzická aktivita vede nejen k celkové redukci tělesné hmoty, ale také pozitivně ovlivňuje sekreční vlastnosti myocytů, adipocytů a imunitních buněk přítomných v tukové tkáni. Podporuje zejména sekreci protizánětlivých faktorů, čímž přispívá ke snížení subklinického zánětu a zlepšení inzulinové senzitivity (Trachta, 2012). Nicméně detailní poznatky o vlivu fyzické aktivity na jednotlivé parametry metabolického syndromu nebyly dosud zcela objasněny.

V posledních letech je v souvislosti s rozvojem obezity a jejich komplikací pozornost zaměřena na metabolickou aktivitu hnědé tukové tkáně. Ještě v nedávné době se předpokládalo, že se hnědá tuková tkáň vyskytuje jen u malých savců a novorozenců, ale poslední studie ukazují přítomnost ložisek hnědé tukové tkáně i u dospělých lidí (Slocum, 2012). Hnědá tuková tkáň obsahuje velké množství mitochondrií, které na své membráně nesou UCP1 (uncoupling protein 1, thermogenin). UCP1 transportuje protony z mezimembránového prostoru, kam se dostávají činností dýchacího řetězce, do matrix mitochondrie. Současně dochází k poklesu tvorby ATP a k uvolnění tepelné energie. Hnědá tuková tkáň primárně slouží k regulaci tzv. netřesové termogeneze. (Canon, 2004). Aktivní hnědá tuková tkáň, která dokáže spotřebovat až 2000 kcal/24 hod.(Quellet, 2012), může významně přispívat k odbourávání energetických rezerv v organizmu a poskytovat s tím související ochranu proti obezitě a metabolickému syndromu (Slocum, 2012).

Nicméně stále nejasný je vztah mezi fyzickou aktivitou a hnědou tukovou tkání. Aktivním pohybem dochází k tvorbě tepla v kosterních svalech, což může vést k hypoaktivitě hnědé tukové tkáně. Tento efekt je ale pouze přechodný (Cannon, 2004). Bylo však také

zjištěno, že dlouhodobé pravidelné cvičení může snižovat množství hnědé tukové tkáně a expresi UCP1 (Yamashita, 1993; Segawa, 1998). Naproti tomu fyzický pohyb aktivuje sympatický nervový systém, prostřednictvím něhož je regulována i aktivita hnědé tukové tkáně. Data z nedávných studií naznačují, že fyzická aktivita stimuluje hnědou tukovou tkáň a vede k většímu podílu hnědých adipocytů v bílé tukové tkáni (De Matteis, 2012; Slocum, 2012).

Cílem této studie bylo sledovat vliv spontánní fyzické aktivity na parametry metabolického syndromu (dyslipidémii, glukoregulaci, ektopické ukládání lipidů), na množství a oxidační schopnost hnědé tukové tkáně a na zastoupení mastných kyselin ve fosfolipidech kosterního svalu u hereditárně hypertriacylglycerolemických (HHTg) potkanů. Dalším cílem bylo zjistit, zda spontánní fyzická aktivita ovlivní negativní důsledky vysokého příjmu sacharózy, která díky konzumaci sladkých nápojů je považována za jednu z hlavních příčin výskytu obezity a metabolického syndromu.

Metody

Pokusy byly provedeny u neobézních hereditárně hypertriacylglycerolemických (HHTg) potkanů, vyšlechtěných z kmene Wistar jako model lidské hypertriacylglycerolemie. U tohoto kmene potkanů se vyskytují i další abnormality, zejména hypertenze, inzulinová rezistence a poruchy glukózového metabolismu (Zicha, 2006). V pokusech byli použiti potkaní samci ve věku 10 týdnů. Kontrolní skupina byla chována ve standardních klecích (HHTg). Pokusná zvířata byla umístěna po jednom do klecí s možností průchodu do kolového pohybového treňažeru s obvodem 106 cm. Treňažery byly připojeny k přístroji a počítači, kde byl zaznamenáván počet otáček (Rat Activity Wheel and Cage, fa Panlab, Harvard Aparaturs, USA). Takto byla zvířata chována po dobu 5 týdnů s možností libovolně intenzivní pohybové aktivity (HHTg+PA). Všechna zvířata byla krmena *ad libitum* standardní peletovanou dietou. Dalším skupinám, stejně rozmístěných zvířat, byl k pití místo vody podáván 20 % roztok sacharózy (vysokosacharózová dieta, VSD).

Množství triacylglycerolů (TAG) v séru a po extrakci z tkání podle metody popsané v publikaci (Qi and Kazdová, 2002) bylo stanoveno analytickou soupravou TG L 250 S (Erba-Lachema, ČR). Koncentrace intramyocelulárních a extramyocelulárních TAG v kosterním svalu (*m. gastrocnemius*) byla stanovena nukleární magnetickou rezonancí na živém zvířeti narkotizovaném isofluranem, na přístroji 4.7 T Bruker MR spectrometer (Biospec 47/20). Koncentrace neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) byla měřena komerčním kitem free fatty acids, half micro test (Roche Diagnostic, Německo). Koncentrace sérového inzulinu byla měřena komerčním imunochemickým kitem Rat Insulin ELISA kit (Mercodia, Švédsko). Obsah bílkovin v tukové tkáni byl stanoven Folinovou metodou. Na stanovení byl použit filtrovaný roztok tkáně rozvařené v 1M NaOH.

Zastoupení jednotlivých mastných kyselin ve fosfolipidech kosterního svalu bylo stanoveno plynovou chromatografií s FID detektorem po předchozí extrakci lipidů směsí dichlormethan/methanol a rozdělením jednotlivých lipidových tříd tenkovrstvou chromatografií a převedení fosfolipidů na methylestery mastných kyselin. Aktivita $\Delta 5$ desaturázy byla kalkulována z poměru produkt/prekurzor (20:4n6/20:3n6).

Oxidace mastných kyselin v hnědé tukové tkáni byla stanovena *in vitro* podle inkorporace ^{14}C -palmitové kyseliny do CO_2 . Vzorke tkáně byly inkubovány 2 hodiny v Krebs-Ringer bicarbonátovém médiu obsahujícím značenou kyselinu palmitovou. Po ukončení inkubace byl vzniklý $^{14}\text{CO}_2$ vytěsněn okyselením média pomocí H_2SO_4 a absorbován do roztoku hydroxidu hyaminu. Radioaktivita výsledného roztoku byla stanovena scintilačně.

Výsledky a diskuze

Potkaní krmení standardní dietou vykazovali průměrnou pohybovou aktivitu $6,55 \pm 0,54$ km/den. Tato fyzická aktivita ovlivnila většinu sledovaných ukazatelů metabolického syndromu (tab. I). Hmotnost epididymální i perirenální tukové tkáně byla snížena o 40-50 %. V bílé tukové tkáni byla zvýšena téměř o polovinu koncentrace proteinů, což ukazuje na přítomnost menších adipocytů, které jsou citlivější k působení inzulínu a produkují více prospěšných adipokinů (Mlejnek, 2008; Trachta, 2012). Naopak u velkých, tukem naplněných adipocytů, dochází v důsledku hypertrofie k apoptóze. Následkem toho je tuková tkáň více infiltrována imunokompetentními buňkami, což vede k produkci prozánětlivých cytokinů. Tím dochází ke zhoršování stavu subklinického zánětu a inzulínové rezistence (Sell, 2010).

Tabulka I Vliv pohybové aktivity na parametry metabolického syndromu.

Tkáň	Parametr	HHTg	HHTg+PA	P
Játra	Hmotnost (g/100g t.hm)	3,78±0,13	3,87±0,086	n.s.
	Obsah TAG (μmol/g)	16,02±1,6	6,24±1,5	<0,05
Srdce	Hmotnost (g/100g t.hm)	0,285±0,009	0,308±0,007	n.s.
	Obsah TAG (μmol/g)	1,55±0,51	1,74±0,27	n.s.
Kosterní sval	Obsah TAG (μmol/g)	1,43±0,22	1,96±0,53	n.s.
Aorta	Obsah TAG (μmol/g)	58,5±4,7	35,5±8,2	<0,05
Epididymální tuková tkáň	Hmotnost (g/100g t.hm)	1,70±0,09	0,883±0,051	<0,05
	Obsah bílkovin (%)	1,09±0,1	1,59±0,05	<0,05
Perirenální tuková tkáň	Hmotnost (g/100g t.hm)	2,07±0,16	1,16±0,086	<0,05
Krevní sérum	Glukosa (mmol/l)	9,48±1,1	9,74±0,5	n.s.
	TAG (mmol/l)	7,11±1,1	2,57±0,38	<0,05
	NEMK (mmol/l)	0,880±0,075	0,517±0,045	<0,05
	Insulin (mmol/l)	0,537±0,045	0,291±0,017	<0,05
		HHTg+VSD	HHTg+VSD+PA	P
Játra	Hmotnost (g/100g t.hm)	3,91±0,06	4,027±0,08	n.s.
	Obsah TAG (μmol/g)	24,73±3,2	8,53±2	<0,05
Srdce	Hmotnost (g/100g t.hm)	0,273±0,012	0,300±0,007	n.s.
	Obsah TAG (μmol/g)	2,63±0,73	2,56±0,83	n.s.
Kosterní sval	Obsah TAG (μmol/g)	2,59±0,39	1,36±0,21	<0,05
Aorta	Obsah TAG (μmol/g)	89,7±7,5	33,4±4,7	<0,05
Epididymální tuková tkáň	Hmotnost (g/100g t.hm)	2,13±0,05	1,35±0,1	<0,05
	Obsah bílkovin (%)	0,833±0,09	1,33±0,16	<0,05
Perirenální tuková tkáň	Hmotnost (g/100g t.hm)	2,79±0,23	1,95±0,13	<0,05
Krevní sérum	Glukosa (mmol/l)	9,98±1,2	9,74±0,9	n.s.
	TAG (mmol/l)	14,7±2,6	5,66±1,1	<0,05
	NEMK (mmol/l)	1,17±0,134	0,648±0,064	<0,05
	Insulin (mmol/l)	0,757±0,12	0,393±0,059	<0,05

Hodnoty udávají průměr ± SE; P: statistická významnost rozdílu mezi skupinami

U fyzicky aktivních zvířat byly sérové koncentrace NEMK sníženy o 41 % a koncentrace TAG o 64%. Tyto změny jsou důsledkem vyššího využití lipidů ve svalové tkáni při pohybové aktivitě a pozitivně se projeví v nižší akumulaci lipidů v játrech a v aortě. Množství TAG v srdci se nelišilo a obsah TAG v kosterním svalu (*m. gastrocnemius*) byl fyzickou aktivitou naopak mírně zvýšen, podobně jako je tomu u sportovců. I když toto zvýšení není statisticky významné, může souviset se zvýšeným transportem lipidů jako zdroje energie pro svalovou práci. Na určité zlepšení citlivosti tkání k inzulínu vlivem pohybové aktivity ukazuje také nižší inzulinémie u fyzicky aktivních zvířat.

Zvířata s vysokosacharózovou dietou vykazovala přibližně stejnou pohybovou aktivitu jako skupina krmená standardní dietou ($6,86 \pm 0,65$ km/den). Zvířata, která neměla možnost pohybové aktivity a byla krmena vysokosacharózovou dietou, vykazovala v porovnání s potkany, kterým byla podávána standardní dieta výrazně zvýšené téměř všechny námi měřené ukazatele metabolického syndromu (tab. I). Zvýšeny byly sérové koncentrace TAG, NEMK a inzulínu, obsah TAG v játrech, aortě i kosterním svalu a množství viscerální tukové tkáně obsahující navíc o něco menší podíl bílkovin. Výsledky ukazují, že vysokosacharózová dieta výrazně negativně ovlivnila lipidový a sacharidový metabolismus, což je v souladu s dříve publikovanými nálezy (Vrána, 1986). Fyzická aktivita výrazně zmírnila dopad vysokosacharózové diety. Všechny parametry kromě obsahu TAG v srdci a glykémie vykazovaly podstatné zlepšení. Obsah TAG v kosterním svalu a hmotnost perirennální tukové tkáně měly přibližně stejné hodnoty jako skupina krmená standardní dietou bez možnosti pohybové aktivity. Hladiny sérových TAG, NEMK, inzulínu a akumulace TAG v játrech se blížily k hodnotám skupiny s pohybovou aktivitou na standardní dietě. Tato data podporují dříve publikovanou teorii, že pohybová aktivita má při terapii metabolického syndromu a souvisejících poruch větší efekt než pouhá kalorická restrikce (Trachta, 2012).

Zajímavým výsledkem je přibližně 10% navýšení hmotnosti srdce, ke kterému dochází nezávisle na dietě u skupin s fyzickou aktivitou. I když toto zvýšení není statisticky významné, může souviset s potřebou intenzivnější srdeční činnosti během aktivního pohybu.

Změny v zastoupení jednotlivých mastných kyselin v membránových fosfolipidech mohou mít za následek metabolické poruchy spojené s inzulínovou rezistencí, zejména mohou ovlivnit inzulínovou senzitivitu periferních tkání. (Pelikánová, 2002). Profil mastných kyselin je ovlivněn genetickými i dietními faktory. Zatím ale není přesně známo, zda fyzická aktivita ovlivňuje zastoupení mastných kyselin ve fosfolipidech kosterního svalu.

Spontánní fyzická aktivita měla u HHTg potkanů příznivý vliv na profil mastných kyselin v kosterním svalu (tab. II).

Tabulka II Vliv pohybové aktivity u HHTg potkanů na spektrum mastných kyselin v membránových fosfolipidech v kosterním svalu (*soleus*).

Mastné kyseliny	HHTg	HHTg + PA	P
14 : 00	0,155 ± 0,050	0,143 ± 0,055	n.s.
16 : 00	15,031 ± 1,660	14,606 ± 1,163	n.s.
18 : 00	18,168 ± 1,585	20,019 ± 0,701	n.s.
Σ SFA	33,371 ± 2,417	34,795 ± 0,724	n.s.
16 : 1n7	1,255 ± 0,219	0,666 ± 0,096	< 0,05
18 : 1n7	3,628 ± 0,705	3,998 ± 0,198	n.s.
18 : 1n9	4,517 ± 0,506	5,079 ± 0,155	n.s.
Σ MUFA	9,417 ± 1,535	9,842 ± 0,404	n.s.
18 : 2n6	20,528 ± 1,141	22,722 ± 0,466	< 0,05
18 : 3n6	0,151 ± 0,009	0,172 ± 0,004	< 0,05
20 : 2n6	0,211 ± 0,020	0,262 ± 0,013	n.s.
20 : 3n6	0,984 ± 0,176	0,678 ± 0,023	< 0,02
20 : 4n6	20,484 ± 2,656	18,020 ± 0,726	n.s.
Σ n6 PUFA	43,080 ± 1,885	42,395 ± 0,977	n.s.
18 : 3n3	0,136 ± 0,095	0,334 ± 0,113	n.s.
20 : 5n3	0,254 ± 0,068	0,193 ± 0,018	n.s.
22 : 5n3	5,255 ± 0,763	4,281 ± 0,205	n.s.
22 : 6n3	8,488 ± 1,294	7,624 ± 0,393	n.s.
Σ n3 PUFA	14,132 ± 2,053	12,595 ± 0,513	n.s.
Δ5 desaturáza	21,157 ± 1,050	26,789 ± 1,348	< 0,01

Hodnoty udávají průměr ± SE; P: statistická významnost rozdílu mezi skupinami

Snížení kyseliny palmitolejové (16:1n7) může přispět ke zlepšení inzulinové senzitivity, obdobně jako zvýšení Δ5 desaturázy, které patří mezi nezávislé ukazatele inzulinové senzitivity. Fyzická aktivita vedla k výraznému snížení zastoupení kyseliny dihomu-Δ-linolenové (20:3n6), která patří k prediktorům vzniku diabetu. Tyto změny v profilu mastných kyselin ve svalových fosfolipidech mohou měnit fluiditu membrán a tím i senzitivitu svalu k účinku inzulinu a mohly by být jedním z mechanismů, jimiž fyzická aktivita zlepšuje citlivost tkání k účinku inzulinu.

Pokles zastoupení mastných kyselin řady n-6 ve fosfolipidech kosterního svalu, byl pozorován i u zdravých osob po deseti týdnech cvičení, zatímco v sérových fosfolipidech ani ve svalových triacylglycerolech nebylo zastoupení těchto mastných kyselin ovlivněno (Anderson, 1998).

Negativní vliv sacharózy v dietě, který u potkanů bez fyzické aktivity zhoršil parametry metabolického syndromu a nepříznivě ovlivnil profil mastných kyselin ve svalu (signifikantně snížil d5D a zvýšil d9D a podíl saturovaných mastných kyselin), byl u HHTg potkanů eliminován zvýšenou pohybovou aktivitou.

Zajímavé výsledky přineslo vyšetření vlivu diety a pohybové aktivity na metabolické parametry hnědé tukové tkáně. (tab. III). Pohybová aktivita ani vysokosacharózová dieta neměly významný vliv na celkové množství interskapulární hnědé tukové tkáně. U obou typů diety došlo v důsledku zvýšené fyzické aktivity k mírnému, statisticky nevýznamnému navýšení obsahu bílkovin v hnědé tukové tkáni. Měřítkem aktivity hnědé tukové tkáně je utilizace mastných kyselin pro oxidaci. Spontánní fyzická aktivita u zvířat krmených standardní dietou, zvýšila inkorporaci ¹⁴C palmitátu do CO₂ o 200 % a u zvířat krmených vysokosacharózovou dietou o 30 %, nicméně zvýšení u zvířat s vysokosacharózovou dietou není statisticky významné. Tyto výsledky podporují teorii o pozitivním vlivu dlouhodobého

každodenního cvičení na aktivitu hnědé tukové tkáně. V mechanismu zvýšené oxidace mastných kyselin se může uplatnit stimulace prostřednictvím sympatického nervového systému, který je aktivován při fyzické aktivitě a který je považován za hlavní regulátor termogenní kapacity hnědé tukové tkáně. (De Matteis, 2012; Slocum, 2012). Je však potřeba zdůraznit, že v pokusu byli použiti poměrně mladí jedinci, jejichž organizmus nemusí na pohybovou aktivitu odpovídat stejně jako organizmus jedinců starších.

Tabulka III Vliv pohybové aktivity na parametry hnědé tukové tkáně

	HHTg	HHTg+PA	P
Hmotnost interskapulární hnědé tukové tkáně (mg/100g t.hm)	238±35	204±16	n.s.
Obsah bílkovin (%)	5,27±0,36	6,43±0,61	n.s.
Aktivita (oxidace palmitátu na CO ₂) (nmol/g/2h)	33,2±4	95,8±26	<0,05
	HHTg+VSD	HHTg+VSD+PA	P
Hmotnost interskapulární hnědé tukové tkáně (mg/100g t.hm)	217±35	242±30	n.s.
Obsah bílkovin (%)	5,14±0,36	6,15±0,8	n.s.
Aktivita (oxidace palmitátu na CO ₂) (nmol/g/2h)	49,0±5	64,2±9,6	n.s.

Hodnoty udávají průměr ± SE; P: statistická významnost rozdílu mezi skupinami

Závěr

Fyzická aktivita i v nepřítomnosti obezity má pozitivní účinky na organizmus, zejména ve vztahu k poruchám souvisejícím s metabolickým syndromem. Výrazně zmírňuje negativní účinky konzumace sacharózy a vede v řadě případů téměř k normalizaci metabolických abnormalit. Navíc by fyzická aktivita mohla být považována za nový fyziologický stimulus aktivace hnědé tukové tkáně. To přidává na důležitosti fyzického pohybu při terapii obezity a metabolického syndromu.

