

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

Vás vítají na symposiu s edukačním programem
pořádaném pod záštitou děkana 1. LF UK prof. MUDr. Martina Vokurky, CSc.

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

2 0 2 1

diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku

P r a h a 15. - 16. září 2021

Hlavní název: ATHEROSKLEROSA 2021

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 2021

Cena: neprodejné

ISBN 978-80-905595-7-8

ČESTNÉ PŘEDSEDNICTVO

prof. MUDr. Martin Vokurka, CSc.
Děkan 1. LF UK

doc. MUDr. Milan Kuchta, CSc.
Lékařská fakulta UPJŠ, Košice, Slovensko

prof. MUDr. Stanislav Štípek, DrSc.
Předseda Oborové rady biochemie a patobiochemie 1. LF UK Praha

PROGRAMOVÝ VÝBOR

**Josef Hyánek, Marie Kunešová, Magdalena Lejsková, Jaroslav Macášek,
Petr Nachtigal, Barbora Staňková, František Stožický, Miroslav Zeman,
Aleš Žák**

ADRESA SYMPOSIA

**Lékařský dům
Sokolská 490/31, Praha 2**

Sborník prací věnovaný životnímu jubileu prof. MUDr. Aleše Žáka, DrSc.



Dlouholetý aktivní účastník kongresu Atherosklerosa a člen programového výboru v letošním roce oslavil významné životní jubileum.

Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc. se narodil 25. 5. 1951 v Praze. Po absolvování gymnázia v Botičské ulici studoval na Fakultě všeobecného lékařství (dnes 1. lékařské fakultě) Univerzity Karlovy, kde jako vynikající student promoval v roce 1975.

Už jako student docházel na IV. interní kliniku. Po krátkém působení na interně příbramské nemocnici se vrátil na kliniku, aby zde absolvoval kariérní žebříček od sekundárního lékaře po přednostu kliniky. Na kliniku nastoupil v roce 1976. V letech 1978 a 1982 složil I. a II. atestační zkoušku, vždy s pochvalou. V roce 1995 obhájil kandidátskou disertační práci v oboru vnitřního lékařství na téma „Vliv n-3 mastných kyselin na metabolismus lipidů a některé parametry glukoregulace u hyperlipidemií“. Následovala habilitační práce na téma „Lipidy v patogenezi kardiovaskulárních onemocnění. Význam esenciálních mastných kyselin“ v roce 1999. Dva roky poté úspěšně obhájil doktorskou disertační práci na téma „Mastné kyseliny, hyperhomocysteinemie a oxidativní stres: rizikové faktory kardiovaskulárních a metabolických onemocnění“ vše na 1. lékařské fakultě UK. V oblasti pedagogických hodností byl v r. 2005 jmenován profesorem.

Od začátku působení na klinice se orientoval na poruchy metabolismu tuků, a to jak z hlediska vztahu vybraných dietních faktorů k patogenezi a prevenci hyper-lipoproteinémií a diabetes mellitus 2. typu, tak lipoperoxidaci, složení LDL a riziku kardiovaskulárních chorob. Později rozšířil svůj zájem o nové faktory v diagnostice, patogenezi a prognóze nutričních poruch, totiž významu myostatínu a lathosterolu, ale rovněž i o interakci dietních faktorů a některých genových polymorfismů v patogenezi aterogenních dyslipidemií s hyperapolipoproteinémií. V poslední době soustředil zájem o vyšetření antioxidační rovnováhy a některých polymorfismů paraoxonázy 1 u pacientů s různými onemocněními pankreatu.

Vynikající student se stal nejen klinickým vědcem, ale i klinikem – internistou se širokým rozhledem, který není příznačný pro superspecializované současníky. Navzdory tomu se prosadil i jako výborný manažér. Dokladem toho je, že kliniku převzal v době, kdy v rámci Všeobecné fakultní nemocnice došlo k restrukturalizaci interních klinik, která znamenala ztrátu tradičního oboru angiologie, a rozšíření druhého pilotního oboru kliniky, a to hepatogastroenterologie se všemi důsledky včetně značných personálních změn. Při postupné redukci lůžek a navzdory všem potížím se mu podařilo uhájit zájmy kliniky a její místo ve Všeobecné fakultní nemocnici. Ve funkci přednosta kliniky působil až do roku 2019.

Tato manažerská činnost však nikterak neovlivnila jeho činnost pedagogickou a publikační. Vedle obvyklé pregraduální výchovy ve formě přednášek a seminářů se podílí na postgraduální přípravě studentů v doktorandském studiu. Je řešitelem grantů a VZ, autorem více než 350 publikací a jeho H-index má hodnotu 22. Autorství monografií bylo několikrát oceněno např. Cenou rektora a cenou ČIS JEP.

Vedle časově náročného vedení kliniky zastával třináct let funkci proděkana pro vědeckou činnost a akademické hodnosti a byl členem Vědecké rady 1. LF UK. V současné době je členem AS 1. LF; zde vykonává funkci předsedy Komise pro studijní záležitosti. Zároveň je garant specializačního vzdělávání vnitřního lékařství na 1. LF a členem SOR vnitřního lékařství.

Mezi jeho velké záliby patří výtvarné umění, historie a literatura především literatura faktů, kterou sleduje s vybraným vkusem čtenáře.

Přejeme prof. Žákovi pevné zdraví a mnoho úspěchů v pracovním i osobním životě.

MUDr. Jaroslav Macásek, Ph.D.

předseda organizačního výboru kongresu Atherosklerosa 2021

TUKY V POTRAVINOVÝCH PYRAMIDÁCH A TALÍŘÍCH

FATS IN FOOD PYRAMIDS AND PLATES

J. Brát

Union of Oilseed Growers and Processors

Abstrakt

Běžný spotřebitel se špatně orientuje v tucích. Ukazuje se, že se v nich vyzná ze základních živin nejméně. Neví, kolik tuků by měl denně sníst, jaké tuky omezovat a jaké naopak preferovat. Odborné společnosti se snaží vytvořit srozumitelnější a graficky názorná doporučení, jak by měla vypadat ideální skladba stravy. Spotřebitel si není schopen zapamatovat výživová doporučení v procentech z celkového příjmu energie nebo v gramech a řídit se podle nich.

Proto se v poslední době častěji objevují doporučení založená na skupinách (bázích) potravin. Formulují se v podobě konkrétních druhů potravin, frekvence jejich konzumace a velikostí porcí. Je snaha co nejméně kvantifikovat doporučení týkající se živin. Na pomoc přicházejí různá grafická vyjádření, jaké druhy potravin bychom měli konzumovat častěji, nebo naopak kterým bychom se měli spíše vyhýbat. Nejčastěji se používají dva formáty infografiky: potravinová pyramida a potravinový talíř. Zatímco slovně formulovaná doporučení odborných společností se příliš neliší, u grafických zjednodušení lze zaznamenat významné rozdíly, které budou diskutovány v rámci přednášky.

Abstract

The average consumers are not well orienting in fats. It turns out that they know the least about fats among essential nutrients. They do not know how much fat they should eat per day, which fats to limit, and which to prefer. Experts are trying to create more recommendations in graphic format, how the ideal diet should look like. Consumers are not able to memorize and follow dietary recommendations as a percentage of total energy intake or in grams. Therefore, food-based dietary guidelines have become recently more common. These are formulated in terms of specific types of foods, frequency of consumption, and portion sizes. There is an attempt to quantify nutrient recommendations as little as possible. Various graphical representations of what types of foods should be consumed more frequently or, conversely, which should be avoided. The food pyramid and the food plate are the two most commonly used graphic formats. While the verbal recommendations of professional societies do not differ much, there are significant differences in the graphical simplifications, which will be discussed in the lecture.

Úvod

Je všeobecně a dlouhodobě známo, že některé potraviny vykazují pozitivní vlastnosti s ohledem na zdraví a jejich konzumace pomáhá předcházet některým nemocem. V posledních letech roste i povědomí o vlivu skladby stravy na zdravotní stav člověka. Mezi vědci panuje konsensus v tom, že strava chudá na některé živiny spolu s nevhodným životním stylem způsobuje některé chronické zdravotní problémy. Ve společnosti dochází k nárůstu nadváhy a obezity, zvyšuje se počet kardiovaskulárních onemocnění, diabetiků 2. typu, diagnostikované rakoviny i některých kognitivních onemocnění, jako např. demence. Člověk potřebuje řadu živin, pokud chce zůstat zdravý a vyvarovat se rizikům některých onemocnění souvisejících se způsobem stravování. Každá z živin má v organismu určitou funkci. Živiny,

kteří jsou zároveň zdrojem energie (tuky, sacharidy, bílkoviny, souhrnně makroživiny), potřebujeme v relativně větším množství, u vitaminů a minerálních látek (mikroživiny) stačí nižší příjem živin. Co bychom měli v rámci stravy upřednostňovat, co omezovat a čemu se pokud možno vyhýbat, nám říkají výživová doporučení.

Jak výživová doporučení zjednodušit?

Odborné společnosti se snaží vytvořit srozumitelnější a graficky názorná doporučení, jak by měla vypadat ideální skladba stravy. Ukazuje se, že průměrný spotřebitel se dobře nevyzná v číselných hodnotách obsahu klíčových živin uváděných na obalech potravin ve vztahu k tabulkám, kolik by denně měl sníst bílkovin, sacharidů a z toho cukrů. Totéž platí pro tuky a v rámci této skupiny se vytrácí povědomí, jaké tuky omezovat a jaké naopak preferovat. Proto se v poslední době častěji objevují doporučení založená na skupinách (bázích) potravin. Formulují se v podobě konkrétních druhů potravin, frekvence jejich konzumace a velikostí porcí. Je snaha co nejméně kvantifikovat doporučení týkající se živin. Na pomoc přicházejí různá grafická vyjádření, jaké druhy potravin bychom měli konzumovat častěji, nebo naopak kterým bychom se měli spíše vyhýbat. Nejčastěji se používají dva formáty infografiky.

Potravinová pyramida

Potravinová pyramida znázorňuje doporučenou četnost konzumace základních potravin a bývá vyjádřena v porcích. V základně pyramidy jsou potraviny, které bychom měli konzumovat častěji. Na vrcholku jsou potom ty, které bychom měli konzumovat v omezeném množství. Nevýhodou pyramid je, že nemusí být přesně definovány velikosti porcí. Porce se pro jednotlivé druhy potravin liší svou velikostí, někdy bývají porce směřovány s konzumovaným množstvím, což vyvolává významné rozdíly mezi pyramidami vydávanými různými organizacemi. V rámci některých pyramid splývají rozdíly ve výživové hodnotě určitých druhů potravin (ryby, maso, masné výrobky), které bývají uváděny společně jako zdroje bílkovin. Ve slovně formulovaných doporučeních však mají různé druhy masa zcela odlišné preference v rámci konzumace. Proto bývá slovní popis v některých případech důležitou součástí dané pyramidy.

Potravinový talíř

Druhým nejčastěji používaným formátem doporučené skladby stravy je potravinový talíř. Ten v podstatě odpovídá koláčovému grafu. Znázorňuje, jaký množstevní podíl by jednotlivé druhy potravin měly tvořit v rámci celkové stravy. Nevýhoda tohoto grafického vyjádření spočívá v přílišném zjednodušení. Nejíme jeden talíř denně a celodenní skladba stravy je poskládána z více jídel, které se významně liší v zastoupení jednotlivých potravin. Skloubit všechna denní jídla do jednoho koláčového grafu tak, aby poměry odpovídaly celkovému doporučení pro vyváženou skladbu stravy, vyžaduje velkou představivost.

Pyramida nebo talíř, co je lepší?

Vedou se diskuse, zda je potravinový talíř lepší než pyramida. Názor na to není jednotný, obě grafická vyjádření mají svá pro a proti. Výživová doporučení formulovaná na bázi potravin doprovází někdy vzorový pokrm. Ten je inspirací pro výběr surovin pro přípravu pokrmů a rovněž demonstruje, jaké důležité živiny pocházejí z různých komodit. V doporučeních se objevují i tabulky a doplňující číselné údaje, které nabádají k četnosti konzumace různých druhů potravin. Samozřejmostí každého doporučení je souhrn zásad, jak poskládat správnou skladbu stravy.

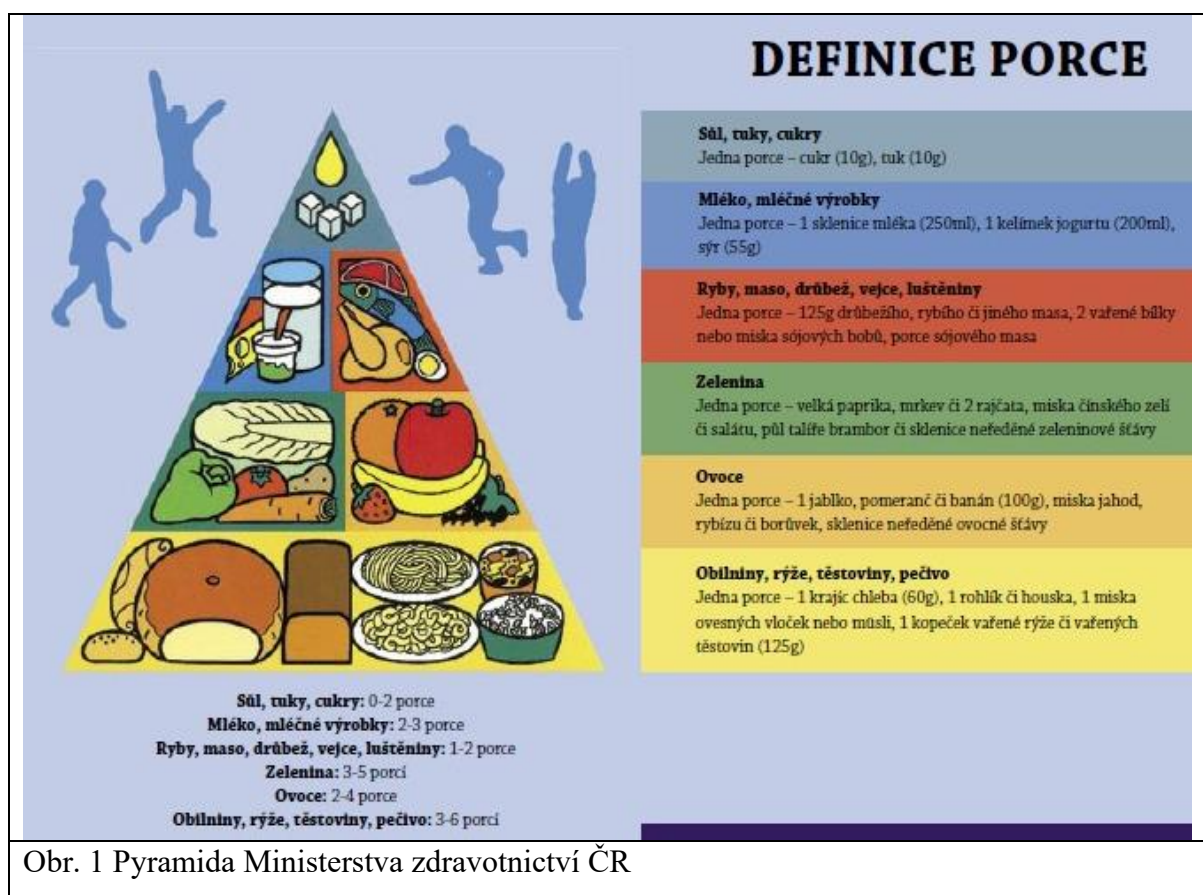
Tuky v potravinových pyramidách a talířích

Tuky obsahují více než dvojnásobek energie než ostatní základní živiny (sacharidy a bílkoviny). Celkový příjem tuků by měl být proto umírněný. Referenční hodnota příjmu pro tuky u osob se střední fyzickou zátěží při příjmu 2000 kcal denně činí 70 g/den tuků. Je to

hodnota orientační, uvádějící, kolik tuků bychom měli denně konzumovat. V ní jsou zahrnuty tuky skryté (např. mléčné výrobky, maso, uzeniny apod.), jejichž množství při konzumaci často nevnímáme, i tuky viditelné, které používáme na přípravu pokrmů a jejichž množství si naopak uvědomujeme. Tuků viditelných mají stanovenou relativně nízkou hodnotu velikosti porce. Obecně se uvažuje, že porce tuků používaných při přípravě pokrmů činí 10 g nebo ml. Ve stravě by měly převažovat oleje a tuky s příznivým složením mastných kyselin s převahou nenasycených mastných kyselin. Těch bychom měli tudíž konzumovat minimálně 4 porce. Tomu by mělo odpovídat zařazení tuků v hierarchii potravinové pyramidy. Jak si ukážeme na několika příkladech, ne vždy tomu tak je.

Příklady komunikace tuků v rámci potravinových pyramid

Potravinových pyramid je celá řada. Je s podivem, jak se některé významně liší z hlediska doporučení kolik tuků, případně jakých, bychom měli konzumovat. Pyramida Ministerstva zdravotnictví ČR byla vydána v roce 2005 jako součást výživových doporučení pro obyvatelstvo ČR (obr. 1)¹.