Studie byla podpořena projektem (Ministerstva zdravotnictví) rozvoje výzkumné organizace 00023001)ikem) „Institucionální podpora“ a grantem GA ČR P301/2418.

Literatura

- Andersson A. et al. Am J Physiol. 274, E432-E438, 1998.
 Cannon B., Nedergaard J. Physiol Rev. 84, 277-359, 2004.
 De Matteis R. et al. Nutr Metab Cardiovasc Dis. online: May 25, 1-9, 2012.
 Mlejnek P. et al. Bioprospekt. 17, 56-60, 2007.
 Pelikánová T. et al. Čas Lék čes. 141, 55-60, 2002.
 Quillet V et al. J Clin Invest. 122:545-552, 2012.
 Qi N, Kazdova L et al. J Biol Chem. 277: 48807-48817, 2002.
 Segawa M. et al. Res Commun Mol Pathol Pharmacol. 100, 77-82, 1998.
 Sell H., Eckel J. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 13, 366-370, 2010.
 Slocum N. et al. Exp Toxicol Pathol., online: Apr 27, 2012.
 Szostak J., Laurant P. Clin Sci (Lond). 121, 91-106, 2011.
 Trachta P. Haluzík M. DMEV. 15, 83-92, 2012.
 Vrána A., Kazdová L. Prog biochem Pharmacol. 21, 59-73, 1986.
 Yamashita H. et al. Int J Biometeorol. 37, 61-64, 1993.
 Zicha J. et al. Physiol Res. 55 Suppl 1, S49-S63, 2006.

ÚLOHA EPIKARDIÁLNÍ TUKOVÉ TKÁNĚ V ROZVOJI KORONÁRNÍ ATEROSKLERÓZY

J. Ždychová, I. Králová Lesná, J. Malušková, L. Kazdová

Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Abstract

BACKGROUND: The aim of our study was focused on the ability of epicardial adipocytes to produce bioactive substances and compare the extent of this production with the production of adipokines in visceral adipocytes which are well known endocrine cells capable to contribute to the atherosclerosis development.

MATERIAL AND METHODS: Gene expression of human cytokines (IL-6, IL-8, IL-18, RANTES and MCP1) and adipokines (leptin and adiponectin) was measured in primary cell lines of epicardial and visceral adipocytes, both in undifferentiated status and after 21 days lasting differentiation protocol.

RESULTS: Our results demonstrated that epicardial preadipocytes are powerful endocrine cells expressing variety of pro-inflammatory cytokines. The level of atheroprotective adiponectin was in epicardial preadipocytes significantly decreased. Moreover, expression of the genes of interest was dependent on differentiation degree and cell origin.

CONCLUSION: Our results suggest that epicardial adipocytes substantially differs from visceral ones and might locally contribute to the pathogenesis of coronary atherosclerosis.

Úvod

Téměř všechny velké arterie jsou obklopeny různým množstvím tukové tkáně (Cinti, 2002). Perivaskulární tuková tkáň (PVT) byla dlouho považována spíše za pasivní strukturální oporu cév. Dnes je již známa nejen její vasokrinní funkce (Gao, 2007), ale na základě recentních dat se zdá, že podobně jako viscerální tuková tkáň, reaguje i PVT na metabolické podněty produkcí řady biologicky aktivních mediátorů (Chatterjee, 2009). Důležitou skutečností je, že PVT není od vaskulární stěny oddělena fascií nebo elastickou vrstvou a přímo tak zasahuje do oblasti adventicie (Chatterjee, 2009). Díky absenci bariery a anatomické blízkosti mohou tak mediátory tvořené v PVT významně ovlivňovat lokální prostředí cévní stěny prostřednictvím parakrinní, případně vasokrinní signalizace (Gustafson, 2010). Dysfunkční PVT je skrze tyto mediátory navíc schopna lokálně ovlivňovat prostředí cévní stěny, indukovat zánět a podílet se tak na rozvoji aterosklerotických onemocnění (Mazurek, 2003; Yudkin, 2005).

Epikardiální tuková tkáň (EAT) představuje zvláštní druh PVT obklopující adventicii koronárních tepen. Nedávné klinické nálezy, spolu s ex vivo a in vitro studii, dokonce naznačily možnost, že by tato tuková tkáň mohla mít důležitou roli v procesu patogeneze aterosklerózy (Mazurek, 2003; Zhou, 2011; Chatterjee, 2009). Navíc byla v epidemiologických studiích zjištěna souvislost mezi množstvím epikardiální a viscerální tukové tkáně (Iacobellis 2003) přičemž je všeobecně známo, že expanze viscerální tukové tkáně v rámci metabolického syndromu koreluje se zvýšeným rizikem incidence kardio-vaskulárních onemocnění (Després, 2008; Piché, 2008).

Cílem naší práce proto bylo porovnat expresi vybraných adipokinů a cytokinů v kulturách epikardiálních a viscerálních tukových buněk, a to jak na úrovni preadipocytů, tak plně diferenciovaných adipocytů.

Metody

Buněčné kultury

Vzorky viscerální (perirenální) tukové tkáně byly získány od zdravých dobrovolníků během příbuzenských transplantací. Vzorky EAT byly odebrány z explantovaných srdcí pacientů, kterým bylo srdce transplantováno pro diagnózu kardiomyopatie. EAT vzorky byly odebrány z následujících míst: pravá tepna věnčitá, ramus circumflexus a ramus interventricularis přední levé věnčité tepny. Příprava kultury tukové tkáně byla provedena podle postupu popsáném v článku Fried a spol. (2001) s cílem získat tzv. stromavaskulární frakci (SVF) obsahující preadipocyty. SVF byla resuspendována v růstovém mediu pro preadipocyty (Promo Cell, Heidelberg) a kultivována v T25 kultivačních lahvích v inkubátoru při teplotě 37° C a 5% (w / w) CO₂. Medium bylo během experimentů měněno každé 2-3 dny. Po dosažení konfluency byly buňky trypsinizovány a nasazeny v triplicátech pro každou skupinu do pokusných 15 mm kultivačních jamek v množství 5 x 10⁵ buněk / jamku. Následně, při dosažení konfluency cca 90 %, byly buňky z části kultivačních jamek okamžitě použity pro izolaci RNA a zbylé byly podrobeny diferenciacímu protokolu o celkové délce 21 dní. Přičemž v prvních 3 dnech byly buňky vystaveny účinkům tzv. diferenciacího media a po zbývající dobu byly kultivovány v růstovém mediu pro adipocyty (Promo Cell, Heidelberg). RNA byla izolována až z plně diferenciovaných adipocytů. Všechny výše zmíněné experimenty byly provedeny na buňkách do pasáže 4.

RT-PCR analýzy

Celková RNA byla izolována z každé jednotlivé kultivační misky (n = 3 pro každou skupinu) pomocí soupravy Qiagen RNeasy Minikit. Po digesci enzymem DNase I (Sigma Aldrich) byla z RNA odpovídající 400ng / vzorek pomocí kitu High Capacity RNA-to-cDNA Master Mix (Lifescience Technologies) vytvořena cDNA. Genové exprese prozánětlivých cytokinů a adipokinů byly měřeny přístrojem Rotor Gene 3000 (Corbett Research) s využitím analytického kitu QuantiTect SYBR Green PCR (Qiagen). Jako endogenní kontrola pro normalizaci byla použita exprese beta2-mikroglobulinu. Relativní genové exprese byly vypočteny s použitím $\Delta\Delta C_t$ metody publikované v článku (Pfaffl, 2001).

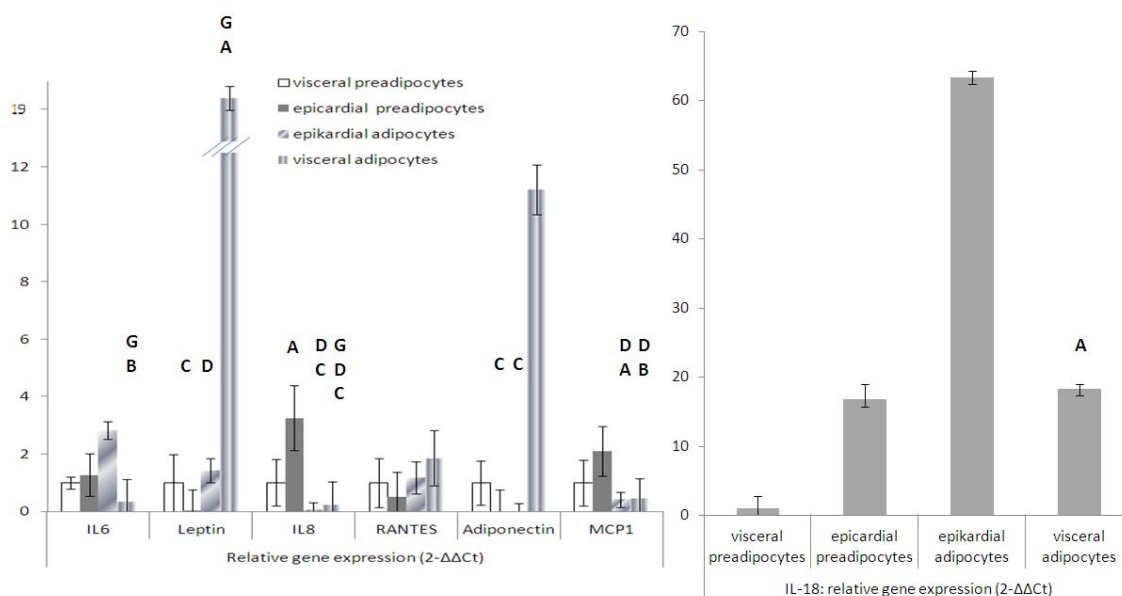
Statistická analýza

Údaje jsou prezentovány jako průměr \pm SD. Rozdíly mezi skupinami byly hodnoceny pomocí Studentova t- testu. Kritériem statistické signifikance bylo dosažení hodnoty $P < 0,05$.

Výsledky

Míru exprese cytokinů (IL-6, IL-8, IL-18, RANTES a MCP1) a adipokinů (leptin a adiponectin) jsme v kulturách primárních viscerálních a epikardiálních preadipocytů a jim odpovídajícím diferenciovaných adipocytů měřili pomocí metodiky qPCR. Zjistili jsme, že exprese IL-8 u epikardiálních preadipocytů byla, ve srovnání s viscerálními preadipocyty, 3-krát vyšší ($p < 0,05$). U epikardiálních preadipocytů jsme dále pozorovali tendenci ke zvýšené expresi IL-18 (17-krát), která však díky vysokému rozptylu naměřených hodnot nedosáhla hladiny statistické významnosti ($p = 0.064$). Na druhé straně, úroveň exprese ateroprotektivního adiponektinu a adipokinů leptinu byla v kultuře epikardiálních preadipocytů, ve srovnání s preadipocyty viscerálními, výrazně nižší ($p < 0,0001$). Míra exprese sledovaných genů byla navíc ovlivněna stupněm diferenciaci. Diferenciaci epikardiálních adipocytů vedla k 825-násobnému zvýšení exprese leptinu a snížení exprese IL8 ($p < 0,01$) a MCP1 ($p < 0,05$). Exprese cytokinů IL-18 v epikardiálních adipocytech byla, v porovnání s adipocyty viscerálními, zvýšena 3-krát ($p < 0,05$) a exprese IL-6 dokonce 8-krát ($p < 0,05$). Naopak exprese leptinu byla u viscerálních adipocytů, ve srovnání

s epikardiálními, 13-krát vyšší ($p < 0,05$) a v porovnání s viscerálními preadipocyty došlo dokonce ještě k vyššímu, 19-ti násobnému, zvýšení exprese leptinu ($p < 0,05$).



Relativní exprese IL-6, leptinu, IL-8 a RANTES, adiponectinu, MCP1 a IL-18 v lidských preadipocytech a diferencovaných adipocytech. Zobrazené údaje byly normalizovány a vyjádřeny vzhledem k míře exprese uvedených genů u viscerálních preadipocytů. Údaje ze 2 nezávislých experimentů jsou zobrazeny jako průměr \pm SD. Kritériem statistické signifikance bylo dosažení hodnoty $P < 0,05$.

A $p < 0,05$; B $p < 0,01$; C $p < 0,001$ vs viscerální preadipocyty, D $p < 0,05$ vs epikardiální preadipocyty, G $p < 0,05$ vs epikardiální adipocyty

Diskuze

Prokázali jsme, že epikardiální preadipocyty mají, v porovnání viscerálními, zvýšenou tendenci produkovat prozánětlivé cytokiny při současné minimální produkci atero-protektivního adiponektinu. Toto je navíc ovlivněno mírou diferenciací adipocytů. Zvýšená exprese MCP1, IL-6, IL-8 a IL-18 v epikardiálních preadipocytech a adipocytech svědčí o tom, že tyto buňky by za bazálních podmínek, kdy není přítomna ateroskleróza, mohly být významným zdrojem mediátorů uplatňujících se při rozvoji zánětu v epikardiální tukové tkáni. Expresí adiponektinu v těchto buňkách, jež je na hranici detekovatelnosti, pak zmíněný prozánětlivý fenotyp jen potvrzuje. V souvislosti s výskytem zánětu podílejícího se na rozvoji aterosklerotických lézí přitom bývá často zmiňována infiltrace perivaskulární tukové tkáně zánětlivými buňkami produkujícími řadu cytokinů a mediátorů přispívajících k prohlubování zánětu (Mazurek, 2003; Baker, 2006). Naše výsledky naznačují, že nejen infiltrující buňky, ale i samotné epikardiální adipocyty jsou za bazálních podmínek významným producentem řady zánětlivých cytokinů majících relevantní vztah k patogenezi aterosklerózy. Námi získané výsledky by mohly být teoreticky ovlivněny expresí bioaktivních látek v makrofázích izolovaných z tukové tkáně společně s preadipocyty. Jak však prokázala studie Mangan a spol. (1991), životnost takovýchto nestimulovaných makrofágů bývá buněčné kultuře pouze 5 - 6 dnů. V případě naší studie byla doba kultivace preadipocytů v selektivním mediu před tím, než z nich byla izolována RNA, vždy delší než 8 dnů.

Dle našich znalostí nebyla dosud v literatuře publikována studie porovnávající expresi prozánětlivých cytokinů a adiponektinu v epikardiálních preadipocytech a z nich in vitro diferenciovaných adipocytech za bazálních podmínek. Podobný výzkum prováděný skupinou Fain a spol. (2008) využíval omentální tukovou tkáň získanou pouze od extrémně obézních pacientů. Výsledek této studie ukázal, že prozánětlivé cytokiny typu MCP1, IL-6, IL8, PAI-1 nebo IL-1 beta byly převážně exprimovány v omentálních preadipocytech. V této souvislosti je zajímavé, že epikardiální a omentální tuková tkáň má stejný embryonální původ, avšak liší se profilem genové exprese Fain a spol. (2010).

Závěrem lze uvést, že naše výsledky svědčí o tom, že epikardiální adipocyty se od viscerálních adipocytů výrazně odlišují v expresi prozánětlivých cytokinů a adiponektinu a mohly by se lokálně uplatnit v patogenezi koronární aterosklerózy.

Literatura

1. Baker AR, Silva NF, Quinn DW, et al. *Cardiovasc Diabetol*. 2006 Jan 13;5:1.
2. Cinti S. *J Endocrinol Invest*. 2002 Nov;25(10):823-35
3. Després JP, Lemieux I, Bergeron J, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008 Jun;28(6):1039-49..
4. Fain JN, Buehrer B, Bahouth SW, et al. *Metabolism*. 2008 Jul;57(7):1005-15.
5. Fain JN, Sacks HS, Bahouth SW, et al. *Metabolism*. 2010 Sep;59(9):1379-86.
6. Gao YJ. *Curr Pharm Des*. 2007;13(21):2185-92.
7. Chatterjee TK, Stoll LL, Denning GM, et al. *Circ Res*. 2009 Feb 27;104(4):541-9.
8. Fried SK, Moustaid-Moussa N: *Methods Mol Biol* 2001, 155:197-212.
9. Gustafson B. *J Atheroscler Thromb*. 2010 Apr 30;17(4):332-41. Epub 2010 Feb 3
10. Iacobellis G, Ribaldo MC, Assael F, et al. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Nov;88(11):5163-8.
11. Mangan DF, Wahl SM: *J Immunol* 1991, 147:3408-3412.
12. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, et al. *Circulation*. 2003 Nov 18;108(20):2460-6.
13. Pfaffl MW. *Nucleic Acids Res*. 2001 May 1;29(9):e45.
14. Piché ME, Lapointe A, Weisnagel SJ, et al. *Metabolism*. 2008 Aug;57(8):1101-7.
15. Yudkin JS, Eringa E, Stehouwer CD. *Lancet*. 2005 May 21-27;365(9473):1817-20.
16. Zhou Y, Wei Y, Wang L, et al. *Cardiovasc Diabetol*. 2011 Jan 12;10(1):2.

FUNKCE A FYZIOLOGICKÝ VÝZNAM HNĚDÉ TUKOVÉ TKÁNĚ VE VZTAHU K OBEZITĚ A METABOLICKÉMU SYNDROMU

FUNCTION AND PHYSIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF BROWN ADIPOSE TISSUE IN RELATION TO OBESITY AND METABOLIC SYNDROME

L. Kazdová¹, J. Trnovská², V. Škop¹, H. Malínská¹, O. Oliyarnyk¹

¹*Institut klinické a experimentální medicíny, Praha*

²*Česká zemědělská univerzita, Praha*

Abstract

Two types of adipose tissue can be distinguished, which have antagonistic functions – white adipose tissue stores energy as triacylglycerols and brown adipose tissue (BAT) is specialized in the dissipation of energy through the production of heat. BAT possess large numbers of mitochondria in which by UCP1 action oxidative phosphorylation is uncoupled from ATP synthesis to production of heat. The recent discovery of metabolic active BAT in adult humans has stimulated interest in this tissue. Data from human studies showed that individuals with low levels of BAT are prone to obesity, insulin resistance and cardiovascular disease, whereas those with higher levels of BAT maintain lower body weight. Animal studies suggest that cold exposure, gene mutation producing loss of hair or physical activity increase triacylglycerol clearance, lipid oxidation, glucose peripheral tissue insulin sensitivity, and decrease serum NEFA levels. These data suggest that formation and activation of BAT could be novel target for reduction or elimination the risk factors for the metabolic syndrome, obesity or type 2 diabetes.

Metabolický syndrom reprezentuje soubor metabolických poruch – dyslipidémii, obezitu, hypertenzi a inzulinovou rezistenci, které zvyšují riziko kardiovaskulárních onemocnění a diabetu 2. typu. (Park et al., 2003). Klíčovou úlohu v rozvoji metabolického syndromu má nepochybně dyslipidémie a obezita v důsledku nerovnováhy mezi kalorickým příjmem a energetickým výdejem. Nadbytek energie ve formě triacylglycerolů (TAG) je akumulován ve viscerální a subkutánní bílé tukové tkáni odkud je mobilizován pro krytí energetických výdajů pro bazální metabolismus, tělesný pohyb a činnost svalů. V organismu živočichů existuje ještě další typ tukové tkáně, označovaný jako hnědá tuková tkáň (HHT). Její barva je důsledkem velkého počtu mitochondrií a vysoké vaskularizace. Tato tkáň má opačnou funkci než bílá tuková tkáň – je specializována na využití lipidů pro tvorbu tepla. Charakteristické rozdíly mezi bílou a hnědou tukovou tkání jsou uvedeny v tab.1. Základní funkcí hnědé tukové tkáně je ochrana organismu před hypotermií indukcí netřesové termogeneze (Richard et Picard, 2011), a proto se v minulých letech zájem o tuto tkáň týkal převážně její funkcí u hibernujících zvířat a novorozenců. HHT je v organismu lokalizována v interskapulární, auxilární, subrenální a paravertebrální oblasti. Vyvíjí se průběhu intrauteriního vývoje z dermomyotomu z myf5 pozitivních progenitorových buněk a má tak stejný původ jako myocyty kosterních svalů, které rovněž využívají lipidy pro produkci energie.

Tabulka 1 Charakteristika bílé a hnědé tukové tkáně

	Bílá tuková tkáň	Hnědá tuková tkáň
Funkce	Uskladnění energie ve formě TAG	Produkce tepla oxidací TAG
Morfologie	TAG v jedné vakuole (~90% velikosti buňky) Nízký počet mitochondrií	TAG v četných malých vakuolách (~50% velikosti buňky) Četné velké mitochondrie
Proteiny	Leptin, adiponektin	Uncoupling protein 1 (UCP1)
Progenitorové buňky	myf5 – negativní	myf5 – pozitivní, podobně jako myocyty
Výskyt	Nadměrné množství při obezitě	Malé množství při obezitě
Vliv věku a obezity	Množství se zvyšuje s přibývajícím věkem a při obezitě	Množství se snižuje s přibývajícím věkem a při obezitě

Množství transmembránového uncoupling proteinu (UCP1), který je ukazatelem aktivity HTT, a který odpřahuje mitochondriální respiraci a tvorbu tepla od syntézy ATP, je nejvyšší v době narození kdy zabraňuje hypotermii novorozenců. V porovnání s bílou tukovou tkání je HTT je vysoce vaskularizovaná, což zajišťuje vysoký transport lipidů a glukózy pro jejich oxidaci pro produkci tepla a zároveň redistribuci tepla z HTT do celého organismu (Cannon and Nedergaard, 2004). HTT je hojně inervována vlákny sympatického nervového systému. Sympatická nervová zakončení uvolňují noradrenalin, který aktivuje G proteiny vázané na β -adrenergní receptory a aktivuje kaskádu reakcí, při které dochází k aktivaci odpřahujícího proteinu UCP1 (Richard et Picard, 2011). Pro termogenezi se jako zdroj v HTT nejdříve využívají lipidy v HTT. Vzhledem k jejich poměrně malému množství jsou později využívány jako energetický substrát triacylglyceroly a glukóza transportované do HTT z cirkulace (Nedergaard et al., 2011). V recentní studii Bartelt a spol. (2012) prokázali, že u myši vystavených chladu téměř polovina triacylglycerolů a značná část glukózy z potravy byly využity v HTT pro tvorbu tepla. Tyto nálezy naznačují možný potenciál zvýšené aktivity HTT pro snížení nebo eliminaci rizikových faktorů, které provází obezitu a metabolický syndrom.

K podobným závěrům vedly i výsledky naší studie, ve které jsme sledovali aktivitu HTT a další metabolické parametry u:

kongenní kmen spontánně hypertenzních potkanů SHR.BN-(D1Mit3-Igf2)/Ipcv, u kterých vznikla alopecie spontánní recesivní mutací genu desmoglein 4. Mutantní potkani této linie (SHR *Dsg*^{4/-}) jsou bezsrstí a lze předpokládat, že pro udržení tělesné teploty u nich bude aktivována HTT. Metabolické parametry u samců tohoto kmene ve věku 3 měsíců a u kontrolních potkanů kmene SHR s normálním ochlupením jsou uvedeny v tab. 2.

V porovnání s kontrolami měli mutantní bezsrstí potkani nižší tělesnou hmotnost a hmotnost viscerální tukové tkáně, zatímco hmotnost interskapulární hnědé tukové tkáně nebyla rozdílná. U mutantních potkanů byly sníženy sérové koncentrace neesterifikovaných mastných kyselin pravděpodobně v důsledku jejich sníženého uvolňování z viscerální tukové tkáně a jejich zvýšeného transportu do HTT. Nejvýraznější změnou bylo trojnásobné zvýšení oxidace mastných kyselin v HTT bezsrstých potkanů měřené podle inkorporace ¹⁴C palmitátu do CO₂. Vyšší utilizace lipidů pro tvorbu tepla v HTT spolu s nižšími sérovými hladinami

Tabulka 2 Vliv mutantní alopecie u SHR potkanů na metabolické parametry

	SHR kontroly	SHR <i>Dsg</i> ^{4/-} bezsrsté	P <
Tělesná hmotnost, g	372 ± 6	330 ± 11	0,01
Hmotnost viscerální tukové tkáně, g /100g t.hm.	1,42 ± 0,06	1,06 ± 0,06	0,005
Hmotnost interscap. HTT, g /100g t.hm.	0,094 ± 0,006	0,099 ± 0,004	n.s.
Oxidace palmitátu v HTT, nmol/g	17,2 ± 1,7	65,5 ± 5,1	0,001
Sérové NEMK, mmol/l	0,63 ± 0,06	0,50 ± 0,03	0,02
Uvolňování NEMK z epid. t. tkáně, μmol/g	2,77 ± 0,18	2,01 ± 0,26	0,05
Lipogeneze epid.t.tkáně - bazální (nmol/l /2 hod) - inzulinem stimulovaná	519 ± 44 856 ± 103	664 ± 48 1437 ± 222	0,05
Syntéza glykogenu ve svalové tkáni – bazální (nmol/l /2 hod) - inzulinem stimulovaná	494 ± 54 841 ± 95	776 ± 95 1405 ± 213	0,05
Oxidace glukózy ve svalu, nmol/l/2 hod	150 ± 10	220 ± 17	0,001

Hodnoty udávají průměr ± SE; počet zvířat ve skupině = 7

NEMK pozitivně ovlivnily i senzitivitu svalové a viscerální tukové tkáně k účinku inzulinu sledovanou podle inkorporace ¹⁴C-U-glukózy do svalového glykogenu a lipidů v tukové tkáni. Tyto výsledky podporují hypotézu, že zvýšená aktivita HTT, která vede k využití energetických substrátů pro tvorbu tepla, může příznivě ovlivnit řadu metabolických pochodů spojených s dyslipidemií, obezitou a metabolickým syndromem. Na změnách pozorovaných u mutantních bezsrstých potkanů se může podílet nejen HTT lokalizovaná v interskapulární oblasti ale i tzv. „zhnědnutí bílé subkutánní tukové tkáně. V naší studii jsme pozorovali v inguinální podkožní tukové tkáni ložiska hnědé tukové tkáně. Podobný jev byl popsán i u myši vystavených chladu. Spiegelman a spol. zjistili, že existují dva rozdílné typy hnědého tuku. Kromě klasických adipocytů HTT odvozených od myf-5 progenitorových buněk existují v bílé tukové tkáni adipocyty, které mají charakter bílých i hnědých adipocytů. Tyto adipocyty pojmenovali autoři jako „běžové“ nebo „brite (BRrown whITE)“ adipocyty (Ishibashi, 2010). Tyto tukové buňky, které je možné identifikovat podle genové exprese CD137, mají multilokulární lipidové vakuoly, ale na rozdíl od hnědých adipocytů mají extrémně nízkou bazální expresi UCP1 proteinu a tím i nízkou respiraci a podobně jako klasické adipocyty v bílé tukové tkáni akumulují lipidy. Naproti tomu, podobně jako u hnědých adipocytů, po stimulaci cAMP je aktivita UCP1 a mitochondriální oxidace lipidů pro tvorbu tepla výrazně stimulována na vyšší hodnoty než v HTT. Další jejich výjimečnou vlastností, která nebyla zjištěna u hnědých adipocytů, je senzitivita k polypeptidu irisinu, který je sekretován ze svalové tkáně a jehož sekrece je stimulována fyzickou aktivitou.

Původ „běžových“, adipocytů vznikajících v depech bílé tukové tkáně nebyl dosud objasněn. Uvažovány jsou dva mechanismy vzniku těchto buněk a to diferenciací prekurzorových preadipocytů nebo transdiferenciací existujících bílých adipocytů. Autoři se domnívají, že jsou to právě „běžové“ adipocyty, které mají schopnost fenotypické transdiferenciací a které jsou aktivovány u dospělých osob v souvislosti s termoregulací, fyzickou aktivitou nebo kalorickou restrikcí a přispívají ke zvýšené oxidaci lipidů a tím pozitivně ovlivňují dyslipidémii, obezitu a metabolický syndrom (Wu et.al., 2012).

Dosud existuje málo poznatků o sekreci adipokinů z HTT nebo o senzitivě HTT k účinkům adiponektinů sekretovaných z bílé tukové tkáně. Dosavadní studie ukazující základě genové exprese, že produkce adipokinů v HTT je nízká (Cannon and Nedergaard, 2004).

V našich studiích jsme sledovali, zda zvýšená exprese rezistinu v bílé tukové tkáni u SHR transgenních potkanů ovlivní v HTT utilizaci a oxidaci glukózy a palmitátu, které byly sledovány podle inkorporace ^{14}C – U-glukózy a ^{14}C -palmitátu do lipidů a CO_2 .

Tabulka 3 Vliv transgenní exprese rezistinu na utilizaci glukózy a palmitátu v HTT

	SHR- kontroly	SHR - rezistin	p <
Tělesná hmotnost, g	336 ± 8	321 ± 10	n.s.
Hmotnost viscerální tukové tkáně, mg /100g t.hm.	892 ± 42	701 ± 37	0,01
Hmotnost interskapulární HTT, mg /100g t.hm.	88 ± 6	74 ± 8	n.s.
Inkorporace ^{14}C -U-glukózy do lipidů, nmol/g/2h	628 ± 46	764 ± 79	n.s.
Inkorporace ^{14}C -palmitátu do lipidů, nmol/g/2h	804 ± 42	995 ± 51	0,05
Oxidace ^{14}C -U-glukózy na CO_2 , nmol/g/2h	402 ± 32	304 ± 33	0,05
Oxidace ^{14}C -palmitátu na CO_2 , nmol/g/2h	53,8 ± 4,9	37,6 ± 4,5	0,02

Hodnoty udávají průměr ± SE; počet zvířat ve skupině = 7 - 9

Z výsledků uvedených v tab. 3 je patrné, že exprese rezistinového genu pod promotorem Ap2 genu, který je specifický pro tukovou tkáň, zvýšila v HTT inkorporaci palmitátu do lipidů, ale neovlivnila inkorporaci glukózy do lipidů. Naproti tomu oxidace obou sledovaných substrátů byla u potkanů s exprimovaným rezistinem výrazně snížena. Tyto prioritní nálezy naznačují, že rezistin sekretovaný z bílé tukové tkáně může ovlivnit metabolické pochody v HTT a že snížená aktivita HTT, která se projevila sníženou oxidací mastných kyselin a glukózy, může být zapojena v mechanismu rezistinem indukované dyslipidémie, ektopické akumulace triacylglycerolů a inzulínové rezistence (Pravenec et al., 2003).

Závěrem lze uvést, že intenzivní výzkum HTT, stimulovaný nálezem aktivní HTT u dospělých osob, přinesl řadu nových poznatků, které ukázaly, že nízký výskyt HTT zvyšuje riziko obezity, dyslipidémie a inzulínové rezistence. Naproti tomu vyšší hladiny HTT byly zjištěny u štíhlých osob. V experimentálních studiích bylo navíc prokázáno, že aktivita HTT může být stimulována chladovou expozicí, kalorickou restrikcí nebo zvýšenou fyzickou aktivitou. Skutečnost, že HTT přispívá k energetickému výdeji a může mít důležitou roli v prevenci obezity a jejich komplikací nabízí potenciální strategii k hledání nových léčebných postupů, které by zvýšily aktivitu UCP1 a tvorbu HTT nebo transdiferenciaci bílé tukové tkáně na HTT.

Studie byla podpořena projektem (Ministerstva zdravotnictví) rozvoje výzkumné organizace 00023001 (IKEM) „Institucionální podpora“.

Literatura

- Bartelt A., Bruns OT., Reimer R., et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nature Medicine* 17: 200-205, 2011.
- Cannon B. and Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev* 84: 277-359, 2004.
- Ishibashi J. and Seale P. Medicine. Beige can be slimming. *Science* 328: 1113-1114, 2010.

Nedergaard J., Bengtsson T., Cannon B. New powers of brown fat: Fighting the metabolic syndrome. *Cell Metabolism* 13: 238, 240, 2011.

Pravenec M., Kazdová L., Landa V., et al. Transgenic and recombinant resistin impair skeletal muscle glucose metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *J Biol Chem* 278: 45209-45215, 2003.

Richard D., Picard F. Brown fat biology and thermogenesis. *Frontiers in Bioscience* 1(16): 1233-1260, 2011.

Wu J., Boström P., Sparks LM., et al. Beige adipocytes are distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* 150: 366-376, 2012.

MASTNÉ KYSELINY U KARCINOMU PANKREATU A JINÝCH ONKOLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

J. Macáček, B. Staňková, M. Zeman, E. Tvrzická, M. Vecka, A. Žák

IV. interní klinika, 1. LFUK a VFN Praha

Karcinom pankreatu (KP) je velmi závažné onkologické onemocnění se špatnou prognózou. KP je doprovázen závažnou malnutricí se změněným metabolismem mastných kyselin (MK). Změna metabolismu MK je nacházena i u jiných onkologických onemocnění, dále u kardiovaskulárních chorob, při obezitě či diabetes mellitus 2. typu (Vigneri et al., 2009). Složení mastných kyselin v plasmatických fosfolipidech a cholesterylesterech odpovídá jednak exogennímu příjmu mastných kyselin v průběhu několika týdnů jakožto i endogennímu metabolismu MK (syntéza, lipoperoxidace atd.) (Riccardi et al., 2004). V několika studiích bylo prokázáno, že příjem tuku a nasycených mastných kyselin je asociován s rizikem vzniku onkologických onemocnění včetně karcinomu pankreatu (Howe and Burch, 1996; Stolzenberg-Solomon et al., 2002; Thiebaut et al., 2009). U obézních jedinců došlo ke snížení rizika vzniku karcinomu pankreatu při zvýšeném příjmu vícenasycených mastných kyselin na úkor těch nasycených (Nkondjock et al., 2005). Vysoký příjem vícenasycených mastných kyselin řady n-6, zvláště kyseliny linolové, zvyšuje riziko vzniku nádoru trávicího traktu (kolorektální karcinom, karcinom pankreatu), karcinomu prsu a prostaty. (Berquin et al., 2008). Zatímco vícenasycené mastné kyseliny řady n-3 působí proti vzniku nádorových onemocnění (Berquin et al., 2008). Obecně lze říci, že vícenasycené mastné kyseliny řady n-6 podporují proliferaci tumoru, invazivitu, metastazování a obecně reakci organismu (zánětlivou, imunitní atd.), kdežto vícenasycené mastné kyseliny řady n-3 působí opačně (Wendel, 2009).

U některých druhů nádorů je zvýšena *de novo* syntéza MK na podkladě zvýšené exprese syntázy MK a stearyl-CoA desaturázy (SCD-1). Syntáza MK je enzym, který je fyziologicky exprimován pouze v tukové tkáni a játrech (Semenkovich et al., 1995; Lupu and Menendez, 2006). V rakoviných buňkách je exprimován za účelem uspokojení nutričních potřeb těchto buněk (Lupu and Menendez, 2006; Flowers and Ntibi, 2008).

Cíl studie

V naší pilotní studii jsme analyzovali složení mastných kyselin u karcinomu pankreatu.

Materiál a metody

Ve studii bylo zahrnuto celkem 152 osob (81 M/71 Ž), které byly rozděleny do 2 skupin. 1. skupina byly kontrolní osoby v počtu 66 (34M/32Ž), druhou skupinu tvořilo 86 pacientů s karcinomem pankreatu (47/39 M/Ž). Všechny subjekty studie byly vyšetřeny klinicky, včetně antropometrického vyšetření, byla odebrána podrobná anamnéza. Krev byla odebírána po 12hodinovém lačnění. Běžné laboratorní parametry byly vyšetřeny automatickými analyzátoři, složení mastných kyselin ve fosfolipidech, cholesterylesterech a triacylglycerolech bylo vyšetřeno pomocí plynové chromatografie (Tvrzická et al., 2002). Karcinom pankreatu byl verifikován histologicky, staging byl proveden dle TNM klasifikace a Union Internationale Contre le Cancer with American Joint Committee on Cancer (UICC/AJCC 2003). Všechna data byla statisticky zpracována programem STATISTICA® for Windows.

Výsledky

Pacienti s karcinomem pankreatu byli starší než kontrolní skupina ($P < 0.001$), proto byla provedena adjustace parametrů na věk.

Složení mastných kyselin v jednotlivých třídách plazmatických lipidů (fosfolipidy, cholesterylestery, triacylglyceroly) je zobrazena v tab. 1. Pacienti s karcinomem pankreatu měli snížené množství n-6 vícenenasycených mastných kyselin ve fosfolipidech a cholesterylesterech, dále měli zvýšené množství mononenasycených mastných kyselin ve fosfolipidech, cholesterylesterech i triacylglycerolech společně se sníženým množstvím n-3 vícenenasycených mastných kyselin ve fosfolipidech a triacylglycerolech. Ve skupině karcinomu pankreatu byla také zjištěna elevace palmitové kyseliny (POA, 16:1n-7) ve fosfolipidech a cholesterylesterech, olejové kyseliny (OA, 18:1n-9) ve fosfolipidech, cholesterylesterech a triacylglycerolech a vakcenové kyseliny (VA, 18:1n-7) ve fosfolipidech a cholesterylesterech. Ve skupině pacientů s karcinomem pankreatu bylo zjištěno snížené množství linolové kyseliny (LA, 18:2n-6) ve fosfolipidech a cholesterylesterech, α -linolenové kyseliny (ALA, 18:3n-3) ve všech lipidových třídách, zatímco pokles eikosapentaenové kyseliny (EPA, 20:5n-3) byl ve fosfolipidech a triacylglycerolech. Změna aktivity desaturáz byla odhadována pomocí poměru mastných kyselin jako produkt/substrát. Pro kyselinu stearovou (18:0) a palmitovou (16:0) byla prokázána zvýšená aktivita $\Delta 9$ - desaturázy (D9D), která byla signifikantní v lipidové třídě fosfolipidů a triacylglycerolů. Ve všech lipidových třídách byla zachycena zvýšená aktivita $\Delta 5$ - desaturázy (D5D). Snížená aktivita $\Delta 6$ - desaturázy (D6D) byla pouze v triacylglycerolech. Mezi koncentracemi linolenové kyseliny (9,12,15-oktadekatrienová kyselina, ALA), dihomogamma-linolenové kyseliny (8,11,14-eikosatrienová kyselina, DHGLA), timnodonové kyseliny (5,8,11,14,17-eikosapentaenová kyselina, EPA), vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 a stádiem tumoru byl zjištěn negativní trend poklesu koncentrace MK s vzrůstajícím stádiem onemocnění ($P < 0.05$), výsledky jsou prezentovány v tab. 2. Nebyl zjištěn žádný konzistentní rozdíl ve složení mastných kyselin mezi podskupinami pacientů s karcinomem pankreatu, kteří buď mají anebo nemají diabetes mellitus.