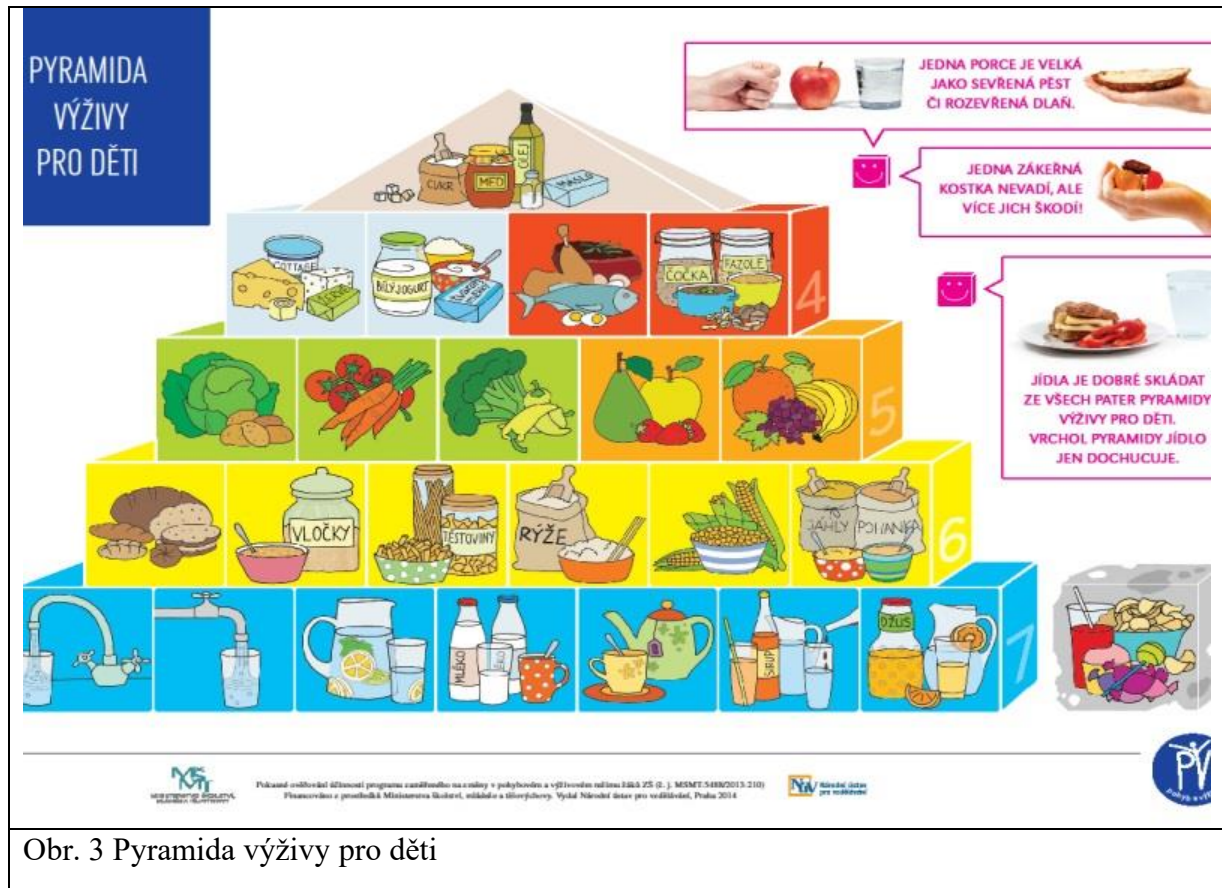
Kladem pyramidy Ministerstva zdravotnictví ČR je uvedení počtu a velikosti porcí jednotlivých skupin potravin. Umístění tuků a slovní komentář je doprovázející však vůbec neodpovídá současným výživovým doporučením, dokonce ani doporučením platným v době vydání této pyramidy. Porce tuků je v této pyramidě správně určena na 10 g, ale doporučuje se denně jíst jen 0 - 2 porce. Striktní omezení příjmu tuků bylo uplatňováno v 80. letech minulého století. Od roku 2003, kdy byla publikována výživová doporučení WHO, se přikládá větší význam složení tuků, než jejich konzumovanému množství². Pokud by se někdo doporučeními pyramidy Ministerstva zdravotnictví ČR řídil, měl by výrazně deficitní příjem esenciálních mastných kyselin, zejména omega 3.

Pyramida Fóra zdravé výživy (obr. 2) komunikuje doporučení pro tuky správně³.



Olej a margarin v kelímku jsou umístěny do 2. úrovně stejně jako některé výrobky z obilovin, ryby, mléčné výrobky, brambory apod. Tuky balené ve folii, ať už se jedná o tuky živočišné nebo pokrmové, by měly být konzumovány umírněně, proto jsou umístěny ve vrcholu pyramidy. Rozdělení tuků na dvě skupiny s převahou nasycených a nenasycených mastných kyselin je v souladu s výživovými doporučeními, stejně jako jejich rozdílné umístění v rámci pyramidy.

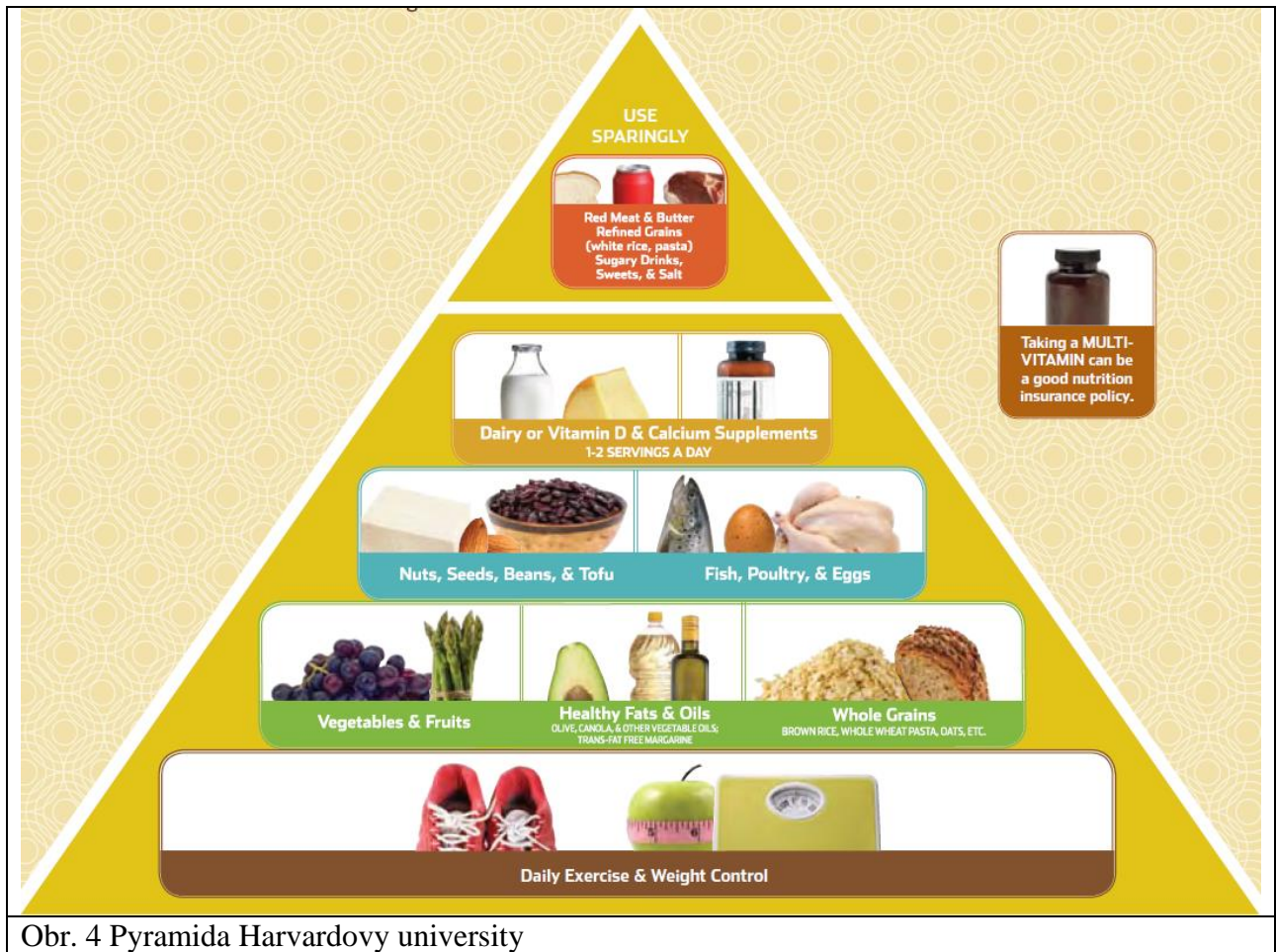
Podobný problém jako pyramida Ministerstva zdravotnictví ČR má i Pyramida výživy pro děti sestavená z kostek⁴.



Obr. 3 Pyramida výživy pro děti

Porce jsou definovány jako sevřená pěst či rozevřená dlaň. Tato definice v podstatě odpovídá konzumovanému množství, nikoliv porcím, jak jsme u jednotlivých potravin zvyklí. Veškeré tuky (i oleje) jsou umístěny do tzv. „zákeřné kostky“. V komentářích k této pyramidě je doslova uvedeno: „To, co do každodenního jídelníčku nepatří, je znázorněno v zákeřné kostce.“. Z hlediska olejů je to zásadní rozpor s všeobecně uznávanými výživovými doporučeními. Ryby, vejce, drůbeží, hovězí a vepřové maso jsou umístěny do stejné kostky. Ryby a různé druhy masa neslouží v rámci stravy jen jako zdroje bílkovin, což by mohlo být důvodem umístění do stejné kostky. Významně se liší z hlediska složení a množství tuku, který je v různých druzích masa obsažen. Ryby patří podle výživových doporučení renomovaných odborných společností mezi preferované zdroje omega 3 mastných kyselin a drůbež je obecně upřednostňována v konzumaci před masem hovězím a vepřovým, stejně jako maso libové před masem tučným (s výjimkou u ryb). To Pyramida výživy pro děti vůbec nezohledňuje. Strava dětí podle této pyramidy bude deficitní vzhledem k příjmu esenciálních mastných kyselin, které hrají významnou roli z hlediska růstu a vývoje dětí.

Pyramida Harvardovy university umístila oleje v souladu s výživovými doporučeními do stejné úrovně jako zeleninu, ovoce a celozrnné obiloviny, což může být pro někoho překvapením⁵. To však odpovídá doporučenému počtu porcí v rámci denní konzumace. Máslo je umístěno ve vrcholu pyramidy. V pyramidě se z hlediska četnosti konzumace rovněž rozlišují různé zdroje bílkovin a v nich obsažených tuků. Na třetí úrovni jsou umístěny ryby, vejce, drůbež, stejně jako ořechy, semena, fazole a tofu a ve vrcholu potom maso vepřové, hovězí a skopové pod obvyklým anglosaským označením „červené maso“.

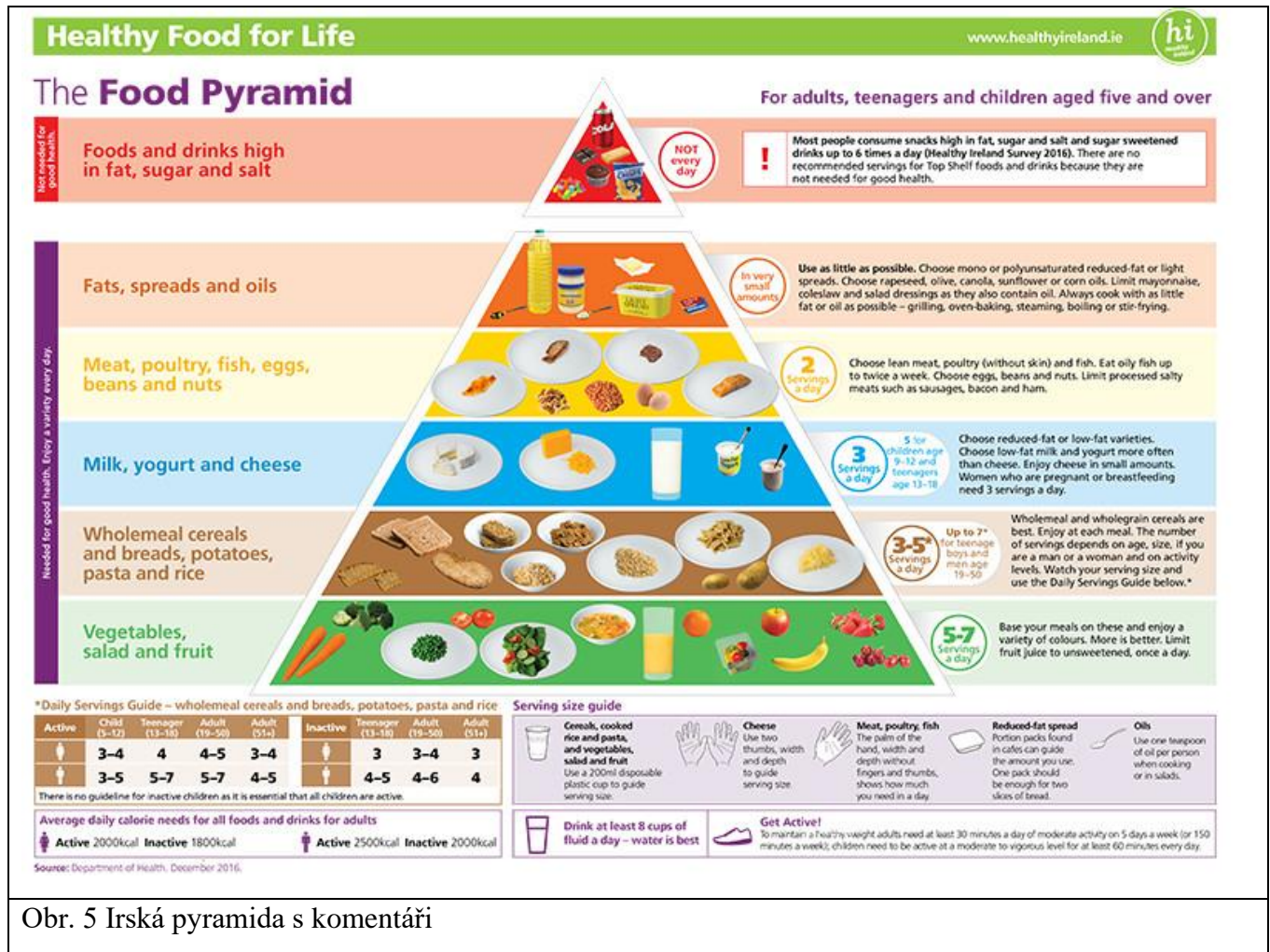


Obr. 4 Pyramida Harvardovy university

Nejednoznačnost komunikace týkající se doporučeného množství tuků můžeme dokumentovat na příkladu irské pyramidy⁶. Irská pyramida řadí tuky do patra pod vrcholem. U tuků je doporučována konzumace v omezeném množství, zatímco ostatní potraviny ve spodních patrech jsou doporučovány ve formě porcí. Směšovat doporučovaná množství a počty porcí není v souladu s koncepcí tvorby potravinových pyramid. Význam konzumace tuků s příznivým složením mastných kyselin není tímto způsobem náležitě zdůrazněn. Irská pyramida je k dispozici ve 3 verzích:

- bez komentáře
- s komentářem k jednotlivým patřům pyramidy
- s tímto komentářem spolu s definicí velikosti porcí (obr. 5).

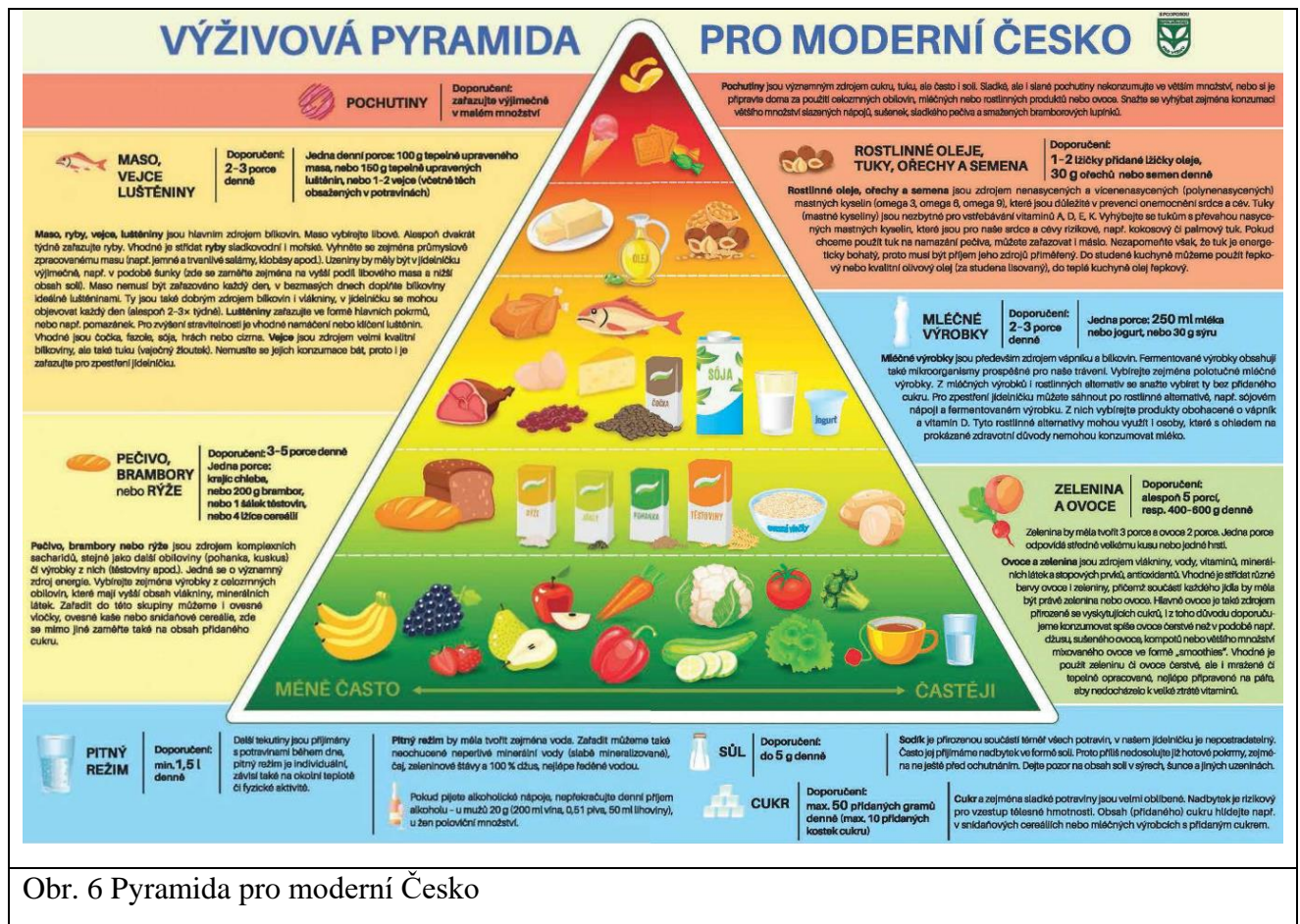
Rozmístění potravin v rámci pyramidy je ve všech verzích shodné. Pokud použije běžný spotřebitel pouze jednoduchou verzi bez dalších detailnějších informací, může dojít k zcela odlišným závěrům. U tuků v plné verzi s komentářem je doplněno vysvětlení, že by se měly přednostně používat roztíratelné tuky s převahou mono- a polynenasycených mastných kyselin, stejně jako oleje řepkový, olivový, slunečnicový a kukuřičný. Omezována by měla být konzumace majonézy a upřednostňovány by měly být kulinární úpravy používající méně tuku. Jednoduchá verze irské pyramidy tento popis nemá a běžný spotřebitel může nabýt dojmu, že mezi tuky není rozdíl.



Obr. 5 Irská pyramida s komentáři

S podobnými problémy se potýká i Pyramida pro moderní Česko publikovaná v roce 2021⁷. Všechny tuky jsou umístěny v jedné úrovni pod vrcholem pyramidy. Doporučení pro tuky má množství charakter, zatímco ostatní potraviny v pyramidě jsou prezentovány v porcích. Doporučovány jsou 1 až 2 lžičky oleje nebo 30 g ořechů. Preference mezi jednotlivými tuky jsou zdůrazněny jen v komentáři, a to navíc ne zcela srozumitelně. Vyhýbat bychom se měli tukům s převahou nasycených mastných kyselin. Jako příklad jsou uvedeny kokosový a palmový tuk, na chleba si však můžeme mazat máslo, aniž by bylo specifikováno tolerované množství. Máslo se svým složením podobá tropickým tukům. Proto pro něj platí podobná doporučení, respektive omezení. Ta však v pyramidě formulována nejsou.

Z uvedeného srovnání vyplývá, že potravinové pyramidy sice poskytují spotřebiteli grafickou názornost, které potraviny konzumovat častěji, nicméně, jak vyplývá z výše zmíněných příkladů, některá zjednodušení v pyramidách způsobují ne zcela jasnou interpretaci z pohledu detailnějšího výběru potravin v rámci příbuzných nebo stejných potravinářských komodit. Nejvíce rozdílů je u tuků nebo potravin, v nichž tuky tvoří významný podíl.

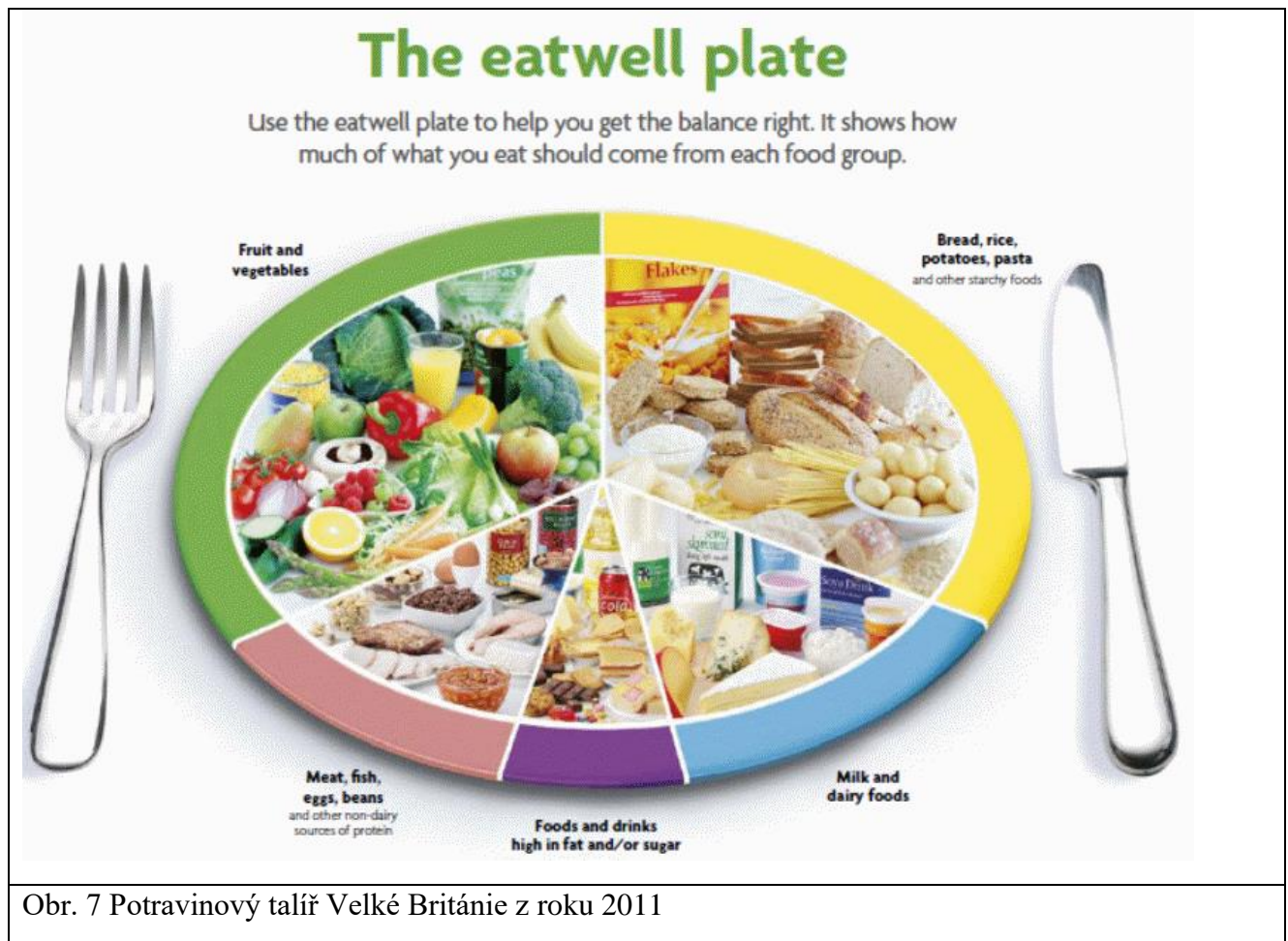


Obr. 6 Pyramida pro moderní Česko

Potravinové talíře

Koncept potravinového talíře pochází z USA, kde jej představilo tamní ministerstvo zemědělství (USDA – United States Department of Agriculture) v roce 2011 pod názvem My Plate. Jak se ukazuje, i potravinové talíře vyžadují komentáře, jinak se v rámci grafického zjednodušení ztrácí pro spotřebitele důležité informace. Jako ukázka může sloužit anglický potravinový talíř používaný od roku 2009, který procházel vývojem z hlediska doprovozného textu, až byla v roce 2016 přepracována i grafika. Z prostého talíře (Eatwell Plate)⁸ se stal ucelený návod na správnou skladbu stravy (Eatwell Guide)⁹.

Jaké jsou rozdíly mezi talířem z roku 2016 a jeho předchozí verzí? Z aktualizovaného talíře zmizela výšeč potravin a nápojů s vysokým obsahem tuku a cukrů. Produkty tohoto typu byly umístěny mimo talíř s poznámkou, že mohou být konzumovány méně často a v malých množstvích. Místo toho přibyla skupina olejů a roztíratelných tuků s komentářem o přednostní konzumaci výrobků z této kategorie s převahou nenasycených mastných kyselin. U mléčných výrobků přibyla poznámka preferované volby variant s nižším obsahem tuku a cukrů. U obilovin by měly být upřednostňovány celozrnné výrobky. U zdrojů bílkovin je zmíněno častější zařazování luštěnin do stravy, konzumace ryb 2 x týdně (z toho jedna tučnější) a omezování příjmu vepřového, hovězího a skopového masa a masných výrobků. Tyto rozdíly opět demonstrují, že samotná grafika nestačí na to, aby se běžnému spotřebiteli dostala ucelená informace, jak si poskládat vlastní jídelniček. Důležité jsou komentáře týkající se tuků, jaké omezovat a jaké preferovat, ať už se jedná o tuky skryté, obsažené v mase nebo mléčných výrobcích, nebo tuky viditelné, používané při přípravě pokrmů.



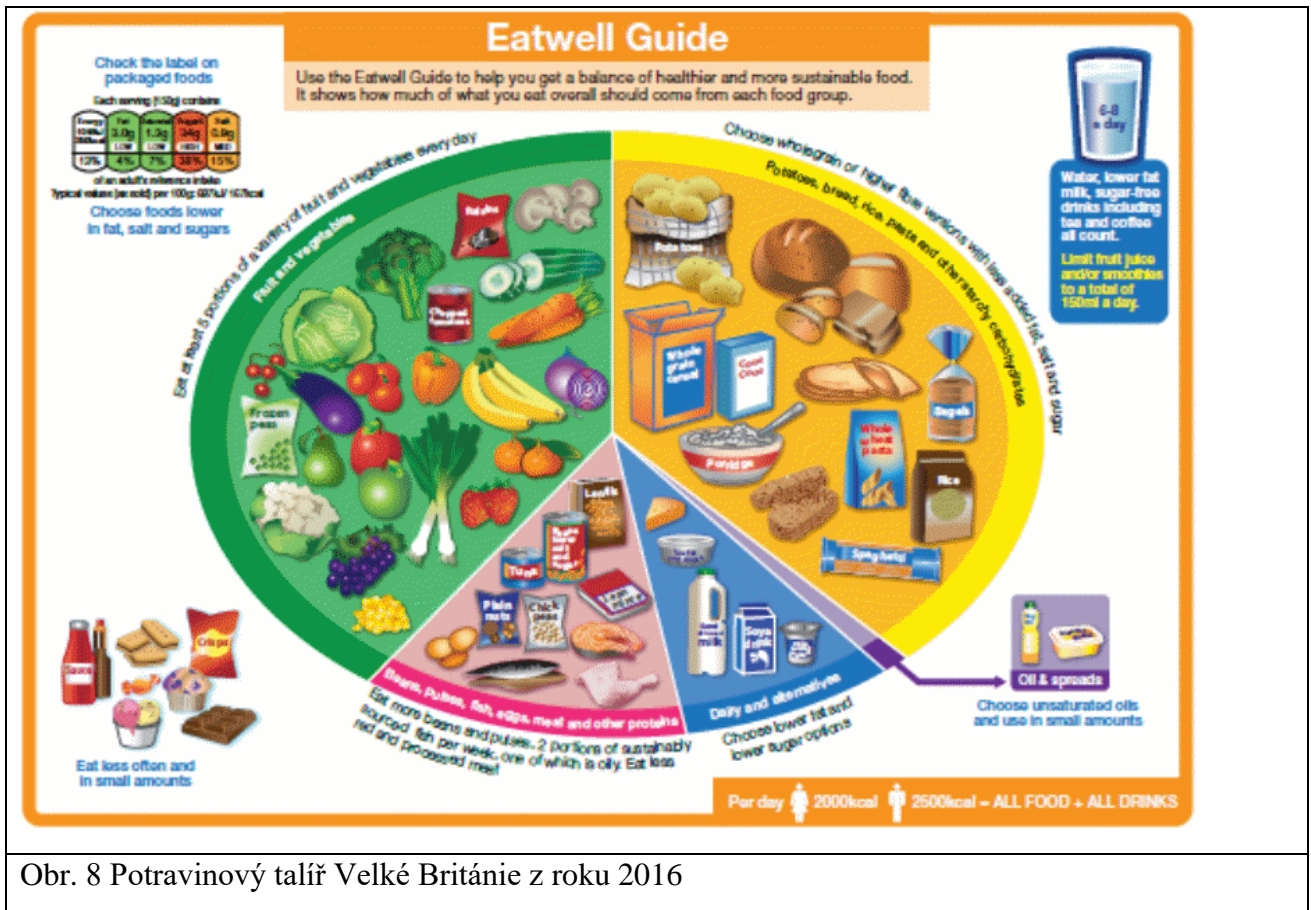
Obr. 7 Potravinový talíř Velké Británie z roku 2011

Trojrozměrná pyramida DGE

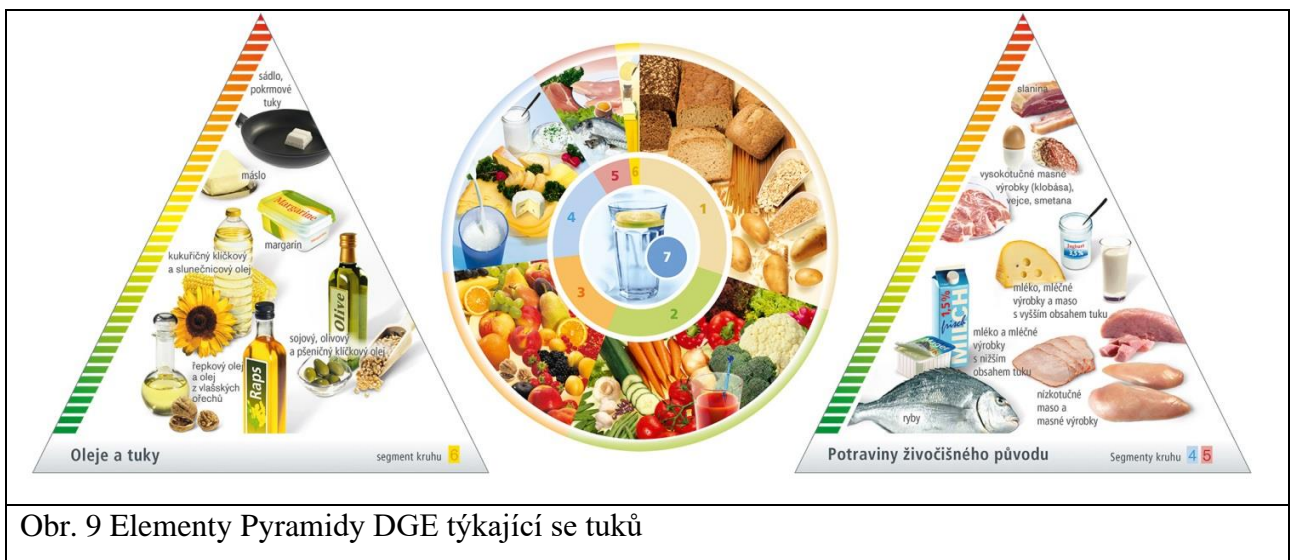
Německá společnost pro výživu DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V.) přišla se zajímavým přístupem, který slučuje koncept pyramidy a talíře do jednoho grafického vyjádření¹⁰. Tím je jehlan, jehož stěny tvoří 4 trojúhelníky a čtvercová základna. Potraviny jsou rozděleny do 4 skupin a 7 podskupin na:

- potraviny rostlinného původu (zelenina, ovoce, výrobky z obiloviny a brambor)
- potraviny živočišného původu (mléko a výrobky z něj, maso a masné výrobky)
- tuky a oleje
- nápoje

Každá stěna jehlanu ukazuje, co bychom měli v rámci těchto skupin jíst častěji a co naopak omezovat. Platí pravidla obvyklá pro potravinové pyramidy: potraviny v dolní části stěny jehlanu jsou považovány za přednostně doporučované, potraviny v horní části bychom měli spíše omezovat. Barevný pruh po straně znázorňuje hodnocení nutriční kvality každé potraviny. Pro uspořádání potravin v rámci čtyř stran pyramidy se pro každou skupinu potravin používají odlišná kritéria hodnocení. Potraviny na různých stranách pyramidy nejsou z hlediska výživové kvality vzájemně srovnatelné. Díky rozdělení potravin do jednotlivých skupin a podskupin je odstraněn problém různých velikostí porcí pro tuky a oleje oproti ostatním potravinám. V základně jehlanu je vyobrazen kruh, který ukazuje, jaký by měl být podíl jednotlivých skupin a podskupin potravin uvedených na stěnách jehlanu v rámci celkové stravy. Zde se již nejedná o porce, ale o celkové množství potravin. Obr. 9 ukazuje základnu jehlanu trojrozměrné pyramidy DGE, stěnu jehlanu pro tuky a olej a stěnu jehlanu pro potraviny živočišného původu.



Obr. 8 Potravinový talíř Velké Británie z roku 2016



Obr. 9 Elementy Pyramidy DGE týkající se tuků

Jak je možné vidět na základně pyramidy DGE, tuky zaujímají v rámci stravy relativně malý podíl, podobně jako v případě potravinového talíře Velké Británie (obr. 8). Důležitou informací pro spotřebitele je poměr potravin rostlinného a živočišného původu a dílčích podskupin, které utvářejí vyváženou stravu. Podíl rostlinných a živočišných potravin se v rámci různých jednoduchých, výše diskutovaných pyramid často vytrácí. Tyto pyramidy postrádají některé prvky pro komplexní edukaci. Velmi důležité je, jaké tuky a oleje konzumujeme. To ukazuje pyramida (stěna jehlanu) pro tuky a oleje. Řepkový olej spolu s olejem z vlašských ořechů patří mezi nejvíce preferované. Na vrcholu pyramidy jsou

pokrmové tuky nebo sádlo používané na smažení. Z hlediska doporučené konzumace tuků je důležitá i stěna jehlanu znázorňující potraviny živočišného původu. V základně pyramidy jsou ryby a libové maso. Upřednostňovány jsou i mléčné výrobky s nižším obsahem tuku. V horní části pyramidy jsou masné výrobky s vysokým obsahem tuku a uzeniny.

Pyramida DGE vyřešila řadu problémů, které jednoduché pyramidy nebo talíře nejsou schopné postihnout. Tuky by měly být v rámci pestré a vyvážené stravy konzumovány v relativně malém množství. Speciální pyramida (strana jehlanu) pro tuky a oleje na druhou stranu názorně ukazuje, jaké tuky preferovat a jaké omezovat. Tím je zároveň vyřešen problém velikosti porce pro tuky, která je významně nižší než u ostatních potravin. Pyramida (strana jehlanu) pro živočišné produkty zase postihuje obsah a složení tuků v jednotlivých produktech a grafické vyjádření je v souladu se slovně formulovanými doporučeními.

Závěr

I když se slovně formulovaná výživová doporučení založená na skupinách potravin od sebe významně neliší, jejich grafická vyjádření vedená snahou je zjednodušit a prezentovaná formou potravinových pyramid nebo talířů vykazují významné rozdíly. Ty se asi nejvíce projevují v tom, jakým způsobem jsou v těchto formátech komunikovány tuky. Spotřebitel se následně obtížně orientuje v rámci těchto doporučení a neví, jaké tuky přednostně konzumovat a jaké naopak omezovat. Přílišné zjednodušení může být proto na škodu z hlediska edukace obyvatel. Trojrozměrná pyramida DGE není složitá na pochopení a zapamatování. Umožňuje vysvětlit některé detaily, které jednoduché pyramidy nejsou schopny postihnout.