Diskuze

Náhled na změny ve složení mastných kyselin u karcinomů je komplexní. Důležitou roli hraje příjem mastných kyselin v potravě, ale i endogenní metabolismus mastných kyselin, který může být ovlivněn různými patofyziologickými procesy, které doprovázejí onkologická onemocnění. Nádor většinou indukuje malnutriční stav, zánětlivou odpověď, zvyšuje oxidační stres a také využívá katabolismus mastných kyselin jako zdroj energie. Ve skupině pacientů s karcinomem pankreatu byl zjištěn nižší obsah LA, ALA and EPA. Bylo zjištěno, že pacienti s karcinomem pankreatu nemají vyšší koncentraci konjugovaných dienu v LDL částicích, jako ukazatelů lipoperoxidace (Žák, 2007), tudíž snížené množství linolové (LA, 18:2n-6), α -linolenové (ALA, 18:3n-3) a timnodonové kyseliny (EPA, 20:5n-3) není způsobeno lipoperoxidací, ale pravděpodobně nižším dietním přísunem těchto mastných kyselin. Studie publikovaná Neoptolemosem (Neoptolemos, 1988), zjistila, že u zdravých jedinců koreluje obsah LA v tukové tkáni i v erytrocytech, kdežto u pacientů s kolorektálním karcinomem tato korelace chybí. Pacienti s karcinomem pankreatu měli zvýšenou aktivitu desaturáz SCD1 (D9D) a D5D. Zvýšená aktivita SCD1 je nalézána u různých onkologických onemocnění. Agresivně rostoucí tumory jsou charakterizovány zvýšenou syntézou mastných kyselin *de novo* a zvýšenou přeměnou nasycených mastných kyselin v mononenasycené mastné kyseliny, což je podmíněno syntetickými i desaturačními aktivitami. Nižší obsah plazmatických vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 byl zjištěn u mnoha typů nádorů (Zuijdgeest-van Leeuwen, 2002)

Vícenenasycené mastné kyseliny řady n-6 i n-3 jsou úzce propojeny s metabolismem eikosanoidů; je známo, že inhibice růstu tumoru je spojena se snížením aktivity cyclooxygenázy-2 a snížených koncentrací prostaglandinu E₂. Vícenenasycené mastné kyseliny řady n-6 aktivují mitogenní signální kaskádu prostřednictvím PKC, ERK1/2 a NF-κB. Vícenenasycené mastné kyseliny řady n-3 mají opačný efekt (Berquin et al., 2008). Vícenenasycené mastné kyseliny n-3 dále inhibují aktivaci eIF2α kinázy a suprimují expresi onkogenů a G1 cyklinů. Experimentální i klinické studie prokázaly protektivní účinky nenasyčených mastných kyselin řady n-3 PUFA proti karcinomu prostaty, prsu, a kolorektálnímu karcinomu (Clarke, 2001; Larrson et al., 2004).

Závěr

Bylo prokázáno, že pacienti s karcinomem pankreatu mají specifický profil mastných kyselin v plazmatických lipidech. Pacienti s karcinomem pankreatu v porovnání s kontrolními pacienty měli zvýšené množství mononenasyčených mastných kyselin. Především kyseliny palmitové, olejové a vakcenové. Tyto změny korelovali se zvýšením aktivity D9D a D5D. U pacientů s karcinomem pankreatu bylo zjištěno snížené množství LA, ALA, and EPA. Tyto změny jsou pravděpodobně způsobeny snížením příjmu dietního tuku. Byla prokázána pozitivní korelace mezi koncentrací EPA and DHGLA a koncentrací viscerálních proteinů. Množství ALA, DHGLA, EPA and PUFA n-3 negativně korelovalo se stádiem tumoru. Změny ve složení mastných kyselin ukazují na patofyziologické změny metabolismu mastných kyselin u nádorových onemocnění a podporují tak potřebu řádné nutriční podpory pacientů s těmito onemocněními.

Studie byla podpořena programem PRVOUK-P25/LF1/2

Literatura

- Berquin IM, Edwards IJ, Chen YQ: Multi-targeted therapy of cancer by omega-3 fatty acids. *Cancer Letters* **269**, 363-377, 2008.
- Clarke SD: Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *J Nutr* **131**, 1129-1132, 2001.
- Flowers MT and Ntambi JM: Role of Stearoyl-Coenzyme A desaturase in regulating lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* **19**, 248-256, 2008.
- Howe GR and Burch JD: Nutrition and pancreatic cancer. *Cancer Causes Control* **7**, 69-82, 1996.
- Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M, and Wolk A: Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* **79**, 935-945, 2004.
- Lupu R and Menendez JA: Targeting fatty acid synthase in breast and endometrial cancer: an alternative to selective estrogen receptor modulators? *Endocrinology* **147**, 4056-4066, 2006.
- Neoptolemos JP, Clayton H, Heagerty AM, et al.: Dietary fat in relation to fatty acid composition of red cells and adipose tissue in colorectal cancer. *Br J Cancer* **58**, 575-579, 1988
- Nkondjock A, Krewski D, Johnson KC, et al.: Specific fatty acid intake and the risk of pancreatic cancer in Canada. *Brit J Cancer* **92**, 971-977, 2005.
- Riccardi G, Giacco R, Rivellese AA: Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clin Nutr* **23**, 447-456, 2004.

- Semenkovich CF, Coleman T, Fiedorek FT Jr: Human fatty acid synthase mRNA: tissue distribution, genetic mapping, and kinetic decay after glucose deprivation. *J Lipid Res* **36**, 1507-1521, 1995.
- Stolzenberg-Solomon RZ, Pietinen P, Taylor PR, et al.: Prospective study of diet and pancreatic cancer in male smokers. *Am J Epidemiol* **155**, 783-792, 2002.
- Thiebaut ACM, Jiao L, Silverman DT, et al.: Dietary fatty acids and pancreatic cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *J Natl Cancer Inst* **101**, 1001-1011, 2009.
- Tvrzická E, Vecka M, Staňková B, Žák A: Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionisation detection. Quantitative aspects. *Anal Chim Acta* **465**, 337-350, 2002.
- Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, et al.: Diabetes and cancer. *Endo Relat Cancer* **16**, 1103-1123, 2009.
- Wendel M, Heller AR: Anticancer actions of omega-3 fatty acids--current state and future perspectives. *Anticancer Agents Med Chem* **9**, 457-470, 2009.
- Zuijdgheest-van Leeuwen SD, van den Heijden MS, Rietveld T, et al.: Fatty acid composition of plasma lipids in patients with pancreatic, lung and oesophageal cancer in comparison with healthy subjects. *Clin Nutr* **21**, 225-230, 2002.
- Žák A, Tvrzická E, Vecka M, et al.: Severity of metabolic syndrome unfavorably influences oxidative stress and fatty acid metabolism in men. *Tohoku J Exp Med* **212**; 359-371, 2007.

Tab. 1 Profil mastných kyselin v plazmatických lipidech

MK	Fosfolipidy		Triacylglyceroly		Cholesteryl esters	
	KON	KP	KON	KP	KON	PC
16:0	29.70 ± 1.20	33.05 ± 2.90***	26.73 ± 3.30	26.76 ± 2.09	10.26 ± 2.00	10.30 ± 2.70
16:1n-7	0.49 ± 0.15	0.69 ± 0.35***	3.30 ± 1.01	3.40 ± 1.04	2.93 ± 0.99	3.70 ± 1.37**
18:0	13.58 ± 1.10	11.78 ± 1.59***	3.44 ± 0.83	2.82 ± 0.77***	0.64 ± 0.29	0.64 ± 0.33
18:1n-9	10.05 ± 1.13	12.20 ± 2.21***	40.35 ± 4.72	43.00 ± 2.87***	19.40 ± 2.60	21.50 ± 2.88***
18:1n-7	1.47 ± 0.22	1.92 ± 0.36***	2.47 ± 0.40	2.62 ± 0.36	1.19 ± 0.33	1.47 ± 0.32***
18:2n-6	23.09 ± 2.24	19.48 ± 3.08***	16.16 ± 4.95	15.04 ± 2.57	56.58 ± 4.32	51.20 ± 5.06***
18:3n-3	0.20 ± 0.07	0.13 ± 0.04***	0.84 ± 0.34	0.57 ± 0.20***	0.52 ± 0.17	0.38 ± 0.12***
20:3n-6	3.07 ± 0.70	2.75 ± 0.88*	0.31 ± 0.17	0.27 ± 0.15	0.65 ± 0.17	0.69 ± 0.17
20:4n-6	11.37 ± 1.54	11.58 ± 2.80	1.51 ± 0.69	1.50 ± 0.52	5.42 ± 2.38	7.42 ± 3.18***
20:5n-3	1.07 ± 0.61	0.55 ± 0.26***	0.22 ± 0.19	0.12 ± 0.06***	0.28 ± 0.24	0.28 ± 0.18
22:6n-3	3.48 ± 0.86	3.56 ± 1.05	0.63 ± 0.61	0.51 ± 0.22	0.17 ± 0.12	0.30 ± 0.19***
□SFA	43.62 ± 0.98	45.11 ± 2.79**	32.11 ± 4.29	31.05 ± 2.59	11.65 ± 2.08	11.75 ± 2.61
□MUFA	12.25 ± 1.26	15.08 ± 2.70***	47.14 ± 4.96	49.97 ± 3.14***	23.92 ± 3.39	27.20 ± 3.70***
□PUFA n-6	38.46 ± 1.69	34.82 ± 3.71***	18.73 ± 5.48	17.46 ± 2.77	63.44 ± 4.91	60.07 ± 5.37**
□PUFA n-3	5.67 ± 1.35	5.09 ± 1.37*	2.02 ± 1.04	1.52 ± 0.44***	0.99 ± 0.46	0.98 ± 0.39
D9D-16 ^a	0.017 ± 0.005	0.021 ± 0.009**	0.124 ± 0.037	0.127 ± 0.038	0.293 ± 0.098	0.389 ± 0.173**
D9D-18 ^b	0.746 ± 0.120	1.067 ± 0.328***	12.52 ± 3.65	16.31 ± 4.19***	33.06 ± 8.54	39.70 ± 15.39**
D6D n-6 ^c	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.018 ± 0.007	0.013 ± 0.008***	0.012 ± 0.006	0.013 ± 0.008
D6DE n-6 ^d	0.135 ± 0.039	0.145 ± 0.052	0.020 ± 0.010	0.019 ± 0.010	0.012 ± 0.004	0.014 ± 0.004**
D5D n-6 ^e	3.87 ± 0.96	4.57 ± 1.68**	5.02 ± 1.36	6.00 ± 2.14***	8.39 ± 3.60	11.44 ± 5.74***

Výsledky jsou prezentovány jako aritmetický průměr ± SD; Σ – suma, SFA – saturated fatty acids - nasycené MK, MUFA – monounsaturated fatty acid- mononenasycené MK, PUFA n-6 – polyunsaturated fatty acids of n-6 family- vícenenasycené MK řady n-6, PUFA n-3 – polyunsaturated fatty acids of n-3 family- vícenenasycené MK řady n-3. ^a -16:1n-7/16:0 - Δ9 desaturáza; ^b - 18:1n-9/18:0 - Δ9 desaturáza; ^c - 18:3n-6/18:2n-6 - Δ6 desaturáza; ^d -20:3n-6/18:2n-6 -Δ6 desaturáza+elongáza; ^e - 20:4n-6/20:3n-6 - Δ5 desaturáza; statistická signifikance (ANCOVA): * - P < 0.05, ** - P < 0.01, *** - P < 0.001

Tab. 2 Stádium tumoru a MK v plazmatických fosfolipidech

	stádium II (n = 12)	stádium III (n = 37)	stádium IV (n = 35)	P (trend) ^a
16:0	33.12 (31.64-33.66)	32.97 (31.14-33.98)	32.95 (32.14-34.74)	NS
16:1n-7	0.61 (0.51-0.82)	0.60 (0.48-0.78)	0.53 (0.47-0.82)	NS
18:0	12.08 (11.14-12.48)	11.75 (10.65-13.04)	11.74 (10.92-12.88)	NS
18:1n-9	11.97 (10.36-13.23)	11.63 (10.88-13.61)	12.07 (10.61-13.38)	NS
18:1n-7	1.99 (1.68-2.18)	1.89 (1.66-2.14)	1.89 (1.69-2.05)	NS
18:2n-6	19.18 (16.67-21.94)	19.48 (18.57-21.87)	19.64 (18.14-21.13)	NS
18:3n-6	0.05 (0.05-0.06)	0.07 (0.05-0.09)	0.05 (0.04-0.10)	NS
18:3n-3	0.13 (0.11-0.16)	0.13 (0.10-0.15)	0.11 (0.09-0.14)	Klesající *
20:3n-6	2.72 (2.30-3.46)	2.94 (2.38-3.45)	2.25 (1.89-3.10)	Klesající *
20:4n-6	11.11 (9.19-14.51)	11.58 (10.23-12.69)	12.36 (10.04-13.76)	NS
20:5n-3	0.66 (0.44-0.76)	0.54 (0.41-0.70)	0.45 (0.37-0.62)	Klesající *
22:5n-3	0.92 (0.78-1.17)	0.91 (0.68-1.00)	0.76 (0.68-1.03)	NS
22:6n-3	3.80 (3.18-4.83)	3.45 (2.86-4.16)	3.45 (2.75-4.30)	NS
ΣSFA	44.83 (44.15-45.66)	44.56 (43.84-45.27)	45.08 (44.03-46.12)	NS
ΣMUFA	14.50 (13.22-16.20)	14.34 (13.40-16.37)	14.66 (12.78-16.40)	NS
ΣPUFA n-6	35.71 (32.90-36.80)	36.04 (32.97-37.00)	35.36 (33.3-36.53)	NS
ΣPUFA n-3	5.53 (4.88-6.38)	5.17 (4.20-5.86)	4.85 (3.81-5.78)	Klesající *
D9D-16 ^a	0.018 (0.016-0.025)	0.019 (0.015-0.024)	0.017 (0.014-0.025)	NS
D9D-18 ^b	0.970 (0.901-1.045)	0.984 (0.904-1.126)	1.035 (0.883-1.144)	NS
D6D n-6 ^c	0.002 (0.002-0.003)	0.003 (0.002-0.005)	0.003 (0.002-0.005)	NS
D6DE n-6 ^d	0.142 (0.109-0.199)	0.148 (0.118-0.174)	0.114 (0.095-0.165)	Klesající *
D5D n-6 ^e	4.56 (3.26-5.55)	3.79 (3.09-5.15)	4.59 (3.68-6.95)	Vzestupný *

Výsledky jsou prezentovány jako median (25th perc – 75th perc. ^a-Jonckheere-Terpstra test; * - p < 0.05; Σ – suma, SFA – saturated fatty acids- nasycené MK, MUFA – monounsaturated fatty acids-mononenasycené MK, PUFA n-6 – polyunsaturated fatty acids of n-6 family- vícenenasycené MK řady n-6, PUFA n-3 – polyunsaturated fatty acids of n-3 family-vícenenasycené MK řady n-3, ^a-16:1n-7/16:0 - Δ9 desaturáza; ^b-18:1n-9/18:0 - Δ9 desaturáza; ^c - 18:3n-6/18:2n-6 - Δ6 desaturáza; ^d-20:3n-6/18:2n-6 - Δ6 desaturáza+elongáza; ^e - 20:4n-6/20:3n-6 - Δ5 desaturáza

LÉČBA NIACINEM, MOŽNOSTI POUŽITÍ PREPARÁTU TREDAPTIVE® (NAŠE POZOROVÁNÍ)

T. Vařeka, M. Zeman, J. Macášek, M. Vecka, J. Kodydková, L. Vávrová, A. Žák

IV. interní klinika VFN a I. LF UK Praha

Úvod

Přestože v posledních desetiletích došlo k podstatnému zlepšení zdravotní péče o nemocné s kardiovaskulárním onemocněním, zůstává KVO v popředí příčin úmrtí a nemocnosti a v Evropě odpovídá za zhruba 50 % úmrtí (Chapman, 2011). Hlavními cíli léčebných opatření je léčba hyperlipidémie, zejména snižování hladiny LDL-cholesterolu (LDL-C), léčba arteriální hypertenze a snižování rizika trombotických komplikací. V současné době dochází také k mimořádnému nárůstu výskytu obezity a s ní spojeným metabolickým syndromem (MS) i diabetes mellitus (DM) 2. typu. Tato onemocnění jsou spojena s abnormalitami lipidového metabolismu, které jsou souhrnně označovány jako *aterogenní lipoproteinový fenotyp* [současný výskyt hypertriglyceridémie, nízké hladiny HDL-cholesterolu (HDL-C) a zvýšený podíl aterogenních malých denzních částic LDL, zvýšená postprandiální lipémie a zvýšená koncentrace apolipoproteinu B (apo-B) v plasmě]. Tento soubor metabolických abnormalit stojí v pozadí zvýšeného tzv. reziduálního kardiovaskulárního rizika, které zůstává i po snížení hladiny LDL-cholesterolu léčbou statiny, které jsou v současné době hypolipidemiky první volby. Po dosažení cílové hodnoty LDL-C se nyní - v případě přetrvávající snížené hladiny HDL-C a zvýšené triglyceridémie - doporučuje kombinace statinů s fibráty nebo niacinem.

Niacin

Kyselina nikotinová (niacin), nazývaná také vitamin B3 (což je ovšem nesprávně označení, které patří spíše kyselině pantotenové), či známá pod obsoletní zkratkou PPF (pellagra preventive factor) bývá zařazována do skupiny komplexu vitaminu B, i když vitaminem není, protože může být syntetizována in vivo z esenciální aminokyseliny tryptofanu. Termín niacin zahrnuje dvě sloučeniny, které mají biologickou funkci vitaminu a také stejnou biologickou aktivitu – kyselinu nikotinovou a nikotinamid. V organismu plní zejména dvě funkce: 1/ Je prekursorem dvou esenciálních koenzymů - nikotinamid adenin dinukleotidu (NAD) a nikotinamid adenin dinukleotid fosfátu (NADP). Obě sloučeniny mohou být redukovány na NADH a NADPH a jako koenzymy se účastní oxidačně-redukčních reakcí, které jsou katalyzovány dehydrogenasami a oxidoreduktasami. Enzymatické systémy spojené s koenzymy NAD/NADP tak ovlivňují prakticky všechny metabolické procesy, převážně však reakce spojené se získáváním energie. 2/ NAD je prekursorem ADP-ribosy pro ADP-ribosylaci a poly(ADP)-ribosylaci proteinů a pro syntézu cADP-ribosy, která spolu s NADPH plní funkci druhých posílů a zvyšuje intracelulární koncentrace vápníku (Žák, 2006).

Podávání niacinu (kyseliny nikotinové) vede v lidském organismu ke dvěma typům účinků. Ve fyziologických dávkách (≈ 20 mg/den) plní funkci vitaminu jako faktor, bránící rozvoji pelagry. Ve farmakologických dávkách (≈ 0,5-4,5 g/den) výrazně ovlivňuje koncentrace plasmatických lipidů a lipoproteinů: snižuje koncentrace VLDL a LDL-C, mění profil subfrakcí LDL směrem k zastoupení částic o větší velikosti a nižší denzitě a výrazně zvyšuje koncentraci HDL-C, hlavně v důsledku elevace subfrakce HDL₂. Jako jediné hypolipidemikum snižuje také koncentrace lipoproteinu(a) (Lp_(a)) Niacin ve farmakologických dávkách je užíván jako hypolipidemikum od poloviny 50. let (Carlson, 2005).