Příspěvek vznikl za finanční podpory z prostředků Ministerstva zemědělství v rámci projektu “Edukace ohledně mastných kyselin – klíč k pochopení problematiky tuků”

Literatura

1. Ministerstvo zdravotnictví České republiky. Výživová doporučení pro obyvatelstvo ČR, Liberec: Geoprint 2005.
2. Report of an Expert Consultation: Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. FAO Food and Nutrition Paper 91, 2010. Dostupné na <http://foris.fao.org/preview/25553-0e4cb94ac52f9a25af77ca5cfba7a8c.pdf>.
3. Pyramida FZV. Česká potravinová pyramida 2013. Dostupné na <http://www.fzv.cz/pyramida-fzv/>.
4. Pyramida výživy pro děti. Dostupné na http://www.khsstc.cz/dokumenty/pyramida-vyzivy-pro-deti-4126_4126_86_1.html
5. Harvard School of Public Health Department of Nutrition. The Healthy Eating Pyramid. Dostupné na <https://cdn1.sph.harvard.edu/wp-content/uploads/sites/30/2012/10/healthy-eating-pyramid-huds-handouts.pdf>.
6. Department of Health. Healthy Food for Life – The Food Pyramid 2016. Dostupné na <http://www.healthyireland.ie/health-initiatives/heg/>.
7. Pyramida pro moderní Česko. Výživa a potraviny. Zpravodaj pro školní stravování 2021; 76 (1): 9-10.
8. The Eatwell Plate. Dostupné na http://www.dchs.nhs.uk/assets/public/dchs/11b/tools/tools_1-11/6_DCHS_A5_8pp_The_Eatwell_Plate.pdf
9. Public Health England. Guidance The Eatwell Guide. 2017. Dostupné na <https://www.gov.uk/government/publications/the-eatwell-guide>.
10. Pyramida DGE. Dostupné na https://www.olejnadzlatu.cz/?page_id=986

SYSTÉM ZNAČENÍ POTRAVIN NUTRI-SCORE

NUTRI-SCORE - NUTRITIONAL LABELLING SYSTEM

J. Brát

Union of Oilseed Growers and Processors

Úvod

Česká republika považuje současný stav označování nutričních údajů podle harmonizované unijní legislativy za dostačující obdobně jako Potravinářská komora ČR.

ČR podpoří zavedení nového systému označování jen v případě, že zůstane dobrovolné (tzn. na zvážení každého členského státu). Budoucí nový systém, by měl být dobrovolný, neměl by hodnotit výživovou hodnotu potraviny zjednodušeně jako celek, ale měl by podávat faktické informace o obsahu živin a energie, neměl by být diskriminační a rozdělovat potraviny do kategorií na zdravé a méně zdravé. Evropská komise by měla předložit případný legislativní návrh ve druhé polovině roku 2022.

Potravinářská komora ČR se přiklání pouze k dobrovolnému systému, případně harmonizovanému a jednotnému systému pro celou EU.

Vzhledem k silícím tlakům členských států a nadnárodních potravinářských společností na přijetí systému Nutri-Score na úrovni EU, je žádoucí se zaměřit v této chvíli i na tento výživový systém jako jednu z možných variant.

Hlubší pohled do systému Nutri-Score

Nutri-Score je systém značení výživové hodnoty potravin. Zařazuje potraviny do 5 tříd: A až E. Výstupem je logo, které je uváděno na přední straně potravin:



Tyto systémy bývají označovány zkratkou FOPL (front-of-package-labelling).

Zařazení do jednotlivých tříd vychází z výpočtu, při kterém se započítávají kladné a záporné body podle definovaného vzorce.

Kladné body se získávají podle podílu/obsahu ovoce včetně ořechů (skořápkové ovoce) a zeleniny, vlákniny a bílkovin v dané potravine (vyšší hladiny jsou považovány za příznivé pro zdraví). V každé ze 3 skupin lze získat 0 až 5 bodů, dohromady 15 kladných bodů.

Záporné body se počítají z energetické hodnoty, obsahu nasycených mastných kyselin, cukrů a sodíku (vyšší hodnoty obsahu jsou považovány za nepříznivé pro zdraví). V každé ze 4 skupin lze získat 0 až 10 bodů, dohromady 40 záporných bodů.

Systém se podobá (i graficky) energetickým štítkům používaným pro budovy nebo spotřebiče. Zásadní rozdíl však spočívá v tom, že u energetických štítků se hodnotí energie, v případě Nutri-Score se jedná o výpočet z více parametrů, který v řadě případů dává výsledky, které nejsou v souladu s výživovými doporučeními.

Příklad výpočtu:



Points	Energy (kJ)	Sugar (g)	Saturated fatty acids (g)	Sodium (mg)
0	≤ 335	≤ 4,5	≤ 1	≤ 90
1	> 335	> 4,5	> 1	> 90
2	> 670	> 9	> 2	> 180
3	> 1005	> 13,5	> 3	> 270
4	> 1340	> 18	> 4	> 360
5	> 1675	> 22,5	> 5	> 450
6	> 2010	> 27	> 6	> 540
7	> 2345	> 31	> 7	> 630
8	> 2680	> 36	> 8	> 720
9	> 3015	> 40	> 9	> 810
10	> 3350	> 45	> 10	> 900
TOTAL	1 point	0 points	0 points	7 points

8

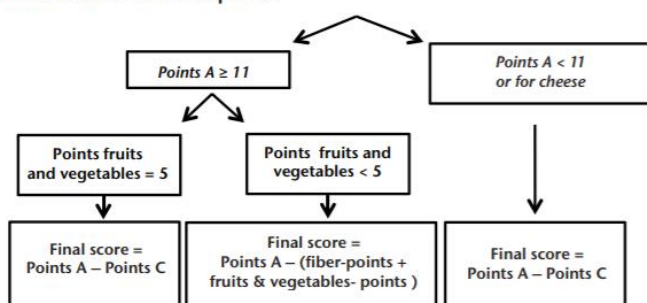
Tuky mají odlišnou stupnici pro nasycené mastné kyseliny, výpočet se liší i u nápojů:

Points	Energy (kJ)	Sugars (g)	Specific cut-offs: beverages		Saturated fat (g)	Specific cut-offs: fats		Sodium (mg)	Points	Fruits, veg (%)	Specific cut-offs: beverages		
			Energy (kJ)	Sugars (g)		Saturated fat/Lipids (%)	Fruits, veg (%)				Fiber (g)	Protein (g)	
0	≤ 335	≤ 4.5	≤ 0	0	≤ 1	< 10	< 90	0	≤ 40	≤ 40	≤ 0.7	≤ 1.6	
1	> 335	> 4.5	≤ 30	≤ 1.5	> 1	< 16	> 90	1	< 40		> 0.7	> 1.6	
2	> 670	> 9	≤ 60	≤ 3	> 2	< 22	> 180	2	> 60	> 40	> 1.4	> 3.2	
3	> 1,005	> 13.5	≤ 90	≤ 4.5	> 3	< 28	> 270	3	–		> 2.1	> 4.8	
4	> 1,340	> 18	≤ 120	≤ 6	> 4	< 34	> 360	4	–	> 60	> 2.8	> 6.4	
5	> 1,675	> 22.5	≤ 150	≤ 7.5	> 5	< 40	> 450	5	> 80		> 3.5	> 8.0	
6	> 2,010	> 27	≤ 180	≤ 9	> 6	< 46	> 540	6					
7	> 2,345	> 31	≤ 210	≤ 10.5	> 7	< 52	> 630	7					
8	> 2,680	> 36	≤ 240	≤ 12	> 8	< 58	> 720	8					
9	> 3,015	> 40	≤ 270	≤ 13.5	> 9	< 64	> 810	9					
10	> 3,350	> 45	≤ 270	> 13.5	> 10	≥ 64	> 900	10		> 80			
	0–10 (a)	0–10 (b)	0–10 (a)	0–10 (b)	0–10 (c)	0–10 (c)	0–10 (d)		0–5 (a)	0–10 (a)	0–5 (b)	0–5 (c)	
Total	Points A = (a) + (b) + (c) + (d) [0 – 40]							Total	Points C = (a) + (b) + (c) [0 – 15]				

Tuky mají odlišnou stupnici pro nasycené mastné kyseliny, výpočet se liší i u nápojů:

Kladné a záporné body jsou sečteny a podle výsledku je daná potravina zařazena do kategorie A až E dle následujících kritérií a převodní tabulky, přičemž se rozlišují kritéria pro nápoje a ostatní potraviny:

2. Final score: -15 to 40 points



3. Attribution of colors

Foods (points)	Beverages (points)	Color
min to -1	water	green
0 to 2	min to 1	light green
3 to 10	2–5	yellow
11 to 18	6–9	orange
19 to max	10 to max	dark orange

NUTRI-SCORE



Green: highest quality

Red: lowest quality

Historie

Výpočet vychází z návrhu anglické Food Standards Agency, která sestavila výživový profil potravin a nápojů na základě obsahu živin ve 100 g příslušného produktu.

Se zavedením výživových profilů v minulosti počítalo rovněž nařízení (ES) č. 1924/2006 o výživových a zdravotních tvrzeních. Cílem používání výživových profilů podle tohoto nařízení bylo spojit možnost použití příslušných schválených tvrzení s určitými definovanými výživovými vlastnostmi potravin a vyhnout se situaci, kdy výživová nebo zdravotní tvrzení zastírají celkovou výživovou hodnotu potraviny. To by mohlo klamat spotřebitele, kteří se v rámci vyvážené stravy snaží vybírat si potraviny s příznivou výživovou hodnotou. Výživové profily podle tohoto nařízení byly určeny výhradně pro stanovení okolností, za kterých mohou být tvrzení uváděna. Měly být založeny na obecně přijímaných vědeckých údajích týkajících se vztahu mezi stravou a zdravím. Jak stojí v příslušném nařízení, profily měly také umožnit inovaci produktu a zohlednit různorodost stravovacích návyků, tradic a skutečnost, že jednotlivé produkty mohou hrát v celkové stravě důležitou úlohu.

Při stanovování výživových profilů se mělo přihlížet k obsahu různých živin a látek s výživovým nebo fyziologickým účinkem, zejména látek, jako jsou tuky, nasycené tuky, transmastné kyseliny, sůl/sodík a cukry, jejichž nadměrný příjem v celkové stravě se nedoporučuje, a polynenasycené a mononenasycené tuky, využitelné sacharidy jiné než cukry, vitaminy, minerální látky, bílkoviny a vláknina. Při stanovování výživových profilů by se mělo přihlížet k různým kategoriím potravin a k místu a úloze těchto potravin v celkové stravě. Pro některé potraviny nebo kategorie potravin může být v závislosti na jejich úloze a významu při stravování obyvatel nezbytné stanovit výjimky z požadavku dodržovat stanovené výživové profily. Záměr stanovit výživové profily v rámci tohoto nařízení se nepodařilo naplnit. Ukazuje se, že sestavit výživové profily, aby odpovídaly výše uvedeným požadavkům, není jednoduché.

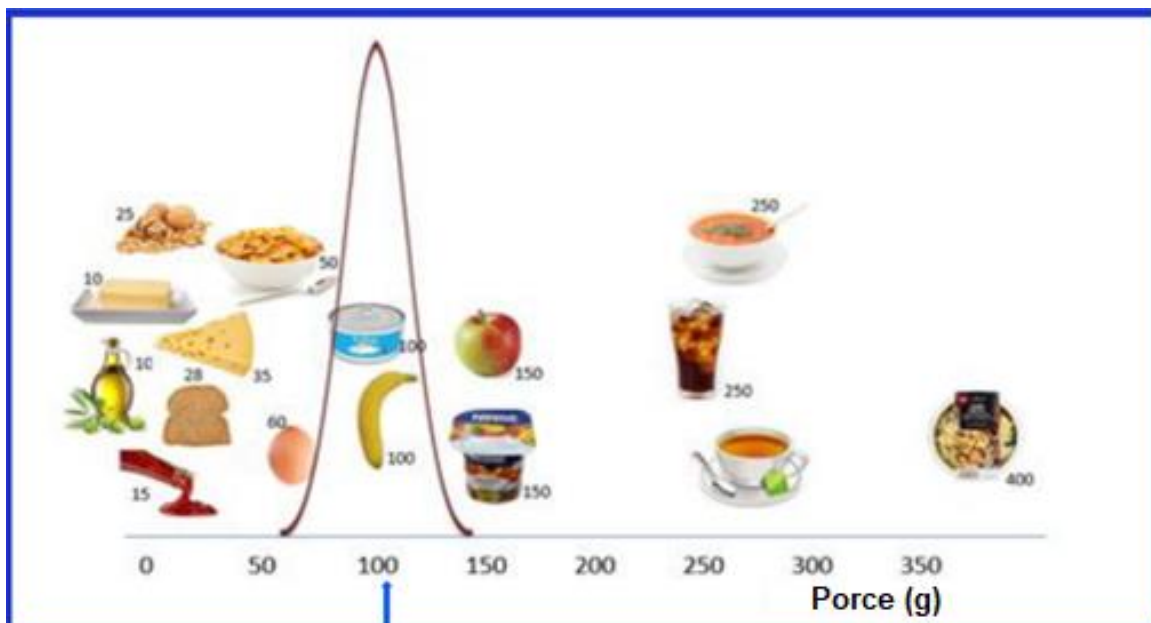
Na myšlenku anglické Food Standard Agency navázal francouzský Conseil supérieur d'hygiène publique a podle navrženého algoritmu vypočítal profil potravin, které byly dostupné v lokální databázi. Ukázalo se, že výsledky pro některé druhy potravin jsou zcela zcestné. Proto byly kromě základního profilu stanoveny specifické profily pro skupinu nápojů, tuků a sýrů.

Výhody a nevýhody systému

Výhodou je transparentní systém aplikovaný na různé potraviny bez rozdílu na základě jednotného výpočetního vzorce. Výpočet vychází jen ze 7 parametrů, z nichž většina je součástí informace uvedené na obalech a další lze dohledat ze specifikace výrobku a složení. Výsledek vede k jednoznačnému zařazení potraviny do jedné z kategorií. Další výhodou je, že v systému není příliš výjimek, které by bylo nutné vzít v úvahu při zařazování do příslušné

kategorie. I když určité odlišnosti výpočtu byly v průběhu vývoje systému zakomponovány do obecných kritérií jako např. kritéria pro tuky nebo sýry.

Nevýhodou je, že charakter potraviny do značné míry předurčuje, v kterých kategoriích A až E se může daná potravina nacházet. Tím se do jisté míry dělí potraviny na zdravé a nezdravé, nezohledňuje se vliv konzumovaného množství potraviny na zdraví. Autoři systému se to snaží vyvracet, že to není účelem tohoto systému, ale některé potraviny ze své podstaty nedosáhnou na kritéria pro zařazení do vyšší kategorie, přitom jsou z hlediska zdraví ve stravě nepostradatelné a o vlivu na zdraví rozhoduje jejich konzumované množství. Systém Nutri-Score vůbec nezohledňuje obsah minoritních živin (vitaminů a minerálních látek) ani jejich využitelnost. Mikronutrienty jsou částečně nepřímo započítávány pouze v kladných bodech z podílu zeleniny či ovoce. Např. vápník v mléčných výrobcích není zohledněn vůbec. Přitom sýry jsou významným zdrojem vápníku. Potraviny obsahující ovoce a zeleninu dostávají kladné body vlastně dvakrát za ovoce a zeleninu a vlákninu. Systém Nutri-Score se hodí k porovnání výrobků v rámci jedné kategorie nebo výrobků, které se konzumují podobným způsobem. V systému se upřednostňuje rostlinná strava. Ta má obecně méně rizikových živin, ale nebere se v úvahu přítomnost přírodních toxických a antinutričních látek a také neplnohodnotných bílkovin. Systém Nutri-Score nezohledňuje průmyslové zpracování. Z epidemiologických studií vyplývá, že konzumace vysoce zpracovaných potravin zvyšuje rizika výskytu neinfekčních onemocnění hromadného výskytu. Otázkou je, zda existuje vždy prokazatelná příčinná souvislost s průmyslovým zpracováním nebo příčina spočívá ve výživové hodnotě potravin. Nejsou zohledněny velikosti porce. Každá skupina potravin má svoji typickou velikost porce.

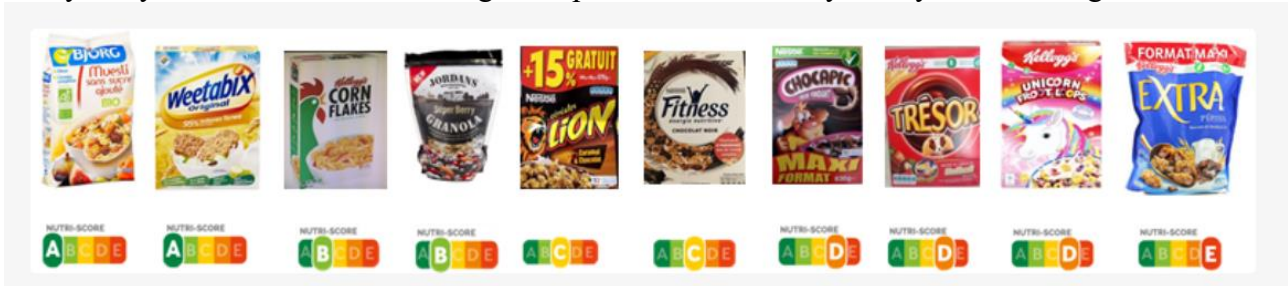


Profily jsou postaveny jako bychom všechny potraviny konzumovali stejně. Někteří obhájci systému Nutri-Score tvrdí, že stanovit velikost porce je obtížné. Nicméně zohlednit velikost porce lze i nepřímo uspořádáním výživových profilů pro specifické skupiny potravin. Takto pracují i jiné systémy FOPL. Tvůrci systému Nutri-score se z existujících systémů nepoučili. Vůbec nelze navzájem srovnávat výrobky z jiných kategorií. Pokud by si chtěl spotřebitel vybírat výrobky jen z kategorií A či B (zelené kategorie), nemusí být strava vyvážená a může být z hlediska některých živin i deficitní. Význam kategorie, do níž je výrobek zařazen, nelze absolutizovat. Spotřebitel by neměl nabýt dojmu, že si vystačí v rámci stravy jen s výrobky v zelených kategoriích A a B. To je hlavní nevýhodou systému. Kategorie A až E jako taková

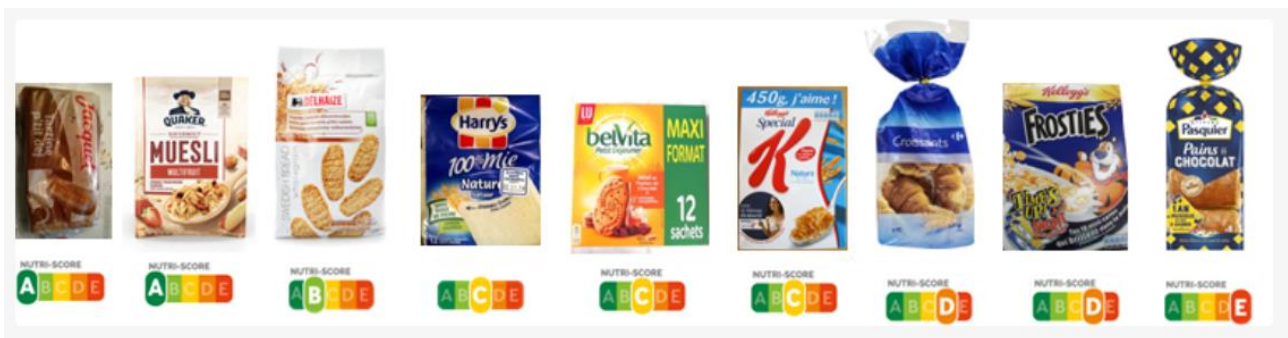
ve vztahu ke zdraví nemá jasnou vypovídající schopnost, musí být vždy provázána s úrovní konzumace, což systém nenabízí.

Příklady výhod a nevýhod systému

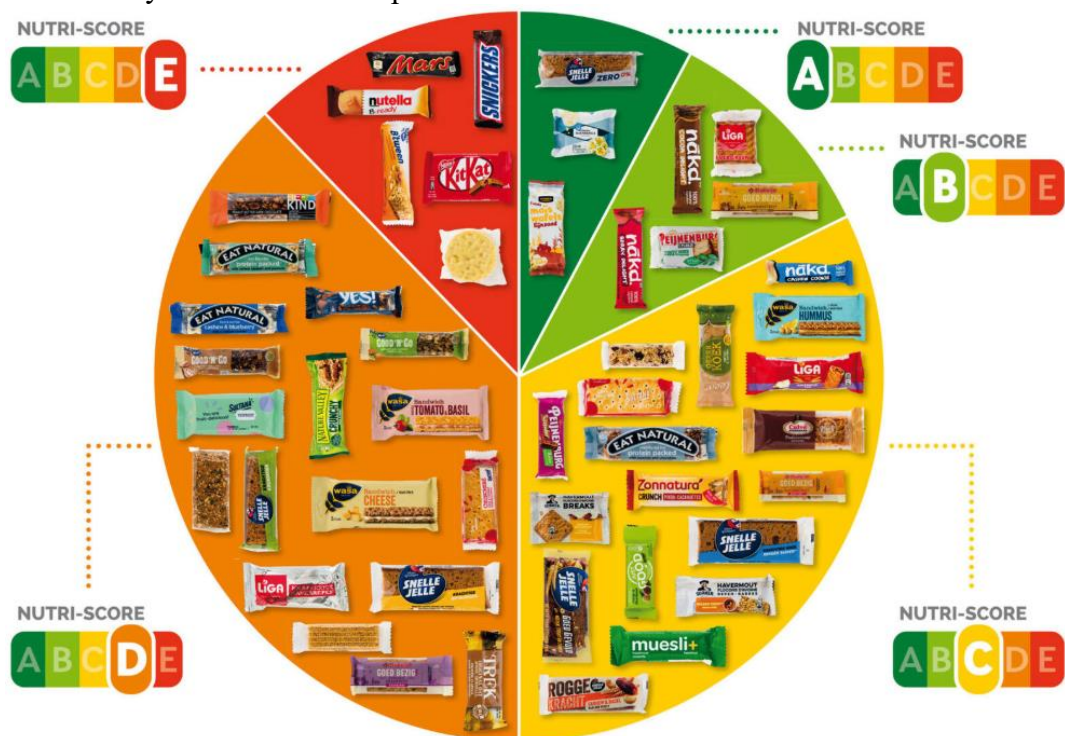
1. V skupině snídaňových cereálií můžeme jasně rozlišit výrobky s lepší výživovou hodnotou. Výrobky lze zařadit do všech kategorií. Spotřebitel si může vybrat výrobek z kategorie A.



2. U výrobků, které sice nejsou ze stejné kategorie, ale konzumují se při stejné příležitosti, je srovnání mezi potravinami rovněž na místě. Celozrnný chléb a některé druhy müsli jsou vhodnější ke snídani než jiné výrobky z kategorie jemného pečiva. Výrobky opět spadají do všech kategorií. Spotřebitel může vybírat z kategorie A.



3. Srovnání různých snacků rovněž přináší užitek.



4. Částečný smysl dává i označování nápojů. Nealkoholické nápoje jsou významným přispěvatelem příjmu přidaných cukrů. Spotřebitel si opět může vybrat ze všech kategorií výrobků.



5. Na druhou stranu Německá asociace výrobců cukru prosazuje logo znázorňující obsah energie jako vhodnější nástroj v boji proti obezitě. Z příkladu na obrázku vyplývá porovnání dvou nápojů s rozdílným obsahem energie, kde nápoj s nižší energetickou hodnotou je zařazen do třídy E a vyšším obsahem energie do třídy B. Nutri-Score systém je označen jako past na spotřebitele.

<https://www.foodnavigator.com/Article/2019/08/16/NutriScore-is-a-consumer-trap-Industry-group-calls-for-front-of-pack-calorie-logo>



6. Coca-Cola Zero, Red Bull a Pepsi Max Zero jsou zařazeny do třídy B.

Energetické nápoje by neměly být zařazovány do zelené kategorie. Budí to dojem, že jejich konzumace je zdraví prospěšná. Tyto nápoje by neměly být konzumovány dětmi, mladistvými, těhotnými a kojícími ženami, před a po vyšší fyzické zátěži, před spaním a v kombinaci s alkoholem.

Nápoje se sladidly vycházejí ve výpočtech v preferovaných zelených kategoriích. Názory na použití nízkoenergetických sladidel v potravinách, zejména v nealkoholických nápojích se různí. Mezinárodní sdružení výrobců sladidel vypracovala poziční dokument podporující význam sladidel:

<https://www.sweeteners.org/latest-science-post/sugar-reduction-and-low-no-calorie-sweeteners-policies-evidence-and-dietary-practice/>

Existují i opačné názory. Přehledové práce z poslední doby poukazují na nutnost pokračovat ve výzkumu této problematiky. [*Effects of Sweeteners on the Gut Microbiota: A Review of Experimental Studies and Clinical Trials \(nih.gov\)*](#). Mezinárodní sdružení výrobců sladidel rovněž nezmiňuje, že konzumací nízkoenergetických sladidel si organismus zvyká na sladkou

chuť. Cukr, jehož příjem se omezí v nealkoholických nápojích, se často konzumuje v jiných potravinách.

Spotřeba cukru v České republice dle posledních údajů Českého statistického úřadu neklesá.



elaboración sinAzucar.org - fuente openfoodfacts.org

POTRAVINY A NEALKOHOLICKÉ NÁPOJE	Měšci jednotka Unit	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Index 2019/2018
CUKR, CUKROVINKY, CUKRÁŘSKÉ VÝROBKY												
Cukr	kg	36,0	38,6	34,5	33,4	31,7	33,6	34,1	34,9	34,8	35,0	100,5

7. Na druhou stranu u šunek je značení Nutri-Score už problematické. Šunky mají z masných výrobků nejlepší výživovou hodnotu. Zařazením však spadají do kategorií C až E hlavně kvůli obsahu soli. Z masných výrobků získáváme železo, které je podle nedávného monitoringu saturace železem SZÚ u našeho obyvatelstva, zejména u žen, nedostatkové.



Podobně jsou na tom sýry, které jsou většinou v kategorii D. Některé s vyšším obsahem soli a nasycených mastných kyselin i v kategorii E. Některé čerstvé sýry mohou spadat do kategorie C. Sýry jsou zdrojem vápníku, který není v rámci výpočtů zohledňován. Sýry se na celkovém příjmu vápníku se z jednotlivých potravin podílejí nejvýrazněji, a to cca 21 %. Za nimi těsně následuje konzumní mléko s 20 % a dále ostatní mléčné výrobky s 15 %. Podíl příjmu vápníku získaný z mléka a mléčných výrobků na jeho celkovém příjmu tedy představuje cca 56 %. Šunka obsahuje plnohodnotné živočišné bílkoviny, stejně jako sýry. To, že nejsou sýry zastoupeny v zelených kategoriích A a B by se dalo vykládat, že nepatří mezi potraviny

doporučené ke konzumaci. Červená barva může odradit od konzumace výrobků, které při konzumaci v mírném množství doplní vhodné nedostatkové živiny např. tvrdé sýry vápník, masné výrobky železo.

Pro sýry, aby neskončily ještě hůře, musela být upravena i metoda výpočtu.

Itálie namítá, že systém Nutri-Score je zaměřen proti tradičním výrobkům vysoké jakosti, jako je parmská šunka, prosciutto, parmezán, gorgonzola apod. Tradiční výrobky mají vysoký obsah soli, případně nasycených mastných kyselin. Vliv na zdraví je dán konzumovaným množstvím a frekvencí konzumace. Zařazení do nejhorší kategorie z hlediska výživy tyto výrobky diskriminuje, občasná konzumace v nízkých dávkách v rámci vyvážené stravy nemá negativní dopady na zdraví.

<https://theconversation.com/front-of-pack-nutrition-labels-the-parmesan-and-prosciutto-war-116962>

8. Itálie vytvořila příklad dokladující zcela matoucí informaci, kterou dostává spotřebitel při konzumaci tradičního pokrmu těstovin s olivovým olejem a tradičním sýrem. Správnost výpočtu byla ověřena s využitím výživových údajů v databázi NutriPro.

	Energie	Tuky	SAFA	Sacharidy	Cukry	Vláknina	Bílkoviny	Sůl	Nutri-Score
	kJ/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	
Těstoviny semolinové 100 %	1583	2,0	0,3	67,2	1,7	6,0	12,5	0,02	A
Parmigiano reggiano přírodní polotučný sýr	1639	28,4	18,7	0,0	0,0	0,0	33,0	1,67	D
Olej olivový	3713	100,0	13,8	0,0	0,0	0,0	9,0	0,01	D
Těstoviny nevařené se sýrem a olejem	1948	22,7	5,6	44,8	1,1	4,0	15,3	0,29	C
Těstoviny vařené (YF2,1) se sýrem a olejem	1124	13,1	3,2	25,8	0,7	2,3	8,8	0,17	A

První 3 řádky představují výživové hodnoty surovin v g/100 g. Čtvrtý řádek je přepočtené suroviny (80 g těstovin, 20 g sýru, 20 g oleje) v receptuře na 100 g. Pátý řádek představuje uvařený pokrm s využitím tabulek výtěžnostního faktoru dle Bognara. Olivový olej primárně spadá do kategorie D, stejně jako tradiční sýr Parmigiano reggiano. Spotřebitel by se jim měl tudíž spíše vyhýbat. Nicméně, jak ukazuje výpočet, pokrm z těchto surovin připravený je zařazen do kategorie A. Tento příklad zároveň osvětluje, že se i příprava pokrmů výrazně promítá do výsledné klasifikace. Hypotetická směs surovin před přípravou je v kategorii C, Přidáním vody, která má nulový obsah živin, potřebné k hydrataci těstovin, se připravený

pokrm přesune do kategorie A. Edukační přínos značení potravin vyplývající z tohoto příkladu je nulový.

9. Ryba patří mezi preferované potraviny v rámci výživových doporučení. Doporučuje se konzumovat ryby 2x týdně, z toho alespoň jednu tučnou. Simulace s využitím dat z databáze Nutri-Pro a kalkulatoru Nutri-Score ukazuje, že tučné čerstvé ryby vycházejí v kategorii B, což neodpovídá výživovým doporučením. Sardinky v oleji spadly do kategorie C, i když je složení mastných kyselin stále příznivé a obsah soli není vysoký.

	Energie	Tuky	SAFA	Sacharidy*	Cukry	Vláknina	Bílkoviny	Sůl	Nutri-Score
	KJ/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	zákl. profil
Sleď tichomořský syrový, průměr	819	13,9	3,3	0,0	0,0	0,0	16,4	0,19	B
Sleď atlantský syrový, průměr	664	9,04	2,04	0	0	0	17,96	0,23	A
Makrela atlantská syrová, průměr	864	13,89	3,26	0	0	0	18,6	0,23	B
sardinky v oleji	1300	25,1	2,8	0	0	0	19,6	1,28	C

Příklady z praxe ukazují i ještě horší zařazení rybích výrobků do jednotlivých kategorií.



Ryby a rybí výrobky nemají zjevně dobře nastavený výživový profil a nelze je počítat podle profilu základního.

10. Mezi kategorie, kde Nutri-Score nepodává spotřebiteli dobře pochopitelnou informaci o nutriční hodnotě, jsou tuky. Tuky mají vysoký obsah energie, za což dostávají plný počet 10 negativních bodů. Tuky už z podstaty, tak jak jsou kritéria v současnosti nastavena, nemohou získat žádné pozitivní body a to je špatně. Kvůli tukům musela být nakonec následně zavedena specifická tabulka pro nasycené mastné kyseliny v %, jinak by v podstatě všechny spadly do kategorie E. Nutriční hodnotu tuků (skóre) může paradoxně vylepšit voda v roztíratelných tucích. Čím vyšší je obsah vody, tím je nižší energetická hodnota a výrobek získává méně negativních bodů za energii. Vůbec není zohledněno, namažu-li si na chléb tenčí vrstvu tučnějšího výrobku nebo tlustší vrstvu tuku s nižším obsahem tuku. Nutri-Score v tomto směru nereflktuje výživová doporučení, kde cílová konzumace tuků se posouvá k vyšším hodnotám a nízký příjem tuku není již delší dobu podporován. Živočišné tuky a tropické tuky spadají do kategorie E, zatímco oleje a roztíratelné tuky do kategorie C a D, a to i ty, které jsou svým složením doporučovány k prevenci kardiovaskulárních onemocnění.

11. HAK – jablečná omáčka je zařazena do Nutri-Score třídy A. Přitom obsahuje 1,5 více cukru než Coca-cola. Ve výživových doporučeních nemají produkty ze zpracovaného ovoce stejnou vázu jako ovoce samotné. Ve zpracovaném ovoci vyniká vyšší podíl cukru, což vede k jeho vyšší konzumaci. To Nutri-score nezohledňuje.

<https://twitter.com/davidvanbodegom/status/1169641090414186496>



12. Paradoxně působí i srovnání potravin ze zcela odlišných kategorií. Obhájci systému Nutri-score tvrdí, že nelze srovnávat různé potravinové kategorie mezi sebou, ale běžný spotřebitel toto bude dělat, tak jako tak. Zelená barva bude pro něj vždy správně a červená špatně bez ohledu na kategorii.

Spotřebitel těžko chápe, že Coca-Cola Zero má lepší celkové hodnocení než olivový olej.



https://www.lespanol.com/ciencia/nutricion/20181113/coca-cola-zero-aceite-semaforo-sanidad-empieza-polemica/352965029_0.html

Čokoládová zmrzlina je lepší než losos.

It seems that **Nutriscore** does not look at the amount of nutrients, but the way they are scored according to their nutrient levels. So chocolate mousse ice cream gets a a better score than smoked salmon (example from Belgium)



<https://twitter.com/julianmellent/status/1068792412988858368>

Medové kuličky jsou lepší než losos



<https://twitter.com/fleroy1974/status/1097842403506089984>

Hranolky patří mezi nejzdravější potraviny třídy A. Potraviny, které se kulinárně zpracovávají smažením, výrazně změni výživovou hodnotu.



Chipsy jsou zařazeny do podporované třídy B.



<https://twitter.com/fleroy1974/status/984344635958054912>

13. Zemský soud v Hamburku vydal v dubnu 2019 výrobcí mražených potravin Iglo předběžné opatření zakazující používat systém Nutri-Score. Podle rozhodnutí soudu se jedná o zdravotní tvrzení nikoliv jen o pouhé označování výživových hodnot. Veškerá zdravotní tvrzení musí být schválena a publikována ve věstníku právních předpisů EU. Firma Iglo oznámila, že se bude odvolávat.