Účinky

Většina účinků niacinu je spojena s aktivací niacinových receptorů. U člověka jsou známy dva typy těchto receptorů: HM74 (GPR109B) a HM74A (GPR109A) (Soga, 2003; Tunaru, 2005). Jde o receptory, spojené s proteinem G (GPCR). Niacin působí na buňky tukové tkáně, na játra a také jsou známy jeho extrahypolipidemické účinky. Po aktivaci GPR109A v adipocyty dochází k poklesu cAMP a k poklesu aktivity hormon-senzitivní lipázy a tím k poklesu hydrolýzy triglyceridů na volné mastné kyseliny (Soga, 2003; Zhang, 2005). V játrech niacin přímo potlačuje syntézu triglyceridů inhibicí aktivity diacylglycerol acyltransferázy 2 (DGAT 2), klíčového enzymu syntézy triglyceridů - tyto změny ve svých důsledcích ústí ve sníženou sekreci lipoproteinů obsahujících apo B z hepatocytu (Ganji, 2004). Studie in vitro též prokazují, že niacin v hepatocytu pravděpodobně inhibuje katabolismus HDL-Apo A I a prodlužuje tak jeho poločas v krevním oběhu. Současně niacin zvyšuje expresi PPAR gamma receptorů a CD36 v monocytech/makrofázích a stimuluje transportér ABCA1, takže přispívá k zvýšení kapacity reverzního transportu cholesterolu (Rubic, 200; 4 Carlson, 2005). Podle některých autorů přispívá niacin ke zvýšení HDL-cholesterolu také tím, že v důsledku poklesu dosažitelnosti volných mastných kyselin v játrech pro tvorbu VLDL a následného poklesu cholesterolu v hepatocytu klesá v hepatocytu exprese CETP. Navíc niacin inhibuje také aktivitu jaterní lipázy, což je spojeno s poklesem clearance HDL v důsledku jeho snížené remodelace v plasmě (Van den Hoorn, 2008). Extrahypolipidemické účinky niacinu zahrnují antioxidační působení, zvýšenou expresi PG D2 (který je metabolizován na PG J2 s následnou aktivací PPAR- γ) a sníženou expresi některých proteinů (cytoadhesní molekuly, růstové faktory) pravděpodobně ovlivněním nukleárního faktoru κ B (NF κ B) (Meyers, 2004). Podávání niacinu také zvyšuje systémové koncentrace leptinu (pravděpodobně v důsledku kompenzatorně zvýšených hladin insulinu) a adiponektinu. Je pozorován i pokles tendence k trombóze při podávání niacinu, což je důsledkem snížení koncentrace $Lp_{(a)}$, fibrinogenu, inhibitoru-1 aktivátoru plasminogenu (PAI-1), tkáňového aktivátoru plasminogenu (tPA) i α 2-antiplasminu (α 2-AP) (Gotto, 2003). Mnoho příznivých účinků na kardiovaskulární systém nezávisí jen na hypolipidemickým působením niacinu, ale má též tzv. pleiotropní účinky, jedním z nich je tvorba NAD⁺. Vzestup hladiny NAD⁺ indukovaný léčbou niacinem může přímo interferovat s procesy, které se účastní v patogenezi aterosklerózy (Ganji, 2009).

Mnohočetné účinky niacinu ovlivňující metabolismus lipidů a LP jsou znázorněny na obr.1.

Léčebné použití niacinu

Niacin v monoterapii zvyšuje HDL-C o 15 - 35 % a snižuje triglyceridy (TG) o 25 – 50 % (Žák, 2006), pro běžnou klinickou praxi je praktické tzv. „pravidlo 20 %“: zvýšení HDL-C o 20 %, pokles LDL-C a TG o 20 % (Maccubbin, 2008). Niacin je však možno použít i v kombinaci s fibráty nebo se sekvestrany žlučových kyselin. Ve studiích CLAS, HATS, FATS bylo prokázáno, že podávání kyseliny nikotinové v kombinaci s dalšími hypolipidemiky snížilo významně riziko a progresi ICHS. Ve studii „Coronary Drug Project“ (CDP), ve které byl podáván niacin, bylo poprvé prokázáno snížení celkové mortality v důsledku hypo-lipidemické léčby u osob léčených niacinem ještě po 9 letech po ukončení studie (Gotto a Pownall, 2003).

Niacin je indikován k léčbě nemocných v sekundární prevenci ICHS tam, kde se nepodaří dosáhnout doporučených cílových koncentrací lipidů, u nemocných v primární prevenci ICHS s vysokým rizikem kardiovaskulárních onemocnění, dále u osob s aterogenní dyslipidemií typickou pro MS. Současné zvýšení koncentrace LDL-C a TG s poklesem HDL-C se ukazuje jako vhodná indikace kombinační léčby kyseliny nikotinové s dalšími hypolipidemiky snižujícími primárně LDL-C (statiny, sekvestrany žlučových kyselin).

Kyselina nikotinová je neúčinnější hypolipidemikem pro zvyšování koncentrací HDL-C, její podávání je indikováno u izolovaného snížení koncentrace HDL-C. Niacin je jediný preparát, u kterého bylo prokázáno konsistentní snížení koncentrací Lp_(a) (Gotto a Pownall, 2003).

Nežádoucí účinky

Asi u třetiny nemocných je ale léčbu niacinem nutno přerušit v důsledku nepříjemných vedlejších účinků, zejména flush, též je popisováno nepříznivé ovlivnění inzulinové senzitivity a glukózové tolerance a potenciální hepatotoxicita. Klinicky nejzávažnější je flush způsobený prostaglandiny D2 a E2, které jsou tvořeny z arachidonové kyseliny, uvolněné v Langerhansových buňkách epidermis po navázání niacinu na receptor GPR109A (Laie, 2008). Výrazné zarudnutí tváří a horní části trupu značně snižovalo compliance k léčbě. Z těchto důvodů byl přechodně zaznamenán ústup od léčby niacinem, ovšem v poslední době, kdy se na trhu objevily přípravky niacinu s řízeným uvolňováním (tzv. SR a ER forma), které tyto obtíže zmírňují, dochází k renesanci užívání niacinu. Nové přípravky se podávají jedenkrát denně na noc v dávce 1000–2000 mg/den, nedávno byl do léčebné praxe také zaveden přípravek niacinu s řízeným uvolňováním, kombinovaný s laropiprantem (antagonistou prostaglandinu D2 při vazbě na receptory DP1), který je charakterizován podstatně menší intenzitou flush, aniž by byly sníženy lipidové účinky niacinu (Gleim, 2007).

Vlastní pozorování

Všechny účinky niacinu na metabolismus lipidů a glycidů nebyly zřejmě dosud nalezeny. V současné době probíhá několik studií s niacinem kombinovaným s laropiprantem: v rozsáhlé studii HPS2-THRIVE (asi 25 000 pacientů, z toho více než 7 000 diabetiků) je zjišťováno, zda je tato léčba je účinná v prevenci akutního IM, iktů či revaskularizačních operací u nemocných s již zjištěným KVO (Olsson, 2010); další informaci jistě přinese i rozbor nedávno ukončené studie AIM-HIGH (Michos, 2012).

Léčbu niacinem jsme na našem pracovišti porovnávali již v r. 1994 s omega mastnými kyselinami, podávání derivátu kyseliny listové (Olbetam, 750 mg/den) v monoterapii vedlo k poklesu TG o 18 % a ke vzestupu HDL-C (+19 %), HDL2 (+33 %) i HDL3 cholesterolu (+14 %), a poklesu aterogenního indexu (celkový cholesterol / HDL cholesterol) o 22 % (Žák, Zeman, 1994).

V naší současné práci jsme se zaměřili na ověření hypolipidemických účinků preparátu Tredaptive[®]. Tento přípravek je kombinací niacinu s prodlouženým uvolňováním a antagonisty DP1 receptorů, laropiprantu, který má bránit rozvoji flush (1000 mg ac. nicotinicum + 20 mg laropiprant). Dále jsme chtěli zhodnotit ovlivnění aktivity antioxidantních enzymů a zjistit toleranci preparátu (v monoterapii). Léčba hyperlipidemií tímto přípravkem byla nedávno v Evropě schválena. Je obvykle podáván v dávce 1000 - 2000 mg/den. V naší studii jsme se rozhodli u nemocných, kteří po dvouměsíční léčbě nedosáhnou dostatečného účinku, zvýšit dávku na 4000 mg denně.

Soubor nemocných a metody. Do sledování bylo zařazeno 11 nemocných se smíšenou hyperlipidemií, kteří byli minimálně 3 měsíce bez hypolipidemické terapie a měli TG přes 2,0 mmol/l, HDL-C pod 1,0 mmol/l (muži) a 1,3 mmol/l (ženy). Nemocní pocházeli z okruhu Lipidové ambulance IV. interní kliniky. Základní klinické charakteristiky nemocných jsou uvedeny v tabulce 1. Ze studie byli vyloučeni nemocní s jaterním, renálním onemocněním, endokrinopatií, nádorovým či duševním onemocněním a nemocní, užívající vitaminové preparáty či přípravky obsahující vícenenasycené mastné kyseliny. Nemocným bylo po dobu 1 měsíce podáván 1 g přípravku Tredaptive[®] a po následující 2 měsíce dávka navýšena na 2 g. Po kontrolním odběru byla dávka - v případě nedostatečného účinku a souhlasu nemocného -

zvýšena až na 4 g denně a další kontrola provedena za 6 měsíců od zahájení terapie. Průměrná dávka v konci sledování byla 2,8 g/den.

Při všech kontrolách byli nemocní dotazováni na přítomnost vedlejších účinků, zváženi a byl změřen krevní tlak. Byly provedeny odběry krve po předchozím 14 hodinovém lačnění a hodnoceny koncentrace plasmatických lipidů a lipoproteinů, včetně $Lp(a)$, homocysteinu (Hcy), index aterogenity (atero index = $(TC-HDL-C)/HDL-C$) a byly stanoveny aktivity enzymů a působků (paraoxonáza /PON/, supeoxidismutáza /SOD/, glutathiooxidáza /GPX/, glutathion /GSH/) a sledována koncentrace konjugovaných dienu /KD/ v LDL.

Výsledky

Výsledky léčby jsou uvedeny v tabulce 2 a 3.

Po 6 měsících od zahájení léčby 8 pacientů pokračuje, 3 léčbu netolerovali (1 osoba – svědění, exantém s nutností 1x hospitalizace pro generalizovaný exantém !/, 2. osoba – svědění celého těla, 3. osoba – zažívací obtíže, intolerance /“těžko od žaludku“, zvracení, regurgitace....)

Terapeutické podávání Tredaptive[®] (v průměrné dávce 2,8 g/den) v monoterapii:

- 1/ vedlo k příznivému ovlivnění lipidového spektra (pokles ateroindexu, TC, TG, Apo B)
- 2/ neovlivnilo signifikantně hladinu HDL-C, avšak došlo k vzestupu Apo A-1
- 3/ působí pozitivně na úroveň lipoperoxidace (pokles KD)
- 4/ další ukazatelé oxidačního stresu (GSH, GPX, SOD, KAT) nebyly ovlivněny
- 5/ Tredaptive[®] je ale hůře tolerován (nežádoucí účinky se vyskytly u 27 % osob)

V našem pozorování jsme zaznamenali příznivější ovlivnění dyslipidémie u pacientů, kteří užívali vyšší dávky preparátu než je doporučené dávkování (2 g/den). Celkově výsledky jsou ale zkreslené malým počtem osob, v současné době zpracováváme výsledky dalších pacientů.

Léčba niacinem je nadějnou cestou v ovlivnění metabolických odchylek u vysoce rizikových pacientů. Předběžné výsledky též ukazují, že k dosažení lepšího efektu bude potřeba podávat vyšší dávky preparátu.

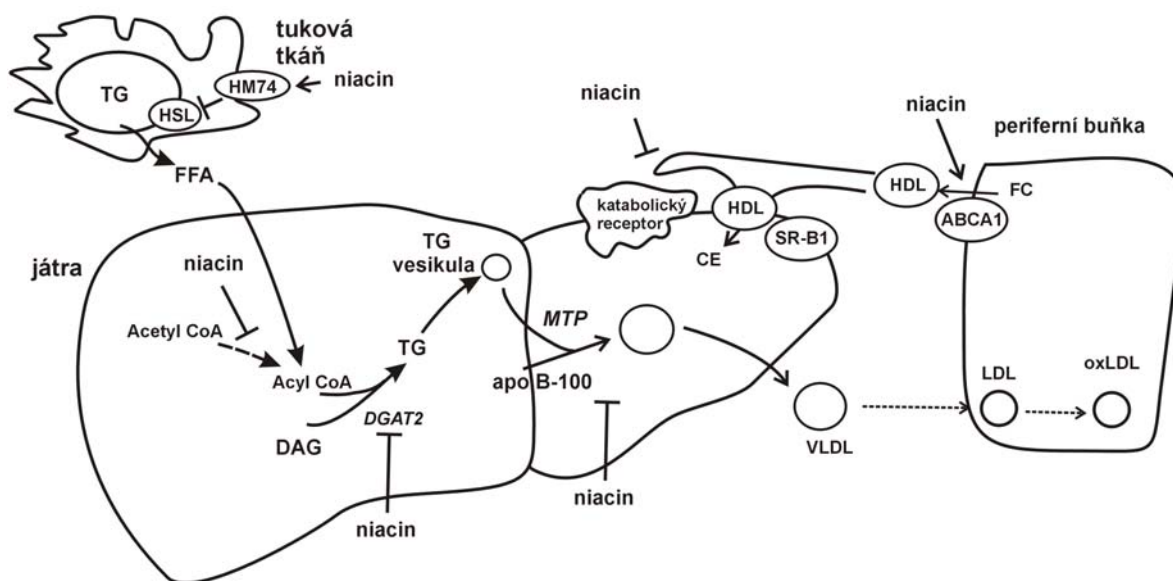
Práce vznikla za podpory výzkumného programu PRVOUK-P25/LF1/2

Literatura

1. Chapman MJ., Ginsberg HN., Amarencu P. et al.: Eur Heart J 2011; 32: 1345–1361.
2. Žák A., Zeman M., Vecka M., Tvrzická E.: Kyselina nikotinová: lék neprávem opomíjený. Cas Lek Ces 2006; 145: 825-831.
3. Gotto AM., Pownall H.: Manual of Lipid Disorders. 3rd ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2003.
4. Soga T., Kamohara M., Takasaki J., et al.: Molecular identification of nicotinic acid receptor. Biochem Biophys Res Commun 2003; 303: 364–369.
5. Tunaru S., Lattig J., Kero J., et al.: Characterization of determinants of ligand binding to the nicotinic acid receptor GPR109 (HM74A/PUMA-G). Mol Pharmacol 2005; 68: 1271–1280.
6. Meyers CD., Kamanna VS., Kashyap ML.: Niacin therapy in atherosclerosis. Curr Opin Lipidol 2004; 15: 659-665.
7. Ballantyne CM., Davidson MH., McKenney J., et al.: Comparison of the safety and efficacy of a combination tablet of niacin extended release and simvastatin vs simvastatin monotherapy in patients with increased non-HDL cholesterol (from the SEACOAST-1 study). Am J Cardiol 2008; 101: 1428–1436.

8. Ganji SH., Tavintharan S., Zhu D., et al.: Niacin noncompetitively inhibits DGAT2 but not DGAT1 activity in HepG2 cells. *J Lipid Res* 2004; 45:1835-1845.
9. Rubic T., Trottmann M., Lorenz RL.: Stimulation of CD36 and the key effector of reverse cholesterol transport ATP-binding cassette A1 in monocytoïd cells by niacin. *Biochem Pharmacol* 2004; 67: 411–419.
10. Lai E., Waters MG., Tata JR., et al.: Effects of a niacin receptor partial agonist, MK-0354, on plasma free fatty acids, lipids, and cutaneous flushing in humans. *J Clin Lipidol* 2008; 2: 375-383.
11. Gleim G., Ballantyne CM., Liu N., et al.: Efficacy and safety profile of co-administered ER niacin/laropirant and simvastatin in dyslipidaemia. *Br J Cardiol* 2009; 16: 90–97.
12. Ganji SH., Qin S., Zhang L., ET AL.: Niacin inhibits vascular oxidative stress, redox-sensitive genes, and monocyte adhesion to human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis* 2009; 202: 68–75.
13. Zhang J., Ge H., Wang CQ., et al.: Inhibitory effect of PPAR on the expression of EMMPRIN in macrophages and foam cells. *Int J Cardiol* 2007; 117: 373–380.
14. OLSSON AG.: Recent advances in preventing cardiovascular disorders by managing lipid levels. *F1000 Med Rep* 2010; 8: 2:66.
15. THE CORONARY DRUG PROJECT RESEARCH GROUP.: Clofibrate and niacin in coronary heart disease. *JAMA* 1975; 231: 360-381.
16. Žák A., Zeman M., Vítková D.: Srovnání účinků omega-3 nenasycených mastných kyselin a Olbetamu (Acipimox) při léčbě hypertriglyceridemie. *Cas Lek Ces* 1994; 133: 755-758.
17. Maccubbin D., Bays HE., Olsson AG., et al.: Lipid-modifying efficacy and tolerability of extended-release niacin/laropirant in patients with primary hypercholesterolaemia or mixed dyslipidaemia. *Int J Clin Pract.* 2008; 62: 1959-1970.
18. Van der Hoorn JW., De Haan W., Berbée JF., et al.: Niacin increases HDL by reducing hepatic expression and plasma levels of cholesteryl ester transfer protein in APOE*3Leiden.CETP mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 2016-2022.
19. Michos ED., Sibley CT., Baer JT., et al.: Niacin and statin combination therapy for atherosclerosis regression and prevention of cardiovascular disease events: reconciling the AIM-HIGH (Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome With Low HDL/High Triglycerides: Impact on Global Health Outcomes) trial with previous surrogate endpoint trials. *J Am Coll Cardiol* 2012; 59: 2058-2064.

Obrázek 1 Mechanismy hypolipidemického účinku niacinu



Niacin inhibuje jaterní diglyceridovou acyltransferasu (DGAT) a syntézu acyl-CoA z acetyl-CoA. Inhibuje vychytávání „celých“ částic HDL2, blokadou katabolického receptoru pro HDL a tím usnadní reverzní transport cholesterolu cestou specifických receptorů SR-B1. Niacin se váže na specifický membránový receptor adipocytů (HM74), který inaktivuje hormonálně-senzitivní lipasu. Potlačení lipolýzy tukové tkáně zpomalí tok volných mastných kyselin (FFA) do hepatocytu. Extrahypolipidemické účinky zahrnují aktivaci ABCA1 transportéru a první krok v aktivaci reverzního transportu cholesterolu. Niacin má také antioxidační účinky a blokuje transkripci genů regulovaných nukleárním faktorem κ B.

Tabulka 1 Charakteristika souboru: N= 11

Muži / ženy	8 / 3
Věk (roky)	49,5 (37 – 64)
Kuřák (Ano / Ne)	2 / 9
Hypertenze (A / N)	5 / 6
DM (A / N)	3 / 8

Tabulka 2 Výsledky lipidy

Parametr	Vyš. 1 (medián; (dolní – horní kvartil)	Vyš. 2	Vyš. 3	P (V1 vs V3) (Wilcoxonův párový test)
TC (mmol/l)	6,71 (4,99 - 8,25)	5,95 (4,94 - 6,68)	4,94 (4,76 - 5,22)	P < 0,05
TAG (mmol/l)	5,73 (3,70 - 7,65)	3,32 (2,40 - 11,75)	2,36 (2,24 - 5,01)	P < 0,05
HDL-C (mmol/l)	1,03 (0,83 - 1,24)	1,10 (0,85 - 1,22)	1,00 (0,94 - 1,18)	NS
LDL-C (mmol/l)	3,77 (3,18 - 5,16)	3,42 (3,08 - 3,78)	2,93 (2,86 - 3,39)	NS
Atero index	4,80 (4,30 - 4,90)	4,20 (4,00 - 4,35)	3,90 (3,60 - 4,00)	P < 0,05
Apo A-1 (g/l)	1,20 (1,16 - 1,38)	1,41 (1,29 - 1,63)	1,62 (1,45 - 1,78)	NS
Apo B (g/l)	1,28 (0,99 - 1,61)	1,19 * (1,02 - 1,36)	1,13 ** (0,95 - 1,36)	*P < 0,05 ** NS

Tabulka 3 Výsledky enzymy

Parametr	Vyš. 1 (medián; (dolní - horní kvartil)	Vyš. 2	Vyš. 3	P (vyš. 1 vs vyš. 3) (Wilcoxonův párový test)
PON (U/ml)	191,13 (166,95-214,42)	176,21 (151,88-215,19)	162,14 (134,54-204,30)	P < 0,05
KAT (kU/g hgb)	223 (208-247)	199 (197-217)		NS
KD (umol/l)	105,71 (92,85-118,44)	59,57 54,95-97,74)	69,36 (61,04-88,02)	NS

CHRONICKÝ ZÁNĚT V PATOGENEZI METABOLICKÉHO SYNDROMU: VLIV IMUNITNÍHO SYSTÉMU A DESATURÁZ MASTNÝCH KYSELIN

A. Žák, A. Slabý

IV. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

Úvod

V posledním desetiletí byl v České republice i v jiných evropských zemích zaznamenán pokles kardiovaskulární úmrtnosti, přesto nemoci srdce a cév stále zaujímají první místo mezi příčinami smrti v naší populaci. Na trvajícím nepříznivém stavu má významný podíl rostoucí prevalence metabolického syndromu (MS), který je spojen nejen se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem, ale též s vyšším výskytem dalších onemocnění hromadného výskytu, zejména diabetes mellitus 2. typu, některých nádorů a neuropsychických poruch. Metabolický syndrom se proto dostal do popředí zájmu výzkumných laboratoří na celém světě. Podařilo se již objasnit velký počet etiologických faktorů a patogenních mechanismů s komplikovanými vzájemnými vztahy. V tomto sdělení bude věnována zvláštní pozornost dvěma faktorům, které se v rámci MS podílejí na vzniku a rozvoji chronického zánětu, a to aktivaci imunitního systému a funkčním polymorfismům desaturáz mastných kyselin.

Inzulínová rezistence, obezita a zánět

V etiopatogenezi MS se uplatňuje interakce genetických faktorů s různými vlivy zevního prostředí, z nichž základní význam má kombinace nadměrného energetického příjmu s nízkou intenzitou fyzické aktivity. Skladbu stravy, jaká je u nás dosud běžná, charakterizuje vysoký obsah nasycených tuků a rafinovaných cukrů, na druhé straně nedostatek vícenenasycených mastných kyselin (PUFA, polyunsaturated fatty acid). Nutriční faktory mají důležitou úlohu při vzniku a rozvoji systémové inzulínové rezistence (1) a aterogenní dyslipidémie (2). Zvýšený přívod nasycených mastných kyselin do buněk vyvolává dysfunkci mitochondrií a poruchu inzulínové signální kaskády; ve všech orgánech je inzulínová rezistence spojena s chronickým zánětlivým stavem.

Experimentální práce z posledních let prokázaly, že systémový zánět, který představuje prognosticky závažnou komponentu MS, má kauzální souvislost s lokálním zánětem tukové tkáně. Výzkum v této oblasti rozšířil dosavadní morfologické a patofyziologické znalosti. Bylo zjištěno, že pouze třetinu buněk až polovinu přítomných v tukové tkáni tvoří adipocyty, kdežto zbytek připadá na progenitorové buňky (preadipocyty), buňky stromatu, endotelie a rezidentní makrofágy (ATM, adipose tissue macrophages). V důsledku pozitivní energetické bilance se zvětšuje objem viscerálního i podkožního tuku.

Expanze tukové tkáně bez proporcionálního rozvoje kapilární sítě může vést k poruše mikrocirkulace a relativní hypoxii (3). V tukové tkáni obézních jedinců vznikají drobná nekrotická ložiska. Zvýšená hladina transkripčního faktoru indukovatelného hypoxií (HIF-1 α) spolu se stresem endoplazmatického retikula představují důležité faktory, které indukují individuálně různý stupeň zánětlivé reakce (4). Hypertroffické adipocyty přeplněné tukovými kapkami již nejsou schopny zvládat zvýšenou nabídku mastných kyselin (FA, fatty acid) uvolňovaných z lipoproteinových částic a uskladňovat energii ve formě intracelulárních triglyceridů; dozrávání nových adipocytů je blokováno (5). Tato situace spolu s nedostatečnou supresí lipolýzy má za následek zvýšený tok neesterifikovaných mastných kyselin (NEFA, non-esterified FA) z tukové tkáně do cirkulace a ektopickou akumulaci tuku v játrech, kosterních svalech, pankreatu a dalších orgánech, se všemi negativními důsledky lipotoxicity a oxidačního stresu (6).

Dysfunkční stav tukové tkáně se projevuje nepoměrem v produkci biologicky aktivních peptidů, jejichž zdrojem jsou adipocyty, makrofágy a multipotentní kmenové mesenchymové buňky (7). Ze všech těchto buněk jsou ve zvýšené míře uvolňovány prozánětlivé adipocytokiny (např. interleukiny IL-6 a IL-1 β , faktor TNF- α) a chemokiny (zejména protein atrahující monocyty - MCP-1). V adipocytech se tvoří nadměrné množství některých hormonů s prozánětlivými účinky (leptin, rezistin), na druhé straně je potlačena sekrece adiponektinu a dalších látek, které mírní zánětlivý stav. Nově bylo zjištěno, že v tukové tkáni dochází též k nadprodukcí angiotensinogenu a k aktivaci lokálního systému renin-angiotensin (8). Expres prozánětlivých bioaktivních peptidů ve viscerálním tuku se několikanásobně zvyšuje postprandiálně, a to v nestejných časových intervalech (9). Předpokládá se, že obezita má v patogenezi MS stejnou závažnost jako inzulínová rezistence; u konkrétních jedinců se různou měrou podílí na kardiovaskulárním riziku (10).

Aktivace imunitního systému

V současné době přibývá důkazů, že na chronickém zánětu tukové tkáně má významný podíl aktivace vrozeného i adaptivního imunitního systému. Přítomnost receptorů vrozeného imunitního systému (pattern recognition receptors, PRR) byla prokázána ve všech buňkách tukové tkáně. Nejvíce jsou zastoupeny receptory TLR (toll-like receptory), a to TLR4 a TLR2 (11). Receptory TLR4 reagují nejen na přítomnost lipopolysacharidy (LPS), ale též nasycených FA. Bylo např. zjištěno, že u hlodavců dochází k aktivaci těchto receptorů již krátce po požití stravy s vysokým obsahem nasycených tuků (12). Aktivované receptory TLR spouštějí různé nitrobuněčné signální dráhy a stimulují sekreci prozánětlivých cytokinů, zejména IL-6, IL-1 β a TNF- α . Receptory TLR4 se vyskytují též v hypothalamu, kde indukují systémovou zánětlivou reakci (13). Rovněž jiné receptory vrozeného imunitního systému, např. ze skupiny proteinů Nod (nucleotide-binding oligomerization domain-containing proteins), reagují na nutriční signály a zvyšují sekreci prozánětlivých cytokinů (14).

V rámci aktivace imunitního systému dochází k masivní infiltraci tukové tkáně imunokompetentními buňkami. Nejprve jsou atrahovány CD8⁺ efektorové lymfocyty T a současně klesá počet CD4⁺ pomocných a regulačních T lymfocytů (15). Na zahájení zánětlivé reakce se podílejí též dendritické buňky, nejdůležitější antigen prezentující buňky vrozeného imunitního systému. V druhé fázi následuje přestup makrofágů typu M1 z cirkulace a makrofágy již dříve přítomné v tukové tkáni (ATM) se přeměňují z typu M2 na typ M1 (16). Infiltrace makrofágy M1 je podmíněna zvýšenou tvorbou chemokinů, chemokinových receptorů a různých adhezních molekul, např. PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand); významně se uplatňuje též osteopontin. Všeobecně se předpokládá, že největší vliv na příliv makrofágů do tukové tkáně má shora zmíněný protein atrahující monocyty (17); někteří autoři však klíčový význam tohoto chemokinu zpochybňují (18).

Nahromaděné makrofágy typu M1 neboli klasicky aktivované makrofágy produkují po stimulaci interferonem- γ (INF- γ) anebo LPS velké množství prozánětlivých cytokinů (např. TNF- α , IL-6, IL-1) a rovněž reaktivních kyslíkových sloučenin (ROS), čímž zvyšují oxidační stres. V nedávno publikované studii bylo identifikováno 34 nových prozánětlivých proteinů, z nichž většina je fyziologicky exprimována v makrofázích typu M1 (19). Naproti tomu makrofágy typu M2 neboli alternativně aktivované makrofágy secernují po aktivaci interleukinem IL-4 a IL-13 protizánětlivé faktory, např. interleukin IL-10, TGF- β a arginázu. Některé nové studie však prokázaly, že také makrofágy typu M2 mohou u obézních lidí produkovat prozánětlivé cytokiny (20).

Jak bylo zjištěno před několika lety, hormon leptin tvořený v adipocytech má nejen významnou úlohu při řízení energetické rovnováhy organismu, ale uplatňuje se též v imunitních reakcích (21). Všechny buňky vrozeného imunitního systému exprimují na svém povrchu receptory pro leptin. Leptin indukuje produkci prozánětlivých cytokinů a ROS

v monocytech/makrofázích a prodlužuje jejich přežívání. Obézní myši s homozygotní mutací receptorů pro leptin vykazují dysfunkci imunokompetentních buněk. Naproti tomu adiponektin aktivitu imunitního systému snižuje; jeho vysokomolekulární oligomery inhibují signalizaci receptorů TLR4, v makrofázích blokuje tvorbu chemokinových ligandů pro receptor CXC3 a snižují migraci lymfocytů T (22). Obezita je spojena se zvýšenou expresí 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy typu 1 (11 β -HSD1), která zprostředkuje konverzi kortisonu na kortisol. Zvýšené koncentrace kortisolu jsou prokazatelné pouze lokálně v tukové tkáni a portální krvi a přispívají k metabolickým anormalitám u obézních. Glukokortikoidy v tukové tkáni mohou podporovat diferenciaci a přežívání protizánětlivých makrofágů typu M2. Je zajímavé, že systémová aplikace glukokortikoidů má na buňky imunitního systému ambivalentní účinek; v závislosti na dávce a načasování mohou glukokortikoidy snižovat nebo naopak zvyšovat imunitní odpovědi v makrofázích a adipocytech (23).

Aktivované imunitní mechanismy v tukové tkáni pravděpodobně představují jeden ze spojovacích článků mezi zánětem na lokální a systémové úrovni. Bylo zjištěno, že celá třetina IL-6 přítomného při MS v cirkulaci má původ ve viscerálním a podkožním tuku (24). Na základě nových poznatků o funkci a způsobu aktivace receptorů detekujících zevní škodliviny (PRR) lze tukovou tkáň považovat za samostatný orgán imunitního systému (25). Ve farmakologickém výzkumu se začínají zkoušet různé metody ke snížení aktivity imunitního systému v tukové tkáni, např. ovlivnění makrofágů M1 blokadou chemokinových receptorů CCR2 (perorální aplikace RO5234444) nebo blokáda exprese receptorů TLR4 malými interferujícími ribonukleinovými kyselinami (shRNAi).

Význam vícenenasycených mastných kyseliny řady n-3

Z klinického hlediska jsou významné protizánětlivé a imunosupresivní účinky PUFA řady n-3. U pacientů s MS bylo opakovaně prokázáno, že podávání terapeutických dávek kyseliny eikosapentaenové (EPA, 20:5n-3) a dokosahexaenové (DHA, 22:6n-3) zlepšuje inzulínovou senzitivitu, upravuje aterogenní dyslipidémii a mírní chronický zánět.

Inkorporace EPA a DHA do fosfolipidů buněčných membrán snižuje v nich podíl vícenenasycených kyselin řady n-6, zejména kyseliny arachidonové (DHA, 20:4n-6), čímž klesá tvorba silných mediátorů zánětu, prostaglandinů 2. série a leukotrienů 4. série.

Výsledky četných experimentálních studií svědčí o příznivém vlivu n-3 PUFA na tukovou tkáň (26). EPA a DHA zvyšují inzulínovou senzitivitu adipocytů, obnovují jejich schopnost přijímat NEFA, omezují lipolýzu a zvyšují sekreci adiponektinu. Účinky n-3 PUFA na funkci adipocytů lze z velké části vysvětlit stimulací jaderných receptorů PPAR α a PPAR δ ; stimulace receptorů PPAR γ podporuje diferenciaci adipocytů (27).

Nově bylo zjištěno, že n-3 PUFA tlumí v tukové tkáni zvýšenou aktivitu imunitních mechanismů. Kyseliny EPA a DHA brání infiltraci tukové tkáně makrofágy u zvířat krmených potravou s vysokým obsahem nasycených tuků (28). Obě kyseliny snižují v buňkách tukové tkáně aktivitu receptorů vrozeného imunitního systému TLR4 a TLR2, a tím omezují sekreci prozánětlivých adipocytokinů. Z kvantitativního hlediska je zvláště významný účinek EPA a jejího prekursoru kyseliny stearidonové (18:4n-3) na kmenové buňky tukové tkáně, které se vyznačují podstatně vyšší sekrecí prozánětlivých cytokinů ve srovnání s adipocyty a makrofágy; EPA v těchto buňkách snižuje sekreci IL-6 inhibicí receptorů TLR2 (29). Schopnost tlumit aktivované imunitní mechanismy mají též deriváty kyselin EPA a DHA, endogenní lipidové mediátory resolvin E1 a protectin D1, které vznikají v neutrofilních leukocytech a byly již připraveny synteticky (30). Mechanismus protizánětlivých účinků n-3 PUFA nebyl dosud podrobně objasněn na molekulární úrovni. EPA a zejména DHA antagonizují v receptorech TLR stimulační účinek nasycených FA; brání translokaci TLR v buněčných membránách a inhibují NADPH oxidázu. Vazba n-3 PUFA

na receptory spřažené s G-proteiny (GPR 120), které jsou ve velkém množství exprimovány v tukové tkáni a působí současně jako senzory FA, blokuje nitrobuněčné signální dráhy nukleárního faktoru NFκB, inhibuje AMP-aktivovanou proteinovou kinázu (AMPK) a zlepšuje inzulinovou signalizaci (31). Předpokládají se i další mechanismy, jimiž n-3 PUFA zánět a příznivě ovlivňují téměř všechny komponenty MS.

Desaturázy mastných kyselin

V posledních několika letech přibýlo důkazů, že chronický zánět provázející MS ovlivňuje aktivita enzymů, které se podílejí na přeměně FA. V tomto směru připadá důležitá úloha desaturázám; tyto enzymy spolu s elongázami transformují výchozí FA na více nenasycené, s delšími uhlovodíkovými řetězci. Inzerce dvojných vazeb má za následek podstatné změny fyzikálních a biologických vlastností buněčných struktur. Desaturázy mastných kyselin se vyskytují u většiny živočichů a rostlin, též u některých bakterií (32). Existují dvě evolučně nepříbuzné skupiny, a to desaturázy vázané na buněčné membrány a desaturázy solubilní. Vesměs jde o metaloproteiny se dvěma atomy železa v aktivním místě, což vysvětluje velký rozsah katalytických aktivit.

U člověka jsou exprimovány tři desaturázy mastných kyselin, a to především v játrech, ale též ve svalstvu, myokardu, plicích, nervovém systému a tukové tkáni; jsou to delta-5 desaturáza (D5D, FADS1), delta-6 desaturáza (D6D, FADS2) a delta-9 desaturáza (D9D) neboli stearyl-CoA-desaturáza 1 (SCD1). Geny pro tyto desaturázy jsou lokalizovány na 11. chromosomu (11q12-13.1). Delta-9 desaturáza je zodpovědná za přeměnu SFA, stearové (SA, 18:0) a palmitové (PA, 16:0) na kyseliny mononenasyčené, olejovou (OA, 18:1n-9) a palmitolejovou (POA, 16:1n-7). Aktivitě D9D byla dosud věnována poměrně malá pozornost, kdežto hlavní zájem se soustřeďuje na desaturázy delta-6 a delta-5. V řetězci PUFA řady n-6 působí D6D přeměnu kyseliny linolové (LA, 18:2n-6) na γ -linolenovou (GLA, 18:3n-6), v řadě n-3 mění kyselinu α -linolenovou (ALA, 18:3n-3) na stearidonovou (18:4n-3). Působením D5D vzniká v řadě n-6 kyselina arachidonová (AA, 20:4n-6) a v řadě n-3 kyselina eikosapentaenová (EPA, 20:5n-3).

Geneticky podmíněnou aktivitu D6D a D5D modifikují různé zevní vlivy - nutriční, hormonální i fyzikální. Z nutričních vlivů, které lze ovlivnit v rámci nefarmakologické intervence MS, je významný inhibiční účinek vysokého přívodu nasycených FA, jakož i karence bílkovin a některých vitaminů. Obě desaturázy jsou aktivovány inzulinem, D5D též zvýšeným obsahem LA ve stravě.

V současné době jsou předmětem experimentálního i klinického výzkumu funkční polymorfismy genů *FADS1/FADS2*. Několik studií prokázalo významné asociace mezi některými polymorfismy a zastoupením FA ve fosfolipidech séra a erytrocytárních membrán. Vyšetřením velkého populačního vzorku mužů a žen bylo zjištěno, že nositelé minoritních alel jedenácti jednonukleotidových polymorfismů (SNP) a příslušných haplotypů mají nižší aktivitu D6D a D5D, což se projevuje zvýšenou koncentrací substrátů - kyseliny linolové, α -linolenové, dihomogamma-linolenové (DHGLA, 20:3n-6), a sníženou koncentrací produktů desaturace - kyseliny γ -linolenové, arachidonové a EPA v sérových fosfolipidech. Nejvýznamnější asociace s polymorfismy a největší podíl geneticky vysvětlitelné variability vykazovala kyselina arachidonová. Minoritní alely byly spojeny s nižším výskytem alergické rinitidy a atopického ekzému, neměly však vliv na celkové ani specifické koncentrace imunoglobulinu IgE v plazmě (33). Vliv stejných polymorfismů D6D a D5D na zastoupení FA v sérových fosfolipidech byl potvrzen obdobně koncipovanou studií u souboru mužů sledovaných v rámci jiného výzkumného projektu. Minoritní alely vykazovaly významné asociace s nižšími koncentracemi kyseliny arachidonové a vyšším zastoupením kyseliny linolové, α -linolenové a eikosadienové (34).