<https://www.spiegel.de/wirtschaft/service/nutri-score-bei-iglo-gericht-stoppt-naehrwertkennzeichnung-a-1263159.html>

14. Vlastní simulace ukazuje zavádějící značení surovin v případě použití při přípravě pokrmů v domácnosti. Flora Originál a krůtí prsní šunka LE-CO vycházejí v systému Nutri-Score v kategorii C. Spotřebitel by se měl spíše vyhýbat výrobkům v kategorii C. Použijeme-li je při přípravě svačiny nebo snídaně podle následujícího receptu, je obložený chléb v kategorii A. Z tohoto pohledu je Nutri-Score vhodnější k výpočtům hodnot připravovaných pokrmů než pro označování potravin, které samostatně nekonzumujeme. To platí např. pro sýry, masné výrobky a tuky. Spotřebitel dostává při nákupu informaci o nevhodnosti těchto potravin, avšak doma si z nich připraví chutný a nutričně hodnotný pokrm.

avokádový sendvič				1,0	porce	pokrm určené k přesnídávkě, k lehkému obědu				
Surovina	množství	Energie (kcal)	bílkoviny (g)	sacharidy (g)	cukry (g)	tuky (g)	SAFA (g)	TFA (g)	vláknina (g)	sodík (mg)
chléb pšenično žitný, celozrnný prů	120	248,7	8,7	49,1	1,1	1,6	0,7		9,1	506,4
Flora originál	10	39,9	0,0	0,0	0,0	4,5	1,1	0,0	0,0	20,6
Šunka krůtí prsní LE&CO	60	52,2	10,3	0,8	0,1	0,8	0,2	0,0	0,0	420,0
Avokádo syrové, jedlý podíl	40	64,1	0,8	3,4	0,3	5,9	0,9	0,0	2,7	2,8
Rajče červené, zralé, syrové	50	9,0	0,4	2,0	1,3	0,1	0,0	0,0	0,6	2,5
Celkem	280	414	20,3	55,3	2,8	12,8	2,9	0,0	12,4	952,3
100 g	100	148	7,2	19,8	1,0	4,6	1,0	0,0	4,4	340,1
1 porce	280	413,9	20,3	55,3	2,8	12,8	2,9	0,0	12,4	952,3
podíl ovoce	32,14286									
Flora originál	100	399,0	0,2	0,2	0,2	45,0	11,0	0,0	0,0	206,0
Šunka krůtí prsní LE&CO	100	87,0	17,2	1,4	0,1	1,3	0,3	0,0	0,0	700,0

Brand	Kilocalories (Kcal/100g)	Kilojoules (KJ/100g)	Sugars (g/100g)	Lipids (g/100g)	Saturated fatty acids (g/100g)	Sodium (mg/100g)	Salt (g/100g)	Proteins (g/100g)	Fibres AOAC (g/100g)	Fruits, vegetables, pulses, and nuts (%/100g)	score	Nutri-Score	color
Flora	399	1669	0,2	45	11	206	0	0,2	0	0	9	Nutriscore_C	Yellow

Product	Brand	Kilocalories (Kcal/100g or 100ml)	Kilojoules (KJ/100g or 100ml)	Sugars (g/100g or 100ml)	Saturated fatty acids (g/100g or 100ml)	Sodium (mg/100g or 100ml)	Salt (g/100g or 100ml)	Proteins (g/100g or 100ml)	Fibres AOAC (g/100g or 100ml)	Fruits, vegetables, pulses, nuts (%/100g or 100ml)	score	Nutri-Score	color
Prsní krůtí šunka	Le-CO	87	364	0,1	0,3	700		17,2	0	0	3	Nutriscore_C	Yellow
sendvič: chléb, Flora, šunka, rajče, avokádo		153	640	1	1,1	352		7,5	4,6	33,33	-3	Nutriscore_A	Dark green

15. Opačně zkreslující výsledky bude dávat polotovary určený k finální úpravě smažením. Polotovary mohou být zařazeny v třídě A (např. hranolky viz výše) nebo B.



Smažením se výrazně zvýší podíl energie v připravovaném pokrmu, což povede k přeřazení do kategorie s horším výživovým profilem. O tom však již spotřebitel není informován a nabývá dojem, že konzumuje nutričně preferovaný pokrm.

Jak zabránit matení spotřebitelů?

Zásadní chybou systému Nutri-Score je existence jen 4 profilů a nedostatečné nastavení pozitivních/negativních bodů. Pozitivní body jsou de facto potraviny - ovoce/zelenina, skořápkové plody, u minusových bodů se jedná o živiny. Srovnávání potravin napříč různými kategoriemi nelze zabránit. Výše uvedené matoucí příklady nezpůsobuje nevhodný výběr porovnávaných potravin, ale primárně špatně nastavené kalkulace. Existence pouze 4 kategorií je obhajována myšlenkou, že by systém měl být co nejjednodušší. S tím lze souhlasit, ale jen částečně. Systém by měl být skutečně jednoduchý. Jednoduchost však spočívá v dostupnosti zdrojových informací. Do současné kalkulace jsou vstupními daty výživové údaje, které jsou povinné z hlediska uvádění na obalech potravin, doplněné o vlákninu, která je údajem dobrovolným. Asi by neměl být problém tento princip zachovat. Na druhou stranu systém nebude komplikovanější, pokud bude vydefinováno více profilů pro další kategorie potravin. Za zvážení stojí přidat mezi plusové body některé vitaminy a minerální látky, případně hodnotit kvalitu bílkovin a v rámci minusových bodů zohlednit přídavek sladidel či většího množství přídatných látek. Nemělo by to však být na úkor neúměrného zvýšení komplexity výpočtu. Výpočet běží na pozadí, běžný spotřebitel s ním nepříjde do styku, proto i více parametrů nebo více skupin potravin nebude vadit.

K výpočtu Nutri-Score se dnes používají různé kalkulátory. Použití je jednoduché a je založeno na 2 krocích:

1 Choose your food product Fats/Oil/Butter Cheese Drinks General

2 Enter the nutritional values
Please enter the nutritional values per 100 g or 100 ml exactly as they appear on the label. ⓘ

Energy (in kJ)	<input type="text"/>	kJ
Total fats (in g)	<input type="text"/>	g
Saturated fats (in g)	<input type="text"/>	g
Sugars (in g)	<input type="text"/>	g
Protein (in g)	<input type="text"/>	g
Fibre (in g)	<input type="text"/>	g
Salt (in g)	<input type="text"/>	g

CALCULATE THE NUTRI-SCORE →

3 The Nutri-Score for your product

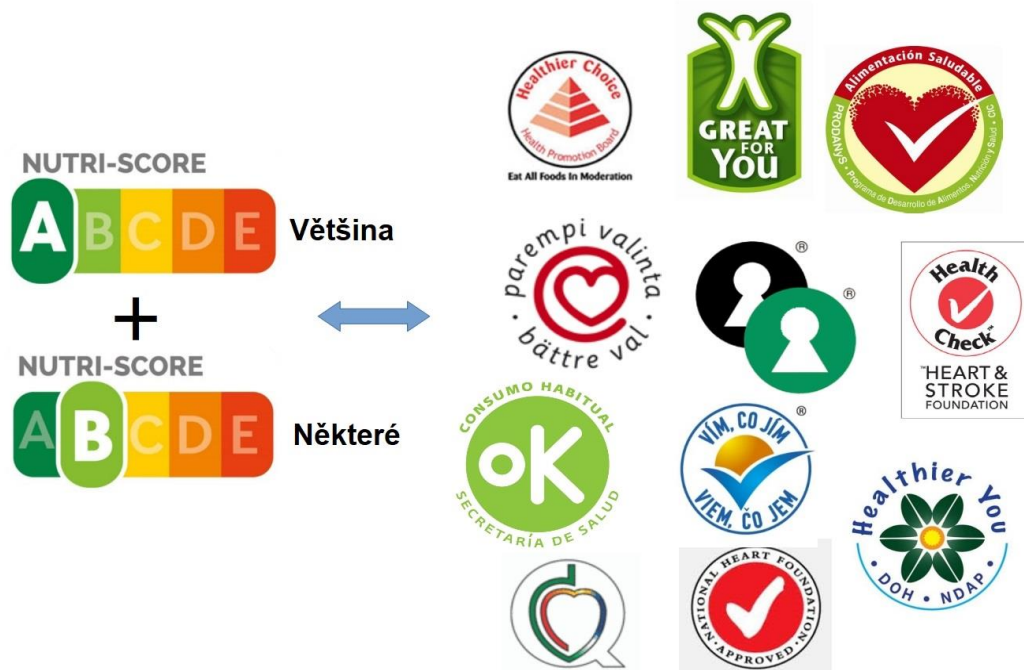
1. Vybere se druh potraviny
2. Zadájí se výživové údaje na 100 g/ml. Výpočet proběhne automaticky.

Asi není problém tento princip zachovat. I když je výpočet nutno brát s určitou rezervou, protože výživové hodnoty z obalů ne zcela odpovídají algoritmu dle definice. Např. zápočet pozitivních bodů za přítomnost ovoce a zeleniny z výživových údajů uvedených na obale nevyplývá. Nicméně již dnes je zřejmé, že mít pouze 4 profily je nedostatečné. Neodpovídá to principům pestré a vyvážené stravy. 4 profily byly stanoveny arbitrárně bez hlubší analýzy specifik jednotlivých druhů potravin, velikostí porce a zvyklostí sestavování ideálního jídelníčku.

Inspiraci lze hledat v porovnání existujících systémů

Existuje řada systémů používající pozitivní logo. Pozitivní logo vyjadřuje, že daná potravina má vhodnější výživové složení než potravina, která nespĺňuje kritéria pro daný druh potraviny. Systémy jsou zavedeny na trhu již delší dobu a mají mnohem lépe propracovaný systém. Systémy většinou pracují s větším počtem skupin potravin. Kritéria jsou definována tak, aby byl zachován princip pestré a vyvážené stravy. Například systém Choices vychází z podrobné analýzy složení potravin na trhu a upravuje kritéria tak, aby 30 % potravin dané kategorie splňovalo parametry pro udělení loga.

Ukazuje se, že pokud jsou následně konzumovány potraviny, kde jsou splněna kritéria pro udělení pozitivního loga, odpovídá celková skladba stravy výživovým doporučením. To je ostatně cílem i systému Nutri-Score. Problém současného Nutri-Score je nesprávně definovaný systém, který byl šitý horkou francouzskou jehlou, aniž by byl podroben hlubší odborné analýze. Systémy používající pozitivní logo by měly zhruba odpovídat zeleným kategoriím systému Nutri-Score. Většina výrobků nesoucí pozitivní logo by měla spadat do kategorie, některé mohou být i v kategorii B.



To by měl být první krok k správnému nastavení algoritmu výpočtu Nutri-Score.

WHO: https://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0005/270716/Nutrient-children_web-new.pdf

EU Pledge: https://eu-pledge.eu/wp-content/uploads/EU_Pledge_Nutrition_White_Paper.pdf

EFSA: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2008.644>.

EFSA již v roce 2006 upozorňuje v tabulce 2, že jednotlivé skupiny potravin se liší nejen obsahem rizikových živin, ale obsahují různé živiny, které je nutno konzumovat v dostatečném množství k zajištění potřeb organismu.

Table 2: Role and dietary contribution of selected food groups including those identified in the Terms of Reference

Food or food group	Nutrients for which intakes might exceed recommendations ¹⁻⁵	Overall dietary role ¹⁻⁵
Vegetable oils:	SFA	Unsaturated fatty acids acid (MUFA & PUFA) and vitamin E
Spreadable fats:	SFA (fats of animal origin) and TFA (hardened fat).	Unsaturated fatty acids (MUFA, PUFA), vitamins E, and A and D (if added)
Dairy products:	SFA, Na (cheese), sugar (added)	Calcium, Vitamin D (added), protein, and vitamins B ₁₂ , B ₂ , iodine, Zn
Cereal and cereal products:	SFA, TFA, Na (added) and sugar (added)	Dietary fibre, Digestible carbohydrates, Minerals, B-vitamins, trace elements
Fruits and vegetables, and their products:	Na (added), Sugar (added)	Related to individual product (vitamins and minerals, folate, potassium and dietary fibre). Low energy density
Meat and meat products:	SFA and Na (added)	High quality protein, Fe, vitamins and minerals, and MUFA..
Fish and fish products	Na (added), SFA	n-3 LC-PUFA (EPA/DHA), vitamins A and D, and iodine
Beverage (non-alcoholic)	Sugar (added)	Hydration

V žádném systému nejsou jen 4 kategorie potravin. Právě nízký počet kategorií potravin vede k tomu, že u některých potravin výsledné hodnocení vůbec neodpovídá výživovým doporučením. Existující systémy, na jejichž vzniku se podílel velký počet odborníků na výživu, by měly být inspirací pro nastavení správného algoritmu napříč různými kategoriemi potravin a nápojů.

Demonstrace chybně nastaveného systému Nutri-Score na několika zvolených výrobcích Z databáze NutriPro bylo vybráno 6 výrobků (viz tabulka). Výživové hodnoty byly dosazeny do nutričního kalkulátoru Nutri-Score. Výpočet byl proveden pro danou skupinu potravin, výsledky byly porovnávány s kalkulací podle základního profilu a s kritérii systému Vím, co jím.

	Energie	Energie	Tuky	SAFA	Sacharidy	Cukry	Vláknina	Bílkoviny	Sůl
	KJ/100 g	kcal/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g
Eidam 30 % t.v.s průměr	1081	257	16,2	13,2	0,0	0,0	0,0	27,3	1,50
Řepkový olej, průměr	3713	884	100,0	7,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
sycené nápoje kolového typu	181	43	0,0	0,0	10,6	10,6	0,0	0,0	0,01
Zrna rýže bílá dlouhozrná	1533	365	0,7	0,2	80,0	0,1	1,0	7,1	0,01
knedlíky houskové, české průměr	633	151	2,8	0,9	26,9	0,3	1,6	4,2	0,28
Šunka krutí prsní LE&CO	441	105	4,2	1,2	1,3	1,1	0,0	15,2	2,08

Výsledky výpočtu jsou v následující tabulce.

	Nutri-Score zákl.profil	Nutri-Score skupina	logo VCJ
Eidam 30 % t.v.s průměr	E	D	Ano
Řepkový olej, průměr	D	C	Ano
sycené nápoje kolového typu	B	E	Ne
Zrna rýže bílá dlouhozrná	A		Ne
knedlíky houskové, české průměr	A	-	Ne
Šunka krůtí prsní LE&CO	D		Ano

Z výsledků vyplývá několik závěrů.

1. Pokud byly počítány tuky, sýry a nápoje podle základního profilu, skutečně docházelo k zcela zcestným interpretacím. Sýr Eidam 30 % t.v.s. by skončil v kategorii E, řepkový olej v kategorii D a nápoj kolového typu naopak v kategorii B. Ustavení specifického profilu pro tyto kategorie bylo tudíž oprávněné.

2. Nastavení výživového profilu pro nápoje vypadá logicky, nápoj kolového typu je přemístěn z kategorie B do kategorie E. Otázkou je však, zda nějakým způsobem nezavést do výpočtu použití sladidel do algoritmu. Informace je dostupná na obalech v seznamu složek.

Například kritéria uplatňovaná v Mexiku v rámci FOPL zahrnují přítomnost sladidel ve složení jako diskriminační faktor pro udělení pozitivního loga.

<https://ijbnpa.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12966-021-01148-1>

3. Současné nastavení výživového profilu pro tuky neodpovídá výživovým doporučením. Řepkový olej, který má z olejů jedno z nejlepších složení, se přesunul z kategorie D jen do kategorie C, což neodpovídá realitě. Řepkový olej splňuje kritéria pro udělení pozitivního loga a měl by proto spadat do zelených kategorií Nutri-Score, pravděpodobně A.

4. Ani současné zařazení sýru Eidam 30 % t.v.s., který se přesunul z kategorie E do D, neodpovídá realitě. Obsah soli odpovídá technologickému minimu a obsah tuku a nasycených mastných kyselin je obecně nižší než u jiných typů sýru. Sýr Eidam 30 % t.v.s. splňuje kritéria pro udělení pozitivního loga a měl by proto spadat do zelených kategorií Nutri-Score, pravděpodobně B.

5. V Nutri-Score prozatím neexistuje specifická skupina pro masné výrobky. Pro její zavedení hovoří následující argumenty. Krůtí prsní šunka LE&CO má z masných výrobků nízký obsah tuku/nasycených mastných kyselin. Obsah soli se blíží technologickému minimu. V kalkulaci Nutri-Score je zařazena do kategorie D. Výrobek splňuje kritéria pro udělení pozitivního loga a měl by proto spadat do zelených kategorií Nutri-Score, pravděpodobně B.

6. V Nutri-Score prozatím neexistuje specifická skupina pro ryby a rybí výrobky. Tučné čerstvé ryby jednoznačně patří do kategorie A. Je otázkou, proč je hodně rybích výrobků v nepreferovaných kategoriích, zda je obsah soli natolik vysoký, aby opravňoval toto zařazení.

7. V Nutri-Score prozatím neexistují specifické skupiny pro rýži nebo výrobky z obilovin. Kritickým parametrem v souladu s výživovými doporučeními v těchto druzích výrobků je obsah vlákniny. Přestože je obsah vlákniny jedním ze vstupních parametrů, ve výpočtu u těchto výrobků se neprojevuje očekávaným způsobem. Klasická bílá rýže nebo i obyčejný houskový knedlík ve výpočtech Nutri-Score vycházejí v kategorii A, přestože oba výrobky jsou relativně chudé na potřebné živiny. Výrobky nespĺňujú kritéria pro udělení pozitivního loga a neměly by proto spadat do zelených kategorií Nutri-Score A, ani B.

Systém Nutri-Score by neměl být vyžadován u výrobků, kdy nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 stanovuje výjimky v neuvádění výživových údajů (Příloha V tohoto nařízení).

Důležitá je edukace spotřebitele

UZEI zorganizovalo ve spolupráci se společností STEM/MARK dotazníkového šetření na reprezentativním vzorku více než 1 000 respondentů zaměřené na značení potravin. Z průzkumu vyplynulo, že většina spotřebitelů nemá jasnou představu o tom, jaké informace jsou povinné či nepovinné. Na otevřenou otázku, jaké nepovinné údaje o potravině by měli zájem získat, mnozí deklarovali údaje, které jsou povinné (mezi jinými i výživové údaje) a 1/2 se vůbec nevyjádřila. Úroveň znalostí o výživě a potravinách obecně je u české populace stále nedostatečná a je opravdu nezbytné občany trvale vzdělávat a ovlivňovat. Když spotřebitel uvidí na obalu konkrétního výrobku červenou značku, ti uvědomějí si potravinu zřejmě nekoupí, o většinu to asi neodradí.

Jedna z otázek dotazníkového šetření zněla, v jaké formě by měly být prezentovány výživové údaje na přední straně obalu. Z nabídky předložené v dotazníku se **35 % respondentů vyslovilo pro tabulku výživových hodnot, 28 % pro zjednodušené grafické zobrazení** a 6 % pro elektronický kód (např. QR kód) do aplikace. 32 % dotázaných o tyto údaje neprojevalo vůbec zájem. Tabulka výživových hodnot více vyhovuje mladším lidem (v kategorii 18-34 let bylo 36 % pro tabulku a jen 19 % pro grafické vyjádření), starší generace (55+) naopak dává přednost zjednodušenému grafu (29 % pro tabulku proti 37 % pro grafické vyobrazení).