Výzkum D5D a D6D probíhá též v rámci evropské kolaborativní studie u početného souboru mladistvých, chlapců a děvčat ve věku 12,5 až 17,5 let, s výrazně odlišnými stravovacími zvyklostmi ve srovnání s dospělou populací. Aktivita D5D byla hodnocena poměrem kyseliny arachidonové (20:4n-6) ke kyselině dihomo- γ -linolenové (20:3n-6), aktivita D6D poměrem kyseliny dihomo- γ -linolenové ke kyselině linolové (18:2n-6). Minoritní alely většiny sledovaných polymorfismů byly významně asociovány s nižší aktivitou D5D, jeden polymorfismus s výrazně vyšší aktivitou D6D. Autoři této studie předpokládají, že u mladistvých je fenotyp ovlivněn genetickými faktory relativně více než faktory zevními (35). V návaznosti na uvedené výsledky byl v souboru mladistvých dotazníkovou metodou vyšetřen příjem kyseliny linolové a α -linolenové ve stravě a sledován jeho vliv na aktivitu D5D. Ukázalo se, že minoritní alela jednoho reprezentativního polymorfismu byla asociována s nižší koncentrací EPA v sérových fosfolipidech, ale pouze v podskupině s vysokým dietním příjmem kyseliny α -linolenové. V téže podskupině byla zjištěna významná asociace této minoritní alely s nižšími koncentracemi celkového cholesterolu a non-HDL cholesterolu v séru. Vztahy mezi genetickými a nutričními vlivy jsou zřejmě složitější, než se dosud podařilo objasnit. Kyselina linolová a α -linolenová pravděpodobně kompetují o D5D (36).

Význam genotypů D5D a D6D pro predikci kardiovaskulárního rizika se pokusila prokázat klinická studie, do níž byli zařazeni pacienti vyšetření koronární angiografií. Ve skupině se závažnou stenózou jedné nebo několika tepen (> 50% zúžení) byla zjištěna vyšší aktivita obou desaturáz, stanovená globálně jako poměr kyseliny arachidonové ke kyselině linolové v membránách erytrocytů. Mnohotná regresní analýza potvrdila, že vyšší hodnoty tohoto poměru (horní tercil) představují nezávislý rizikový faktor pro ischemickou chorobu srdeční. Aktivita desaturáz byla asociována s polymorfismy genů *FADS1/FADS2* (rizikovými alelami a haplotypy), které podmiňovaly prozánětlivé spektrum PUFA. Se zvýšenou aktivitou desaturáz pozitivně korelovaly hodnoty C-reaktivního proteinu (37).

Polymorfismy genů kódujících D5D a D6D ovlivňují syntézu PUFA a jejich koncentraci ve většině tkání (38). Vzhledem k transgeneračnímu vlivu genetické variability desaturáz na riziko kardiovaskulárních onemocnění a dalších závažných chorob jsou cenné výzkumné projekty, které se zaměřují na konkrétní populační skupiny. V nedávno publikované studii byly porovnány funkční polymorfismy desaturáz delta-5 a delta-6 u mladých dospělých osob bělošského a asijského původu. Oba soubory se vyznačovaly obdobnou genetickou variabilitou desaturáz, ale byly zjištěny některé zajímavé rozdíly. Alela C jednoho reprezentativního polymorfismu spojená s nižší aktivitou desaturáz (nižším poměrem kyseliny arachidonové ke kyselině linolové) byla u mužů asijského původu minoritní, kdežto u bělošské skupiny majoritní. Asijská skupina byla tedy znevýhodněna vzhledem ke kardiovaskulárnímu riziku spojenému s geneticky podmíněnou variabilitou desaturázové aktivity (39). V jiné studii byly vyšetřeny polymorfismy genů pro D5D a D6D u pacientů s ischemickou chorobou srdeční a u zdravých kontrolních osob v Jižní Koreji. U zvoleného polymorfismu (jiného než v předchozí studii) se minoritní alela spojená s nižší desaturázovou aktivitou vyskytovala významně méně často ve skupině pacientů než u zdravých osob. Nositelé této alely měli nižší zastoupení kyseliny arachidonové v sérových fosfolipidech a větší částice LDL (40). Autoři ze Spojených států amerických se zaměřili na geograficky izolovanou populaci evropského původu s neměnnými stravovacími zvyklostmi a potvrdili, že variabilita D5D také u ní ovlivňuje intenzitu konverze výchozích FA na potenciálně prozánětlivé PUFA řady n-6 (41).

Pro prevenci a léčbu MS je důležité osvětlit interakce mezi genetickou variabilitou desaturáz a příjmem PUFA ve stravě, popřípadě jejich zvýšeným příjmem v rámci terapie. V tomto směru jsou dosud k dispozici pouze ojedinělé poznatky, které nezapadají do celkového obrazu. V primárně preventivní studii probíhající v Nizozemsku bylo zjištěno,

že při vysokém příjmu n-3 PUFA (> 0,51 % celkového energetického příjmu) jsou minoritní alely tří polymorfismů spojeny s nižšími hodnotami celkového a non-HDL cholesterolu, při vysokém příjmu n-6 PUFA (> 5,3 % energetického příjmu) s vyšší plazmatickou koncentrací HDL-C (42). Obdobný cíl měla studie provedená na souboru respondentů ze švédské populace. Minoritní alela zvoleného polymorfismu byla spojena s nižšími koncentracemi LDL-C pouze u jedinců s nízkým příjmem n-3 PUFA; významné interakce byly prokázány mezi poměrem kyseliny α -linolenové ke kyselině linolové ve stravě a plazmatickou koncentrací HDL-C (43). Vliv příjmu n-3 PUFA na rozdíly v plazmatické koncentraci LDL-C, HDL-C a triglyceridů, které souvisejí s různou expresí D5D, byl zřejmý při srovnání japonské a mongolské populace; oba soubory byly geneticky příbuzné, ale podstatně se lišily konzumací ryb (44). Statisticky významné asociace některých polymorfismů s lipidovým spektrem byly zjištěny v celogenomových studiích provedených u velkého počtu sledovaných osob (45). Výsledky celogenomového sekvenování naznačují, že homozygotní zastoupení určitých alel přispívá k celkovému kardiovaskulárnímu riziku (46). Podle názoru některých autorů by vyšetření polymorfismů *FADS1/FADS2* mělo být součástí experimentálních a intervenčních studií zaměřených na biologické účinky vícenenasycených mastných kyselin (47). V budoucnu by aktivita desaturáz FA mohla být vodítkem při individuálním dávkování n-3 PUFA v rámci prevence a léčby MS.

Závěr

Nové poznatky o chronickém zánětu, který provází MS, mají potenciální význam pro nutriční prevenci a farmakologickou léčbu. V tomto směru lze očekávat přínos od výzkumu patofyziologických mechanismů souvisejících s aktivací imunitního systému. Studium genetické variability desaturáz mastných kyselin odhaluje důležité interakce s nutričními faktory. Obě tyto dílčí oblasti výzkumu bude třeba uvést do vztahu k již známým patogenním faktorům zánětu. Ukazuje se, že intenzita chronického zánětu tukové tkáně spolurozhoduje nejen o stupni kardiovaskulárního rizika spojeného s obezitou, ale je i spojovacím článkem mezi obezitou a metabolickými odchylkami jako je inzulinová rezistence, poruchy sekrece inzulinu a dyslipidémie.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NT/13199.

Literatura

1. Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest.* 2008; 118: 2992-3002.
2. Žák A, Slabý A. Aterogenní dyslipidémie a metabolický syndrom: Patofyziologické mechanismy. *Čas Lék čes.* 2008; 147: 459-470.
3. Rutkowski JM, Davis KE, Scherer PE. Mechanisms of obesity and related pathologies: The macro- and microcirculation of adipose tissue. *FEBS J.* 2009; 276: 5738-5746.
4. Ye J, Gao Z, Yin J, et al. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 293: E1118-E1128.
5. Avramoglu RK, Basciano H, Adeli K. Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistant states. *Clin Chim Acta.* 2006; 368: 1-19.
6. Boden G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2011; 18: 139-143.
7. Fischer-Posovszky P, Wabitsch M, Hochberg Z. Endocrinology of adipose tissue – An update. *Horm Metab Res.* 2007; 39: 314-321.
8. Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. The adipose tissue renin-angiotensin system and metabolic disorders: a review of molecular mechanisms. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2012; 47: 379-390.

9. Einstein FH, Atzmon G, Yang XM, et al. Differential responses of visceral and subcutaneous fat depots to nutrients. *Diabetes*. 2005; 54: 672-678.
10. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*. 2006; 17: 4-12.
11. Bes-Houtmann S, Roche R, Hoareau L, et al. Presence of functional TLR2 and TLR4 on human adipocytes. *Histochem Cell Biol*. 2007; 127: 131-137.
12. Magne J, Mariotti F, Fischer R, et al. Early postprandial low-grade inflammation after high-fat meal in healthy rats: possible involvement of visceral adipose tissue. *J Nutr Biochem*. 2010; 21: 550-555.
13. Milanski M, Degasperi G, Coope A, et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: Implications for the pathogenesis of obesity. *J Neurosci*. 2009; 29: 359-370.
14. Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med*. 2011; 17: 179-188.
15. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, et al. CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*. 2009; 15: 914-920.
16. Zeyda M, Stulnig TM. Adipose tissue macrophages. *Immunol Lett*. 2007; 112: 61-67.
17. Ito A, Suganami T, Yamauchi A, et al. Role of CC chemokine receptor 2 in bone marrow cells in the recruitment of macrophages into obese adipose tissue. *J Biol Chem*. 2008; 283: 35715-35723.
18. Inouye KE, Shi H, Howard JK, et al. Absence of CC chemokine ligand 2 does not limit obesity-associated infiltration of macrophages into adipose tissue. *Diabetes*. 2007; 56: 2242-2250.
19. Wyllie DH, Sogaard KC, Holland K, et al. Identification of 34 novel proinflammatory proteins in a genome-wide macrophage functional screen. *PLoS One*. 2012; 7: e42388. Epub 2012 Jul31.
20. Zeyda M, Farmer D, Todoric J, et al. Human adipose tissue macrophages are of an anti-inflammatory phenotype but capable of excessive pro-inflammatory mediator production. *Int J Obes (Lond)*. 2007; 31: 1420-1428.
21. Matarese G, Moschos S, Mantzoros CS. Leptin in immunology. *J Immunol*. 2005; 174: 3137-3142.
22. Okamoto Y, Folco EJ, Minami M, et al. Adiponectin inhibits the production of CXC receptor 3 chemokine ligands in macrophages and reduces T-lymphocyte recruitment in atherosclerosis. *Circ Res*. 2008; 102: 218-225.
23. Ehrchen J, Steinmuller S, Barczyk K, et al. Glucocorticoids induce differentiation of a specifically activated, anti-inflammatory subtype of human monocytes. *Blood*. 2007; 109: 1265-1274.
24. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83: 847-850.
25. Lucas S, Verwaerde C, Wolowczuk I. Is the adipose tissue the key road to inflammation? *Immunology Immunogenetics Insights*. 2009; 1: 3-14.
26. Puglisi MJ, Hasty AH, Saraswathi V. The role of adipose tissue in mediating the beneficial effects of dietary fish oil. *J Nutr Biochem*. 2011; 22: 101-108.
27. Flachs P, Rossmeisl M, Bryhn M, et al. Cellular and molecular effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on adipose tissue biology and metabolism. *Clin Sci (Lond)*. 2009; 116: 1-16.
28. Todoric J, Loffler M, Huber J, et al. Adipose tissue inflammation induced by high-fat diet in obese diabetic mice is prevented by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Diabetologia*. 2006; 49: 2109-2119.
29. Hsueh HW, Zhou Z, Whelan J, et al. Stearidonic and eicosapentaenoic acids inhibit interleukin-6 expression in ob/ob mouse adipose stem cells via Toll-like receptor-2-mediated pathways. *J Nutr*. 2011; 141: 1260-1266.

30. Schwab JM, Chiang N, Arita M, et al. Resolvin E1 and protectin D1 activate inflammation-resolution programmes. *Nature*. 2007; 447: 869-874.
31. Oh DY, Talukdar S, Bae EJ, et al. GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*. 2010; 142: 687-698.
32. Hashimoto K, Yoshizawa AC, Saito K, et al. The repertoire of desaturases for unsaturated fatty acid synthesis in 397 genomes. *Genome Inform*. 2006; 17: 173-183.
33. Schaeffer L, Gohlke H, Müller M, et al. Common genetic variants of the *FADS1 FADS2* gene cluster and their reconstructed haplotypes are associated with the fatty acid composition in phospholipids. *Hum Mol Genet*. 2006; 15: 1745-1756.
34. Malerba G, Schaeffer L, Xumerle L, et al. SNPs of the *FADS* gene cluster are associated with polyunsaturated fatty acids in a cohort of patients with cardiovascular disease. *Lipids*. 2008; 43: 289-299.
35. Bokor S, Dumont J, Spinneker A, et al. Single nucleotide polymorphisms in the *FADS* gene cluster are associated with delta-5 and delta-6 desaturase activities estimated by serum fatty acid ratios. *J Lipid Res*. 2010; 51: 2325-2333.
36. Dumont J, Huybrechts I, Spinneker A, et al. *FADS1* genetic variability interacts with dietary α -linolenic acid intake to affect serum non-HDL-cholesterol concentrations in European adolescents. *J Nutr*. 2011; 141: 1247-1253.
37. Martinelli N, Girelli D, Malerba G, et al. *FADS* genotypes and desaturase activity estimated by the ratio of arachidonic acid to linoleic acid are associated with inflammation and coronary artery disease. *Am J Clin Nutr*. 2008; 88: 941-949.
38. Lattka E, Illig T, Koletzko B, et al. Genetic variants of the *FADS1 FADS2* gene cluster as related to essential fatty acid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2010; 21: 64-69.
39. Merino DM, Johnston H, Clarke S, et al. Polymorphisms in *FADS1* and *FADS2* alter desaturase activity in young Caucasian and Asian adults. *Mol Genet Metab*. 2011; 103: 171-178.
40. Kwak JH, Paik JK, Kim OY, et al. *FADS* gene polymorphisms in Koreans: association with ω 6 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids, lipid peroxides, and coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2011; 214: 94-100.
41. Mathias RA, Vergara C, Gao L, et al. *FADS* genetic variants and omega-6 polyunsaturated fatty acid metabolism in a homogeneous island population. *J Lipid Res*. 2010; 51: 2766-2774.
42. Lu Y, Feskens EJ, Dollé ME, et al. Dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid intake interacts with *FADS1* genetic variation to affect total and HDL-cholesterol concentrations in the Doetinchem Cohort Study. *Am J Clin Nutr*. 2010; 92: 258-265.
43. Hellstrand S, Sonestedt E, Ericson U, et al. Intake levels of dietary long-chain PUFAs modify the association between genetic variation in *FADS* and LDL-C. *J Lipid Res*. 2012; 53: 1183-1189.
44. Nakayama K, Bayasgalan T, Tazoe F, et al. A single nucleotide polymorphism in the *FADS1/FADS2* gene is associated with plasma lipid profiles in two genetically similar Asian ethnic groups with distinctive differences in lifestyle. *Hum Genet*. 2010; 127: 685-690.
45. Kathiresan S, Willer CJ, Peloso GM, et al. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet*. 2009; 41: 56-65.
46. Tanaka T, Shen J, Abecasis GR, et al. Genome-wide association study of plasma polyunsaturated fatty acids in the InCHIANTI Study. *PLoS Genet*. 2009; 5: e1000338.
47. Glaser C, Heinrich J, Koletzko B. Role of *FADS1* and *FADS2* polymorphisms in polyunsaturated fatty acid metabolism. *Metabolism*. 2010; 59: 993-999.

MASTNÉ KYSELINY A DEPRESIVNÍ PORUCHA**M. Zeman¹, R. Jiráček², T. Vařeka¹, J. Macášek¹, M. Vecka¹, E. Tvrzická¹, A. Žák¹**¹*IV. Interní klinika I. LF UK a VFN Praha, ²Psychiatrická klinika I. LF UK a VFN Praha***Úvod**

Výskyt deprese na celém světě stoupá. V USA asi 16 % celé populace je během svého života postižena depresivní epizodou (Kessler et al., 2003). Vysoká prevalence deprese 9 % je popisována také ve Finsku (Pirkola et al., 2005), podobné nálezy jsou zjišťovány i v České republice, kde byla v r. 2010 prevalence afektivních poruch asi 9,4 % (Statistická ročenka 2011). Podle údajů Světové zdravotnické organizace WHO bude v roce 2030 deprese nejvýznamnější příčinou „zátěže nemocí - burden of disease“ v západním světě (Mathers et al., 2006). Stoupající výskyt deprese v rozvinutých zemích má zřejmě více příčin. Populace žijící v rozvinutých zemích jsou charakterizovány stoupajícím výskytem přejídání se současně špatným složením stravy, sedavým způsobem života, nedostatkem spánku. Význam má také vzrůstající sociální izolace a další společenské faktory moderního světa (Hidaka 2012).

Nemocní s depresí mají ve srovnání s běžnou populací významně vyšší úmrtnost, zřejmě v souvislosti s vyšším výskytem kardiovaskulárních onemocnění (KVO), zejména ICHS a diabetes mellitus typu 2 (DM2). Deprese je považována za nezávislý rizikový faktor ICHS (Rugulies et al., 2002) i DM2 (Mezuk et al., 2008). Deprese je spojena rovněž se zvýšenou celkovou mortalitou (Zheng et al., 1997; Almeida et al., 2010). Faktorem, stojícím za významnými asociacemi mezi depresí, KVO a DM2 i celkovou mortalitou, může být metabolický syndrom (MetS). Pojem „metabolický syndrom“ se dnes označuje současný výskyt metabolických i hormonálních odchylek, které většinou současně představují rizikové faktory rozvoje aterosklerózy a KVO (tabulka 1). Přítomnost MetS je považována za jednoduchý marker zvýšeného rizika KVO a DM2 u daného jednotlivce (Wannamethee et al., 2005). Zvýšený výskyt MetS byl opakovaně zaznamenán u depresivních osob v průřezových studiích, nedávno byly zveřejněny výsledky studie (East et al., 2010), kde osoby s příznaky deprese měly ve srovnání s kontrolními osobami významně vyšší prevalenci MetS (u mužů 31,6 % oproti 22,8 %, u žen 15,4 oproti 7,4 %). Deprese může kromě poruch homeostázy glukózy souviset i s jinými komponentami MetS, jako je dyslipidémie a akumulace viscerálního tuku (Weber-Hamann et al., 2006; Zeman et al., 2009a), ale i hypertenze (Patten et al., 2009), zánět (Dowlati et al., 2010; Maes et al., 2011) a oxidační stres (Kodydková et al., 2009; Maes et al., 2011). Některé biologické markery jsou společné pro nemocné s MetS, DM2 i depresí. Mimo jiné sem patří například dysfunkce osy hypotalamus-hypofýza-nadledvina, provázená vzestupem hladiny sérového kortizolu a rezistencí periferních tkání na působení inzulínu, která je považována za jeden z hlavních faktorů rozvoje DM2 a za hlavní determinantu MetS (Eckel et al., 2005; Talbot et al., 2000; Lustman a Clouse, 2004; Okamura et al., 2000). Významná role je přičítána také i složení tělesného tuku, které lze popsat profilem mastných kyselin ve tkáních. Profil mastných kyselin je závislý jak na složení tuku přiváděného stravou, tak i na endogenní syntéze a přeměně v organismu dochází k interakci zevních i genetických faktorů, ovlivňujících např. aktivitu desaturáz (Nakamura a Nara, 2004; Warensjo et al., 2008; Zeman et al., 2009b), klíčových enzymů, jejichž aktivita, spolu s aktivitou dalších enzymů, elongáz, určuje spektrum nenasyčených mastných kyselin, které mají významné biologické účinky.