V Nizozemsku bylo v rámci průzkumu zjištěno, že pro přibližně 40 % spotřebitelů je matoucí, pokud jsou výrobky zdravé podle etikety na přední straně obalu, ale ne podle výživových doporučení. To negativně ovlivňuje jejich důvěru ve značení i výživová doporučení. Jakékoliv značení by mělo být srozumitelné, ale zároveň je v souladu s výživovými doporučeními. Kritéria pro jednotlivé kategorie by měla zohledňovat roli výrobků ve stravě i obsah živin, které poskytují. Systém by měl jednoznačně rozlišovat mezi základními potravinami odpovídajícími výživovým doporučením a výrobky, které tato doporučení nespĺňují. Jen tak může být FOPL skutečně schopno pomoci spotřebitelům s výběrem potravin.

Možnosti, jak změnit Nutri-Score

1. Zavedení pouze 4 výživových profilů je hlavní problém Nutri-Score. To je příčina většiny matoucích závěrů. Systém by měl být podroben důkladné revizi z tohoto pohledu. Rozšíření kategorií potravin se jeví jako nutné.

2. Zohlednění velikosti porce. Často se objevuje názor, že brát v úvahu velikost porce je složité a nebude možné najít shodu. Velikost porce však nemusí být brána v úvahu jen jako jeden z parametrů kritérií. Stačí, aby běžná konzumovaná množství určitých skupin potravin byla zohledněna ve výživových profilech dané skupiny. Nutri-Score si může vzít příklad z existujících systémů FOPL, jaká kritéria jsou stanovena v rámci jednotlivých skupin. Kritéria systémů na bázi pozitivního loga mohou být inspirací pro kategorii A Nutri-Score, ostatní kategorie lze od toho již parametricky odvodit.

3. Zohlednit další minoritní látky zastoupené v potravinách, které jsou důležité pro správnou funkci organismu (omega 3 a 6 polynenasycené mastné kyseliny, minerální látky a vitaminy). Opět to nemusí být formou zařazení dalších parametrů do výpočtu, systém by se následně stával složitější. Vyřešit to může rovněž správné nastavení profilu pro více skupin potravin. Zastoupení minoritních látek v jednotlivých skupinách je často obecnou charakteristikou dané skupiny. Výživový profil specifický pro danou skupinu by měl více vyvažovat pozitivní látky a rizikové živiny.

4. U polotovárů, které podléhají výrazné změně výživových hodnot např. smažením, by se měl zohlednit způsob přípravy do značení FOPL.

5. Detailní odborné diskusi by měly být podrobeny způsoby zpracování potravin, na zvážení je zda nepřidat do kritérií některé přídatné látky. Informace jsou dostupné na obalech potravin

a nebyl by problém je do systému zařadit formou záporných bodů, aniž by se zhoršila technická dostupnost vstupních údajů. Často se hovoří z tohoto pohledu o nízkokalorických sladidlech.

6. Zvážit rozlišení bílkovin rostlinného a živočišného původu (plnohodnotných a neplnohodnotných).

7. Zahrnutí výjimek z FOLP v identických případech jako stanovuje Příloha V nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011.

Podání konkrétních návrhů v bodech 1 až 6 jde nad rámce tohoto dokumentu, další diskuse by měly probíhat na odborné bázi.

Závěr

Systém Nutri-Score tak je v současnosti nastaven, je nevyhovující. Vychází sice z vědecky prověřených parametrů, které souvisejí s výskytem neinfekčních onemocnění hromadného výskytu, ale navržený algoritmus pracující z těmito vstupními údaji dává řadu zcela matoucích závěrů. Existuje spousta konkrétních příkladů nesprávného zařazení jednotlivých potravin do kategorií Nutri-Score, které neodpovídá výživovým doporučením a neodpovídá vědeckým poznatkům o vlivu konzumace stravy na zdraví. Některé výrobky jsou zařazeny v preferovaných zelených kategoriích, aniž by tomu jejich výživová hodnota odpovídala. Jiné výrobky, které jsou zařazeny v kategoriích C až E, naopak patří mezi potraviny, jejichž konzumace je odborníky na výživu a renomovanými společnostmi doporučována. Arbitrární určení 4 výživových profilů na základě, nichž jsou výpočty v současnosti prováděny, vede v řadě případů k zcela matoucím závěrům, které rozhodně nepřispějí k správné edukaci spotřebitelů ve smyslu formulování dodržování zásad správné výživy v praxi. Spotřebitelé následně nebudou věřit ani Nutri-Score, ani výživovým doporučením, jak naznačují některé výzkumy. V žádném jiném systému FOPL se nenajde tolik kontroverzních příkladů. Námítka, že systém funguje pro velký počet výrobků, neobstojí, protože lze doložit, že zároveň dává nevyvážený pohled na výrobky z kategorie olejů a tuků, sýrů, masných výrobků, ryb a rybích výrobků, výrobků z obilovin. U polotovarů nezahrnuje do výpočtu obvyklý způsob přípravy. Před jeho širším zavedením do praxe by měl být podroben důkladnější odborné analýze a širší diskuzi ve vědecké komunitě. Cílem tohoto dokumentu nebylo přinést zcela konkrétní návrhy, jak systém do všech detailů změnit. Nicméně směry, kterými je třeba se pohybovat, byly naznačeny. Jejich implementace by měla být realizována na čistě odborné bázi.

Dokument vznikl v rámci odborné skupiny pro Nutri-Score při České technologické platformě pro potraviny.

Komise pracovala ve složení: doc. Ing. Jiří Brát, CSc.; prof. Ing. Jana Dostálová, CSc.; doc. MUDr. Pavel Kohout, Ph.D.; MUDr. Petr Tláškal, CSc.; Ing. Hana Strátecká, Ph.D. a Ing. Ilona Mrháková.



NEALKOHOLOVÁ TUKOVÁ CHOROBA JATER – SITUACE V ČR

NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE - SITUATION IN THE CZECH REPUBLIC

R. Brůha

IV. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Nealkoholová tuková choroba jater (Non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD), součást metabolického syndromu, je celosvětově nejčastějším chronickým jaterním onemocněním (1). NAFLD je spjata s diabetem 2. typu (DM2), obezitou i genetickými faktory. Jedná se o široké spektrum postižení od prosté steatózy, přes nealkoholovou steatohepatitidu (NASH), různé stupně fibrózy až po jaterní cirhózu se všemi jejími komplikacemi. NAFLD je také významným a nezávislým rizikovým faktorem pro vývoj kardiovaskulárních onemocnění, chronických ledvinných onemocnění a některých nádorů (2).

Prevalence NAFLD se pohybuje celosvětově mezi 17-46 % v dospělé populaci (3). Prevalence NAFLD v evropské populaci je kolem 25 %. Výskyt NAFLD těsně souvisí s výskytem obezity (především viscerálního typu) a DM2. U pacientů s těžkou obezitou se NAFLD vyskytuje ve více než 90 %, u pacientů s DM2 až v 80 % a u pacientů s hypertriglyceridémií je NAFLD přítomen u více než 50 % jedinců. Prevalence NASH v evropské populaci je pravděpodobně mezi 1,5-6,5 % (4). Cirhóza dříve označovaná jako kryptogenní souvisí z větší části právě s NAFLD/NASH a je dnes druhou až třetí nejčastější indikací k transplantaci jater.

Prevalence ani incidence NAFLD/NASH v České republice není známa; k dispozici jsou dosud jen omezená data popisující u pacientů s DM2 přítomnost NAFLD v 70-79% a pokročilé jaterní fibrózy ve 13-19% (5). Jiná práce pocházející z ČR ukazuje, že v selektované populaci 56 pacientů s NAFLD indikovaných k jaterní biopsii byl NASH histologicky diagnostikován u 68 % jedinců (6). V další práci z ČR byl ve skupině pacientů po jaterní transplantaci (kteří podstupovali kontrolní jaterní biopsie) detailně popsán vývoj NAFLD včetně přítomnosti zánětlivých změn a fibrózy (významná fibróza byla v průběhu sledování popsána u 18 % těchto pacientů) (7). Prevalence NASH u neselektované populace v ČR není známa.

K dispozici jsou také data prokazující přítomnost genetické predispozice ke vzniku NAFLD i u české populace. Ze světové literatury je známo, že z pohledu rizika vývoje NAFLD hraje největší roli gen *PNPLA3* (patatin-like phospholipase domain containing protein 3), jehož varianta rs738409 C > G p.I148M je významným genetickým faktorem spjatým s rizikem NAFLD (8). Dalšími geny, jejichž určité varianty se mohou podílet na vývoji NAFLD jsou: *TM6SF2*, *MBOAT7* a *GCKR*. U pacientů po jaterní transplantaci bylo v ČR prokázáno, že nosičství nepříznivých variant *PNPLA3* a *TM6SF2* u dárce je spjata s vyšším rizikem steatózy štěpu v období po jaterní transplantaci (9). V jiné, zatím nepublikované práci bylo popsáno vyšší zastoupení přirozené („ochranné“) varianty *PNPLA3* v kontrolní populaci ve srovnání se skupinou 60 pacientů s NAFLD. V četnosti jednotlivých variant *PNPLA3* se pravděpodobně česká populace příliš neliší od evropské populace.

Závěrem lze konstatovat, že i v ČR má NAFLD vysokou prevalenci v rizikových skupinách a výsledky ze selektovaných souborů s provedenou jaterní biopsií ukazují, že i v ČR se diagnostikuje NASH s rozvojem fibrózy a cirhózy. Skutečnou prevalenci NAFLD/NASH v naší populaci však neznáme.

Literatura

1. **Chalasan N., Younossi Z., Lavine JE., et al.** The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018; 67(1): 328-357.
2. **EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines** for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2016; 64(6): 1388-1402.
3. **Vernon G., Baranova A., Younossi ZM.** Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34(3):274-285.
4. **Younossi ZM., Koenig AB., Abdelatif D., et al.** Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016; 64(1): 73-84.
5. **Dvorak K., Hainer R., Petrtyl J., et al.** The prevalence of nonalcoholic liver steatosis in patients with type 2 diabetes mellitus in the Czech Republic. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2015; 159(3): 442-448.
6. **Dvorak K., Stritesky J., Petrtyl J., et al.** Use of non-invasive parameters of non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in daily practice--an exploratory case-control study. *PLoS one* 2014; 9(10): e111551.
7. **Erhartova D., Cahova M., Dankova H., et al.** Serum miR-33a is associated with steatosis and inflammation in patients with non-alcoholic fatty liver disease after liver transplantation. *PLoS One* 2019; 14(11): e0224820.
8. **Romeo S., Kozlitina J., Xing C., et al.** Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Gen* 2008; 40(12): 1461-1465.
9. **Míková I., Neřoldová M., Hubáček JA., et al.** Donor PNPLA3 and TM6SF2 Variant Alleles Confer Additive Risks for Graft Steatosis After Liver Transplantation. *Transplantation* 2020; 104(3): 526-534.

*Adresa pro korespondenci:**Prof. MUDr. Radan Brůha, CSc**4. interní klinika 1. LF UK a VFN**U nemocnice 2**128 08 Praha 2**Mail: bruha@cesnet.cz*

ENVIRONMENTÁLNE FAKTORY A ICH VPLYV NA ROZVOJ CHRONICKÝCH OCHORENÍ

ENVIROMENTAL FACTORS AND THEIR INFLUENCE ON THE DEVELOPMENT OF CHRONIC DISEASES

I. Cimboláková¹, T. Pastyrčák², H. Pavolová²

¹ *Ústav telesnej výchovy a športu, UPJŠ v Košiciach v Košiciach*

² *Fakulta baníctva, ekológie, riadenia a geotechnológií, TU v Košiciach*

Abstract

The aim of this study is focused on the severity and need to address the long-term adverse effects of environmental factors - heavy metals on the health of the population and their possible impact on the development of chronic diseases. Environmental problems are already becoming global, including Slovakia. Monitoring the environmental situation in relation to the health of the population, including the development of chronic diseases, is increasingly at the forefront of scientific research. The overview study is focused on pointing out the issue of not only the effect of environmental factors and the association of harmful effects of toxic elements on health, but also in terms of the development of chronic diseases pointing out the need for synergy and importance in the history. Studies of this nature are important in the monitoring of heavy metals in the environment as a potential independent risk factor for the development of serious, chronic diseases. The work may be useful for further studies of a similar nature.

Úvod

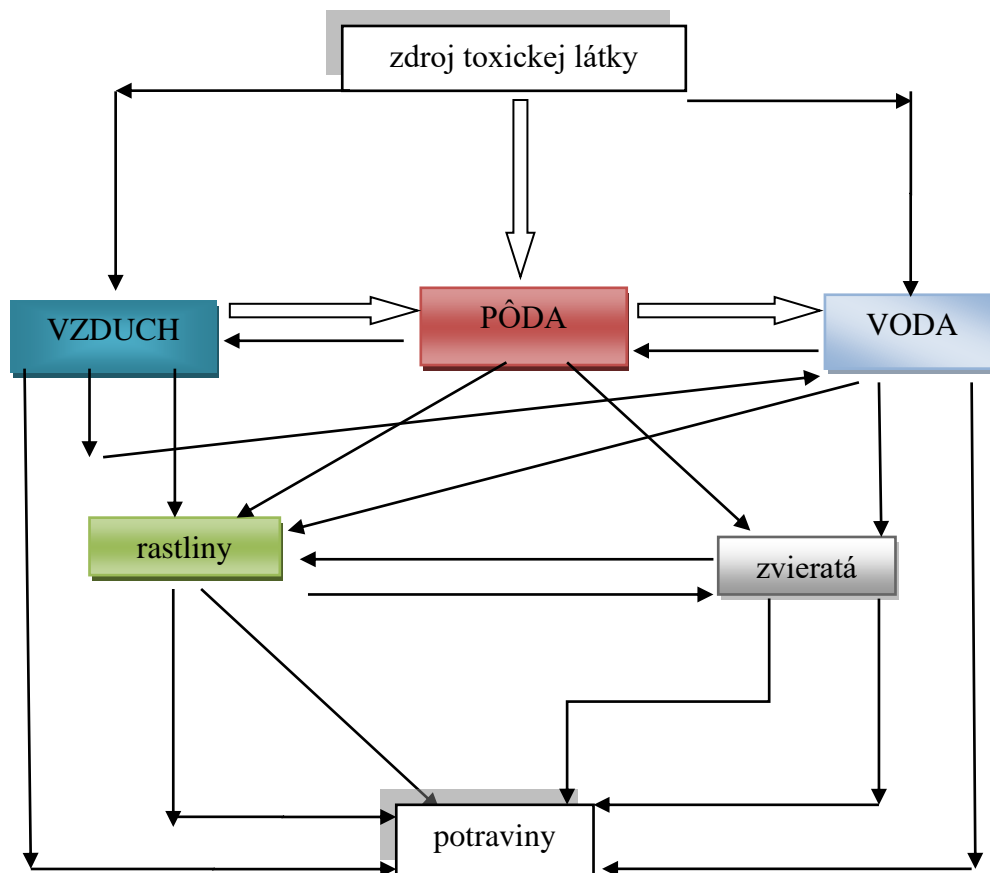
Predmetom svetového monitoringu sú toxické látky ktoré sú monitorované v rôznych zložkách životného prostredia (ŽP). Predstavujú výrazné riziko nie len pre biotickú zložku ŽP, ale predovšetkým pre zdravie človeka-jedinca, ako i pre celú ľudskú populáciu bez ohľadu na zdroj z ktorého sa do organizmu dostávajú. Akútnosť potreby riešenia zväčšujúcich sa problémov vyplývajúcich z kontaminácie ŽP determinujú v súčasnosti viaceré faktory. Význam environmentálnych problémov z globálneho hľadiska úzko súvisí s narastaním ich intenzity i priestorového rozsahu. Silnejší synergický efekt prejavov zvyšuje nie len ich mieru závažnosti ale aj náročnosť riešenia. Odhady WHO (Svetová zdravotnícka organizácia) uvádza, že približne 25 % - 30 % zdravotných dôsledkov populácie možno pripísať práve pôsobeniu negatívnych environmentálnych faktorov. Aj preto závažnosť týchto vplyvov na zdravie, je jedným zo stanovených cieľov a priorit Európskej únie [3,4,8]. Európska environmentálna agentúra (EEA) definovala jedenásť globálnych megatrendov, ktoré sú kľúčové pre oblasť definovania strategických výhľadov týkajúcich sa ŽP v celej Európe [2].

Ťažké kovy a zdravotné riziká

Ťažké kovy znečisťujúce ŽP sú nie len vážnym ekologickým dopadom pre krajinu, ale hlavne predstavujú vysoké riziko poškodenia zdravia. Expozícia ťažkými kovmi už pri krátkodobom nepraznivom účinku na organizmus môže mať za následok rozvoj dlhodobého – chronického ochorenia [5].

Toxické látky ktoré vznikli či už prírodnou cestou alebo činnosťou človeka, veľmi vzácne ostávajú v danej podobe (forme) v akej vznikli, kde vznikli, respektíve sa uvoľnili do prostredia. Prostredníctvom zložiek životného prostredia môžu vstupovať do potravinových

reťazcov v rámci jednotlivých ekosystémov, alebo kontaminovaných poľnohospodárskych produktov. Cesta rizikových toxických látok je znázornená na obr. 1.



Obr. 1: Cesta rizikových toxických látok

Zdroj: Cimboláková, 2013

Otázky neustále sa zvyšujúceho počtu ochorení súvisiacich s pôsobením ťažkých kovov ako sú napr. Cd, Hg, AS, Pb ale aj niektorých zo základných stopových kovov ako napríklad Cr, Co, Cu, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, W, V stále viac zvyšujú pozornosť vedeckej spoločnosti. Kládne sa vyšší dôraz na štúdie, ktoré sa venujú tejto otázke aj z dôvodu, že neustále zaťažovanie organizmu už aj nízkymi dávkami toxických látok zo životného prostredia môžu výrazným spôsobom prispieť k zhoršeniu zdravia nie len jedincov, ale celkového zdravotného stavu obyvateľstva [3, 7, 14].

Tažké kovy napr. kadmium a arzén boli identifikované ako najpravdepodobnejšie príčiny pozorovaných chorôb spojených práve s ťažkými kovmi v medicíne v rámci primárnej starostlivosti [6]. Vo všeobecnosti je známe, že ťažké kovy svojím pôsobením na organizmus majú často kumulatívne škodlivé účinky [3]. Iní autori uvádzajú, že sa jedná o chronické degeneratívne zmeny v organizme, môžu pôsobiť na nervový systém i orgány (napr. pečeň, obličky), v niektorých prípadoch sa jedná o teratogénne a karcinogénne účinky. Vážnu hrozbu predstavujú najmä Cd, Hg, Pb, As, Cr, Ni v prípade, ak dôjde k prekročeniu prípustných limitov v organizme človeka čím dochádza už k samotným prejavom závažných ochorení [1,15,18].