Cílem této práce bylo zjistit spektrum mastných kyselin v esterech cholesterolu a fosfatidylcholinu plasmy u osob s depresivní poruchou.

Materiál a metody

Sledované soubory. Do studie zařazeno 42 nemocných (7 mužů, 35 žen) s depresivní poruchou (skupina DP) pocházejících z okruhu ambulance Psychiatrické kliniky. Kontrolní skupinu tvořilo 49 osob (19 mužů, 30 žen) převážně z řad zdravotnického personálu, u kterých v době vyšetření nebylo přítomno žádné závažné onemocnění. Ve skupině DP převažovali nemocní, kteří byli vyšetřeni pro střední a těžkou depresivní fázi (diagnózy podle MKN-10 F 32.1 a F 32.2) nebo pro periodickou depresivní poruchu střední nebo těžkou (diagnózy F 33.1 a F 33.2). Deprese byla klasifikována podle kritérií DSM-IV Americké psychiatrické společnosti (American Psychiatric Association, 1994), metabolický syndrom byl diagnostikován na základě kritérií IDF (International Diabetes Federation) (Alberti et al., 2005). Ze studie byli vyloučeni jedinci se známkami nádorového onemocnění, hypotyreózy, jaterní nebo renální insuficience či závažného onemocnění gastrointestinálního traktu, dále nemocní s makroalbuminurií (defi-novanou jako proteinurie vyšší než 300 mg/den) a také osoby užívající vitaminové suplementy, antioxidanty či přípravky, obsahující polyenové mastné kyseliny.

Laboratorní vyšetření: Ve sledovaných skupinách osob byly vyšetřeny koncentrace plazmatických lipidů, lipoproteinů a apolipoproteinů, glykémie, koncentrace imunoreaktivního inzulínu (IRI), urikémie, apolipoproteiny (apo) A-I, B v plazmě. Odběry krve byly prováděny po celonočním lačnění do K2EDTA (mg/ml krve). Koncentrace celkového cholesterolu (TC), triglyceridů (TG), kyseliny močové a glukózy byly stanoveny pomocí enzymaticko-kolorimetrických metod (CHOD/PAP, GPO/PAP, Test Combination PL, Boehringer Mannheim, FRG, GOD-PAP Oxochrom Glukosa Lachema a.s., Brno), koncentrace IRI, pomocí RIA metody, HDL-C v supernatantu po precipitaci lipoproteinů B užitím PTA/Mg²⁺, apolipoproteiny (apo) B, A-I a A-II byly stanoveny EIA podle Laurella s pomocí specifických standard a protilátek (Behring Werke AG Marburg, Boehringer Mannheim, FRG). Koncentrace mastných kyselin v plasmatickém fosfatidylcholinu a esterech cholesterolu byly provedeny dříve popsanou metodou (Tvrzická et al., 2002).

Výsledky

Základní klinické parametry nemocných s depresí a osob kontrolní skupiny jsou uvedeny v tabulce 2. Jednotlivé skupiny se nelišily významně věkem, skupina osob s depresivní poruchou (DP) měla v průměru významně nižší diastolický krevní tlak ($P < 0,05$), hodnoty BMI byly v této skupině vyšší, ale rozdíl nedosáhl statistické významnosti. Ve srovnání s kontrolní skupinou bylo mezi nemocnými s depresí významně vyšší zastoupení žen. V tabulce 3 jsou uvedeny hodnoty vyšetřovaných biochemických ukazatelů. Depresivní osoby měly ve srovnání s kontrolní skupinou významně vyšší hladinu plasmatických triglyceridů ($P < 0,05$) a koncentraci inzulínu ($P < 0,01$).

U nemocných s depresivní poruchou jsme zjistili významné změny ve složení mastných kyselin v plasmatickém fosfatidylcholinu (tabulka 4) a v esterech cholesterolu (tabulka 5). Našli jsme významně zvýšený podíl zastoupení kyseliny palmitolejové (16:1 n-7) v CE, významně nižší zastoupení kyseliny linolové v CE i v PC, vyšší zastoupení kyseliny dihomogammalinolenové (20:3 n-6) v CE (všechna $P < 0,05$). Nemocní s depresí měli dále v plasmatickém PC významně vyšší podíl celkových nasycených kyselin ($P < 0,01$), monoenových mastných kyselin ($P < 0,05$) a nižší podíl celkových PUFA n-6 v CE ($P < 0,05$). Dále jsme u depresivních osob našli zvýšenou hodnotu indexu aktivity delta-6 desaturázy (D6D) a aterogenního indexu mastných kyselin v PC i v CE (všechna $P < 0,05$).

Závěr

U nemocných s depresivní poruchou jsme ve srovnání se skupinou zdravých osob zjistili významné rozdíly ve složení mastných kyselin. Profil mastných kyselin u nemocných s depresí se částečně shoduje se složením, popisovaných u nemocných s metabolickým syndromem (zejména zvýšený podíl nasycených mastných kyselin, 20:3 n-6, snížené zastoupení PUFA n-6, zejména kyseliny linolové a zvýšená aktivita D6D). Tyto změny mohou být podmíněny dietními faktory, zvýšenou hladinou oxidačního stresu i faktory genetickými a mohou stát v pozadí známých komorbidit deprese, jako jsou diabetes mellitus typu 2 a kardiovaskulární onemocnění i zvýšené celkové mortality.

Tabulka 1**Definice NCEP, ATP III**

přinejmenším 3 z následujících kritérií:

obvod pasu > 102 cm u mužů, > 88 cm u žen

triglyceridy v seru $\geq 1,7$ mmol/l

HDL-cholesterol (HDL-C) $\leq 1,04$ mmol/l u mužů, $\leq 1,30$ mmol/l u žen

zvýšeny krevní tlak ($\geq 130/85$ mmHg)

glykemie nalačno $\geq 6,1$ mmol/l

Definice WHO

Diabetes, porušená glukózová tolerance, porušená glykémie nalačno (IFG) nebo inzulinorezistence (HOMA) a přinejmenším 2 z následujících kritérií:

poměr pas: boky > 0,9 u mužů, > 0,85 u žen

triglyceridy v seru $\geq 1,7$ mmol/l nebo HDL-C $\leq 0,9$ mmol/l u mužů, $\leq 1,3$ mmol/l u žen

exkrece albuminu moči > 20 $\mu\text{g}/\text{min}$

krevní tlak $\geq 140/90$ mmHg

Definice EGIR IRS (European Group for the Study of Insulin Resistance)

Hyperinzulinemie nalačno (nejvyšší kvartil) a přinejmenším 2 z následujících kritérií:

glykemie nalačno $\geq 6,1$ mmol/l

krevní tlak $\geq 140/90$ mmHg, nebo léčená hypertenze

triglyceridy v seru $\geq 2,0$ mmol/l nebo HDL-C $\leq 1,0$ mmol/l nebo léčená hyperlipidémie

obvod pasu > 94 cm u mužů, > 80 cm u žen

Definice IDF

obvod pasu > 94 (resp. 80) cm u mužů (resp. žen) a další 2 z následujících faktorů:

triglyceridemie (TG) > 1,70 mmol/l

HDL-C < 1,0 (resp. 1,30) mmol/l u mužů (resp. žen)

TK > 130/85 mm Hg (nebo antihypertenzní léčba)

porucha glykemie nalačno (glykemie > 5,6 mmol/l nebo přítomnost DM)

Vysvětlivky: NCEP, ATP III (National Cholesterol Education Program (NCEP) of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) (třetí soubor doporučení Národního cholesterolového edukačního programu v USA pro léčbu dospělých, 2001; IFG (Impaired Fasting Glycaemia), tj. glykemie nalačno $\geq 5,6$ mmol/l HOMA (Homeostasis Model Assessment) – matematicky model k určování inzulinové rezistence; IDF = International Diabetes Federation; DM = diabetes mellitus

Podle: Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. Lancet 2005, 365: 1415–1428.

Tabulka 2 Základní klinické charakteristiky sledovaných souborů

Parametr	Deprese (n = 42)	Kontroly (n = 49)	Statistická významnost ²
Věk (roky)	60,9 ± 15,7 ¹	57,8 ± 12,3	NS
Počet (muži/ženy)	42 (7/35)	49 (19/30)	< 0,01 [§]
BMI (kg/m ²)	26,6 ± 4,7	25,1 ± 4,0	NS
Systolický TK (mmHg)	126,4 ± 16,6	129,7 ± 10,4	NS
Diastolický TK (mmHg)	77,6 ± 5,6	81,0 ± 9,1 ^a	< 0,01

¹ Průměr ± SD; ² Kruskalův-Wallisův test; [§] Pearsonův χ^2 test;

Tabulka 2 Základní laboratorní ukazatele u sledovaných skupin

	Deprese (n=42)	Kontroly (n=49)	Statistická významnost
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,74 ± 1,44	5,80 ± 0,80	NS
Triglyceridy (mmol/l)	1,60 ± 1,06	1,19 ± 0,28	0,05
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,54 ± 0,52	1,67 ± 0,42	NS
LDL-cholesterol (mmol/l)	3,49 ± 1,30	3,41 ± 0,92	NS
Apolipoprotein A-I (g/l)	1,45 ± 0,35	1,39 ± 0,16	NS
Apolipoprotein B (g/l)	1,10 ± 0,34	1,03 ± 0,23	NS
Urikémie (μmol/l)	274,1 ± 83,1	259,8 ± 66,2	NS
f-Glukóza (mmol/l)	5,33 ± 1,11	4,70 ± 0,31	NS
f-Insulin (μU/ml)	13,38 ± 8,0	7,8 ± 3,8	0,01

¹ průměr ± SD; ² Studentův t-test, adjustace na pohlaví

Tabulka 3 Relevantní mastné kyseliny a sledované indexy v plasmatickém fosfatidylcholinu vyšetřených skupin

Parametr	Fosfatidylcholin		
	Deprese (n=42)	Kontroly (n=49)	Statistická významnost
16:0	30,02 ± 2,44 ¹	29,59 ± 1,244	NS
16:1n-7	0,57 ± 0,22	0,51 ± 0,122	NS
18:0	13,66 ± 1,44	13,47 ± 0,98	NS
18:1n-9	10,04 ± 1,72	9,67 ± 1,84	NS
18:1n-7	1,46 ± 0,23	1,42 ± 0,20	NS
18:2n-6	22,58 ± 3,56	24,21 ± 2,88	P<0,05
20:3n-6	3,18 ± 0,88	2,88 ± 0,60	P<0,05
20:4n-6	11,55 ± 2,82	11,90 ± 2,02	NS
20:5n-3	0,88 ± 0,41	1,10 ± 1,01	NS
22:6n-3	3,36 ± 1,06	3,60 ± 1,20	NS
Σ SFA	44,05 ± 1,90	43,40 ± 1,16	P<0,001
ΣMUFA	12,31 ± 1,93	11,83 ± 1,97	P<0,05
Σ PUFA n-6	38,36 ± 1,84	39,04 ± 2,74	NS
Σ PUFA n-3	5,28 ± 1,16	5,73 ± 1,95	NS
D9 desaturáza (16:1n-7/16:0)	0,204 ± 0,007	0,180 ± 0,005	NS
D9 desaturáza (18:1n-9/18:0)	0,741 ± 0,100	0,730 ± 0,110	NS
D5 desaturáza (20:4 n-6/20:3 n-6)	3,96 ± 0,86	3,96 ± 1,04	NS
D5 desaturáza (18:3 n-6/18:2 n-6)	0,005 ± 0,002	0,003 ± 0,001	P<0,05
AI	0,56 ± 0,07	0,54 ± 0,03	P<0,05

¹ mol% (ave ±S.D.); AI= aterogenní index;[(12:0 +4 . 14:0 +16:0)/Σ n-6 + Σ n-3 + Σ MUFA)]

Tabulka 4 Relevantní mastné kyseliny a sledované indexy v plasmatickém fosfatidylcholinu vyšetřených skupin

Parametr	Estery cholesterolu		
	Deprese (n=42)	Kontroly (n=49)	Statistická významnost
16:0	9,96 ± 2,24	9,33 ± 1,18	NS
16:1n-7	0,44 ± 0,15	0,36 ± 0,16	P<0,05
18:0	0,68 ± 0,41	0,56 ± 0,43	NS
18:1n-9	18,70 ± 1,72	17,90 ± 1,84	NS
18:1n-7	1,06 ± 0,23	1,01 ± 0,20	NS
18:2n-6	56,11 ± 4,56	58,56 ± 4,88	P<0,05
20:3n-6	0,71 ± 0,17	0,63 ± 0,12	P<0,05
20:4n-6	5,89 ± 2,67	5,69 ± 2,05	NS
20:5n-3	0,37 ± 0,40	0,36 ± 0,32	NS
22:6n-3	3,36 ± 1,06	3,60 ± 1,20	NS
Σ SFA	11,59 ± 2,251	10,74 ± 1,18	NS
Σ MUFA	23,63 ± 3,62	22,11 ± 3,82	NS
Σ PUFA n-6	63,69 ± 4,93	63,06 ± 5,87	P<0,05
Σ PUFA n-3	1,09 ± 0,59	1,08 ± 0,51	NS
D9 desaturáza (16:1n-7/16:0)	0,35 ± 0,15	0,34 ± 0,14	NS
D9 desaturáza (18:1n-9/18:0)	33,59 ± 15,27	36,62 ± 10,19	NS
D5 desaturáza (20:4n-6/20:3n-6)	8,61 ± 4,01	9,09 ± 3,64	NS
D6 desaturáza (18:3n-6/18:2n-6)	0,015 ± 0,009	0,012 ± 0,004	P<0,05
AI	0,15 ± 0,03	0,14 ± 0,03	P<0,05

¹ mol% (ave ±S.D.); AI= aterogenní index;[(12:0 +4 . 14:0 +16:0)/Σ n-6 + Σ n-3 + Σ MUFA]

Práce byla podpořena výzkumným programem PRVOUK-P25/LF1/2

Literatura

- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome - a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* 2006; 23: 469-480.
- Almeida OP, Alfonso H, Flicker L, Hankey GJ, Norman PE. Cardiovascular disease, depression and mortality: the Health In Men Study. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2012 May;20(5):433-40.
- American Psychiatric Association (1994). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, fourth edition. Washington, D.C.
- Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry* 2010; 67: 446–457.
- East C, Willis B.L., Barlow C.E., Grannemann B.D., FitzGerald S.J., DeFina L.F., Trivedi M.H. Depressive symptoms and metabolic syndrome in preventive healthcare: the Cooper Center longitudinal study *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 8 (2010), 451–457.
- Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005, 365: 1415–1428.
- Talbot, F., Nouwen, A.: A review of the relationship between depression and diabetes in adults. Is there a link? *Diabetes Care* 2000; 23: 1556–1562.
- Hidaka BH. Depression as a disease of modernity: Explanations for increasing prevalence. *J Affect Disord.* 2012; 140 : 205–214
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, et al. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA* 2003;289:3095–105.
- Kodydková J, Vávrová L, Zeman M, Jiráček R, Macásek J, Stanková B, Tvrzická E, Zák A. Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. *Clin Biochem.* 2009 Sep;42(13-14):1368-74.
- Lustman PJ, Clouse RE: Depression: a potentially modifiable risk factor for diabetes and its complications. *Diabetes Spectrum*, 2004; 17: 147–148.
- Maes M, Kubera M, Obuchowicz E, Goehler L, Brzeszcz J. Depression's multiple comorbidities explained by (neuro)inflammatory and oxidative & nitrosative stress pathways. *Neuro Endocrinol Lett.* 2011;32(1):7-24.
- Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006 ; 3(11):e442
- Mezuk B., Eaton WW, Albrecht S, Golden SH. Depression and Type 2 Diabetes Over the Lifespan: A meta-analysis . *Diabetes Care* 2008; 31: 2383–2390
- Nakamura MT, Nara TY. Structure, function, and dietary regulation of delta6, delta5, and delta-9-desaturases. *Annu Rev Nutr.* 2004; 24:345-76.
- Okamura F, Tashiro A, Utumi A, et al. Insulin resistance in patients with depression and its changes during the clinical course of depression: minimal model analysis. *Metabolism* 2000, 49, s. 1255-1260.

Patten S.B., Williams J.V., Lavorato D.H., Campbell N.R., Eliasziw M., Campbell T.S. Major depression as a risk factor for high blood pressure: epidemiologic evidence from a national longitudinal study. *Psychosomatic Medicine*, 71 (2009), 273–279

Pirkola SP, Isometsa E, Suvisaari J, et al. DSM-IV mood-, anxiety- and alcohol use disorders and their comorbidity in the Finnish general population—results from the Health 2000 Study. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 2005;40:1–10.

Rugulies R.: Depression as a predictor for coronary heart disease. A review and meta-analysis. *Am. J. Prev. Med.*, 2002, 23, s. 51–61.

Tvrzická E, Vecka M, Staňková B, Žák A: Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionisation detection. Quantitative aspects. *Anal Chim Acta* 2002; 465: 337-350.

Wannamethee, S. G., Shaper, A. G., Lennon, L., Morris, R. W.: Metabolic syndrome vs Framingham risk score for prediction of coronary heart disease, stroke, and type 2 diabetes mellitus. *Arch. Intern. Med.*, 2005, 165, s. 2644-2650.

Warensjö, E., Sundström, J., Vessby, B., Cederholm, T. & Risérus, U. Markers of dietary fat quality and fatty acid desaturation as predictors of total and cardiovascular mortality: a population-based prospective study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 88: 203-209.

Weber-Hamann B., Werner M., Hentschel F., Bindeballe N., Lederbogen F., Deutsche M., Heuser I. Metabolic changes in elderly patients with major depression: evidence for increased accumulation of visceral fat at follow-up *Psychoneuroendocrinology*, 31 (2006), 347–354

Zdravotnická ročenka, ÚZIS 2011

Zeman M, Jiráček R, Žák A, Jáchymová M, Vecka M, Tvrzická E, Vávrová L, Kodydková J, Staňková B. Rysy metabolického syndromu u nemocných s depresivní poruchou. *Čas Lék Česk.* 2009; 148(7):309-314.

Zeman M, Vecka M, Jáchymová M, Jiráček R, Tvrzická E, Staňková B, Žák A. Fatty acid CoA ligase-4 gene polymorphism influences fatty acid metabolism in metabolic syndrome, but not in depression. *Tohoku J Exp Med.* 2009; 217(4): 287-93.

Zheng D, Macera CA, Croft JB, Giles WH, Davis D, Scott WK. Major depression and all-cause mortality among white adults in the United States. *Ann Epidemiol.* 1997 Apr;7(3):213-8.