Expozícia ťažkých kovov v životnom prostredí (okrem aj iných látok) ešte stále nemá v rámci anamnézy takú významnú dôležitosť ako by to bolo z pohľadu rozvoja ochorení potrebné. Pri kardiovaskulárnych ochoreniach (KVO) sú známe rizikové faktory - vek, mužské pohlavie, fajčenie, hypertenzia, hypercholesterolémia, obezita, ale takmer vôbec, resp. vôbec sa do

úvahy neberú environmentálne faktory [17, 21]. Pritom niektorí autori už poukazujú na zvýšené riziko kardiovaskulárnych chorôb v dôsledku škodlivého účinku ťažkých kovov priamo na kardiovaskulárne tkanivá vrátane endotelových buniek [13]. Vystavenie živého organizmu pôsobeniu ťažkých kovov sa pritom v posledných desaťročiach stalo globálnym problémom verejného zdravia, a to práve z dôvodu potenciálnych zdravotných následkov pre ľudskú populáciu. Na epidemiologické a experimentálne dôkazy vplyvu Cd, Pb i Hg na vývoj KVO taktiež poukazujú aj ďalší autori [9,19]. Mechanizmus ktorý by mal byť základom vplyvu ťažkých kovov na vznik KVO nie je však ešte dôkladne preštudovaný a to aj napriek tomu, že KVO sú celosvetovým zdravotníckym problémom [5].

Kardiovaskulárne choroby a ateroskleróza

Kardiovaskulárne ochorenia sú skupinou porúch ovplyvňujúcich funkciu srdca a ciev a predstavujú súčasnú hlavnú príčinu úmrtí na celom svete, ktorá si vyžiadala už viac životov ako všetky formy rakoviny dohromady [11, 20]. Ateroskleróza je hlavným prispievateľom k tejto záťaži, pretože je základom rôznych foriem KVO vrátane ochorenia periférnych artérií, infarktu myokardu i cievnej mozgovej príhody. Je potvrdené, že ochorenie sa vyvíja celé desaťročia bez viditeľných symptómov až kým sa neobjavia škodlivé komplikácie [10, 11,12]. Vzhľadom už k poznaným faktom rozvoja ochorenia by bolo prospešné uvažovať aj o uznaní pôsobenia environmentálnych faktorov ako prípadnej priority pri eradikácii rôznych chorôb z blahobytu vrátane KVO - na Slovensku zomiera na srdcovocievne ochorenia každý druhý človek. Úvaha o návrhu pre osobitnú legislatívu i novú stratégiu z dôvodu ochrany zdravia ľudstva by mohla byť jednoznačným prínosom. Je nepopierateľné, že na jednej strane získavanie nových poznatkov v oblasti medicínskeho výskumu a ich aplikácia do medicínskej praxe výrazne narastá, avšak na druhej strane to prináša aj mnoho dilém a otázok [4].

Záver

Slovenská republika v zastúpení jednotlivých predstaviteľov rezortov zdravotníctva a v spolupráci s predstaviteľmi životného prostredia už prijali politický záväzok uskutočniť kroky smerujúce k vypracovaniu národnej stratégie ochrany zdravia obyvateľstva vrátane predvídania dopadov na zdravie, rýchlej detekcie a informovanosti.

Literatúra

1. **Agarwal S., Zaman T., Murat E. et al.** Heavy metals and cardiovascular disease: results from the national health and nutrition examination survey (NHANES) 1999-2006. *Angiology* 2011; 62(5): 422-429.
2. **Baboš P., Balog M., Dokupilová D., et al.** Globálne megatrendy: Hodnotenie a výzvy z pohľadu Slovenskej republiky. Bratislava: Centrum spoločenských a psychologických vied SAV 2016, 268 s.
3. **Cimboláková I.** Vplyv rizikových prvkov na zdravie zvierat a životné prostredie. Dizertačná práca, 2013, 111 s.
4. **Cimboláková I., Farkašová Iannaccone S., Rác O., et al.** Výskum v medicíne a etika. 1. vyd. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach 2015, 65 s.
5. **Chowdhury R., Ramond A., O'keeffe LM. et al.** Environmental toxic metal contaminants and risk of cardiovascular disease: systematic review and metaanalysis. *BMJ* 2018; 362: k310.
6. **Ilyas A. Shah MH.** Multivariate statistical evaluation of trace metal levels in the blood of atherosclerosis patients in comparison with healthy subjects. *Helion* 2016; 2(1): e00054. eCollection 2016.
7. **Jarup L.** Hazards of Heavy metal contamination. *Br Med Bull* 2003; 68(1): 167-182.

8. **Kimáková T., Cimboláková I., Farkašová Iannaccone S., et al.** Environment a jeho etické aspekty. Košice: UPJŠ 2015, 88 s.
9. **Lamas GA., Navas-Acien A., Mark DB., et al.** Heavy metals cardiovascular disease, and the unexpected benefits of chelation therapy. *J Am Coll Cardiol* 2016; 67(20): 2411-2418.
10. **Libby P., Buring JE., Badimon L., et al.** Atherosclerosis. *Nat Rev Dis Primers* 2019; 5(1): 56.
11. **Marques ARA., Ramaos C., Machado-Oliviera G., et al.** Lysosome (Dys)function in Atherosclerosis – A big Weight on Shoulders of a SmallOrganelle. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9: 658995.
12. **Mendis S., Puska PA., Norrving B.** Globálny atlas prevencie a kontroly kardiovaskulárnych chorôb. Ženeva: Svetová zdravotnícka organizácia 2011.
13. **Notariale R., Infantino R., Palazzo E., Manna C.** Erythrocytes as a Model Heavy Metal-Related Vascular Dysfunction: The Prosective Effect of Dietary Components. *Int J Mol Sci* 2021; 22(12): 6604.
14. **Nowicki GJ., Ślusarska B., Prystupa A., et al.** Assessment of Concentrations of Heavy Metals in Postmyocardial Infarction Patients and Patients Free from Cardiovascular. *Cardiol Res Pract* 2021; 2021: 9546358.
15. **O'Neal SL., Zheng W.** Manganese toxicity upon overexposure a decade in review. *Curr Environ Health Rep* 2015; 2(3): 315-328.
16. **Pavolová H., Cehlár M., Soušek R.** Vplyv antropogénnych činností na kvalitu životného prostredia. 1. vyd. Pardubice: Institut Jana Pernera 2012, 215 s.
17. **Rehman K., Fatima F., Waheed I., Akash MSH.** Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *J Cell Biochem* 2018; 119(1): 157-184.
18. **Renu R., Chakraborty R., Myakala H., et al.** Molecular mechanism of heavy metals (lead, chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmiu) – induced hepatotoxicity – A review. *Chemosphere* 2021; 271: 129735.
19. **Solenkova NV., Newman JD., Berger JS., et al.** Metal pollutants and cardiovascular disease: mechanisms and consequences of exposure. *Am Heart J* 2014; 168(6): 812-822.
20. **Virani SS., Alonso A., Benjamin EJ., et al.** Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 2020; 141(9): e139-e596.
21. **World Health Organization.** Preventing Non Communicable Diseases (NCDs) by Reducing Environmental Risk Factors. World Health Organization, Geneva: Switzerland 2020.
22. **Yang AM., Lo K., Zheng TZ., et al.** Environmental heavy metals and cardiovascular diseases: Status and future direction. *Chronic Dis Transl Med* 2020; 6(4): 251-259.

MENTÁLNÍ ANOREXIE – KLINICKÉ PROJEVY, BIOCHEMICKÉ A ENDOKRINNÍ ZMĚNY

ANOREXIA NERVOSA – CLINICAL SYMPTOMS, BIOCHEMICAL AND ENDOCRINE CHANGES

M. Floriánková^{1,2}, M. Vecka¹, B. Staňková¹, P. Szitányi², A. Žák¹

¹ Univerzita Karlova, 1.lékařská fakulta, IV. interní klinika VFN

² Univerzita Karlova, 1.lékařská fakulta, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu VFN

Abstrakt

Mentální anorexie (AN, anorexia nervosa) je psychiatrické onemocnění s vysokou morbiditou a mortalitou až 5-6 %, s rozvojem především v dospívání. Patří mezi poruchy příjmu potravy a je typická omezením příjmu stravy s cílem snížit tělesnou hmotnost a chorobným strachem z hmotnostního přírůstku, spojeným s poruchou vnímání vlastní hmotnosti a tvaru postavy. Výskyt AN se odhaduje na 0,2 - 0,8 % a poměr žen k mužům je 10:1. AN představuje klinický model prostého hladovění bez přítomnosti systémového zánětu a s řadou klinických, endokrinních, metabolických, hematologických, imunologických a nutričních abnormalit.

Klinické změny postihují gastrointestinální trakt, činnost ledvin, kůži, nervovou i respirační soustavu, k nejzávažnějším komplikacím AN patří kardiovaskulární poruchy a narušení elektrolytové rovnováhy. Dochází ke snížení buněčné imunity, zhoršenému hojení. Častá je anémie, leukopénie, neutropénie, trombocytopenie nebo trombocytóza. K typickým endokrinním změnám patří nízká hladina trijodtyroninu (T₃) a tyroxinu (T₄), vzestup reverzního T₃, hyperkortikalismus, vzestup bazální sekrece růstového hormonu při snížené hladině insulin-like growth factor 1 (IGF-1), snížená hladina folikuly stimulujícího hormonu, luteinizačního hormonu a estradiolu u dívek, snížená hladina testosteronu u chlapců. Snížená je hladina leptinu, sekrece ghrelinu je významně zvýšená. Častá je osteopénie a osteoporóza.

Z nutričních změn je častý deficit především K, Mg, P, Ca, vit. B₁, B₂, B₆, A a C. Hladiny sérových proteinů jsou obvykle dlouho v normě, hypoalbuminémie je vážným prognostickým faktorem. Podvýživa vede ke změnám v hladinách jednotlivých sérových aminokyselin a v jejich poměrech. U více než 50 % pacientů s AN je přítomna dyslipidémie fenotypu HLP IIa. Prokázán byl deficit membránových vícenenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem. Koncentrace fytosterolů jsou často zvýšené, ale s nezměněnou hladinou lathosterolu. U pacientů s AN byla rovněž opakovaně prokázána vyšší úroveň oxidačního stresu, hladiny antioxidantů bývají sniženy.

Závěr: Mentální anorexie je závažné psychiatrické onemocnění, které je možno využít jako klinický model prostého hladovění. Dochází při něm k významným změnám v elektrolytovém hospodářství, ke změnám endokrinním, metabolickým, hematologickým, imunologickým i muskulo-skeletálním.

Abstract

Anorexia nervosa (AN) is a psychiatric disorder associated with a high morbidity and mortality up to 5 - 6 %, with an onset especially during midadolescence. It ranks among the eating disorders and it is characterised by a food intake restriction with a goal to lower a bodyweight and by a compulsive fear of gaining weight, associated with a disturbance of viewing of own weight and body shape. The incidence of AN is estimated to be 0,2 - 0,8 % with the ratio of women/men about 10:1. AN represents a pathophysiological model of simple

starvation without systemic inflammation and with clinical, endocrinal, metabolic, hematologic, immunological and nutritional abnormalities.

Clinical changes affect gastrointestinal tract, renal functions, skin, nervous and respiratory system. Cardiovascular changes and electrolyte equilibrium disturbances are among the most serious complications of AN. Cellular immunity is getting weaker, wound healing is delayed. Anemia, leucopenia, neutropenia, thrombocytopenia or thrombocytosis are common. In patients with AN we can typically find low level of triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄), increased level of reverse T₃, hypercortisolism, increased basal secretion of growth hormone with decreased level of IGF-1, decreased level of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone and estradiol in women and decreased level of testosterone in men. The level of leptin is decreased; secretion of ghrelin is significantly increased. Osteopenia and osteoporosis are common.

There is common deficiency of potassium, magnesium, phosphorus, calcium, vitamin B₁, B₂, B₆, A and C among nutritional abnormalities of patients with AN. Serum protein levels are usually normal for a long time, hypoalbuminemia is a serious prognostic factor. The malnutrition leads to changes in serum levels of particular amino acids and their ratios. We can find dyslipidemia with phenotype HLP IIa in more than 50 % of AN patients. Some studies have proved a deficiency in polyunsaturated fatty acids, elevated levels of plant sterols and unchanged level of lathosterol in patients with AN. There have been proven increased level of oxidative stress repeatedly in AN patients, the levels of antioxidants are usually lowered.

Conclusion: Anorexia nervosa is a complex psychiatric disorder, which can be used as a simple starvation model. AN is a disorder, accompanied with significant changes in electrolyte equilibrium, endocrinal, metabolic, hematologic, immune and musculoskeletal changes.

Úvod

Mentální anorexie patří mezi poruchy příjmu potravy. Jde o komplexní psychiatrickou poruchu s vysokou morbiditou a nejvyšší mortalitou mezi psychiatrickými onemocněními. Nejčastěji se poprvé manifestuje během dospívání. Tato porucha příjmu potravy je typická omezením energetického příjmu s cílem snížení tělesné hmotnosti a chorobným strachem z hmotnostního přírůstku, spojeným s poruchou vnímání vlastní hmotnosti a tvaru postavy (American Psychiatric Association, 2013; Zipfel et al., 2015). Kromě energetické restriktce a excesivního cvičení, které jsou charakteristické pro restriktivní (nebulimický) typ AN, mohou být zapojeny i další mechanismy vedoucí ke snížení tělesné hmotnosti, jako je cíleně vyvolávané zvracení, zneužívání laxativ nebo diuretik (purgativní, bulimický typ AN, u něhož se mohou střídát i období hladovění s přejídáním), u některých pacientů jsou přítomné charakteristiky obou typů (kombinovaný typ AN) (Winston, 2012). Až 50 % pacientů s chronickou formou AN prodělá během svého onemocnění změnu typu AN, častý je i přechod k jiné z poruch příjmu potravy, změny probíhají i opakovaně a oběma směry (Barbarich-Marsteller, 2012). Prevalence AN v ekonomicky vyspělých zemích (USA, EU) se odhaduje na 0,2 - 0,8 % s poměrem žen k mužům 10:1 (Zipfel et al., 2015; Winston, 2012). Průměrný věk dožití pacientů s mentální anorexií je asi 33 let (Navrátilová a Kalendová, 2019). Až u třetiny nemocných se vyvíjí terapeuticky rezistentní forma, která až v 15 - 20 % případů může vést k předčasnému úmrtí (Winston, 2012), nejrizikovější věkovou skupinou jsou pacienti ve věku 10 - 19 let. Riziko suicidia je u pacientů s terapeuticky rezistentní formou AN vysoké. Pacienti s mentální anorexií představují klinický model prostého hladovění s řadou endokrinních, metabolických, hematologických, muskulo-skeletálních a nutričních abnormalit (Tajiri et al., 2006). Malnutrice u pacientů s AN se vyznačuje úbytkem tukové tkáně, ale i kosterního svalstva, v kombinaci se zhoršenými biologickými funkcemi

(svalová slabost, kognitivní deficit, porucha obranyschopnosti) bez přítomnosti systémového zánětu (Soeters et al., 2008). Dochází k poklesu bazálního energetického výdeje (American Psychiatric Association, 2013; Winston, 2012).

Mezi rizikové faktory AN patří ženské pohlaví, úzkostné poruchy či obsedantně kompulzivní porucha, environmentální faktory (vliv historického, sociálního a kulturního prostředí), stejně jako genetické a fyziologické faktory (zvýšené riziko bipolární afektivní poruchy a depresivních poruch v rodinách s AN, speciálně purgativního typu; zvýšený výskyt AN u monozygotních dvojčat ve srovnání s dizygotními dvojčaty). Rizikovým faktorem je rovněž nadváha či obezita v dětství. Častější je rozvoj AN u pacientů s diabetem 1. typu (Winston, 2012).

V etiologii a patogeneze se uplatňují významně vlivy genetické. Existuje významná familiární agregace AN. Relativní riziko vzniku AN u příbuzných 1. stupně je až 11,3krát vyšší ve srovnání s běžnou populací. Heritabilita (dědivost) AN se pohybuje mezi 0,56 - 0,74 (Brandys et al., 2015). Na základě asociačních studií byly zjištěny polymorfismy genů regulujících serotoninový receptor a transportní protein (*HTR2A*, *5-HTT*), polymorfismus metyltransferáz (*COMT*) a neurotrofického faktoru derivovaného z mozku (*BDNF*) (Duncan et al., 2018; Baker et al., 2017). Celogenomové studie prokázaly pozitivní genetické korelace AN se schizofrenií, neurotickými poruchami, dosaženým vzděláním i obsahem cholesterolu ve velkých HDL a negativní genetické korelace s BMI, podílem tělesného tuku koncentrací inzulínu a inzulínovou rezistencí (Duncan et al., 2017). Studie zaměřené na epigenetické mechanismy prokázaly změny metylace DNA mapovaných do oblasti genů regulujících aktivitu glutamátu a serotoninu, lipidový a glukózový metabolismus, imunitu a zánět (Steiger et al., 2019).

Rizikovým faktorem jsou i dysfunkční rodinné vztahy či hyperprotektivita rodičů. Léčba mentální anorexie je založena především na psychoterapii, ale je nezbytná i stabilizace vnitřního prostředí a obvykle i určitý hmotnostní přírůstek, protože při velmi nízkém BMI (body mass index) může být psychoterapie neúčinná. Získat pacienta ke spolupráci při léčbě AN je často problematické, protože většině pacientů chybí na onemocnění náhled, častá je tzv. pseudospolupráce s manipulativním chováním a pokračováním v praktikách vedoucích ke snižování hmotnosti.

Klinické projevy mentální anorexie

Gastrointestinální projevy

Gastrointestinální obtíže jsou u pacientů s mentální anorexií velmi časté. K nejčastějším patří pocit plnosti i po požití malých porcí, pyróza, nadýmání, obstipace. Díky dlouhodobému hladovění se zpomaluje evakuace žaludku, snižuje se sekrece žaludečních i pankreatických enzymů, prodlužuje se transit time, dochází k hypertrofii slinných žláz, může se rozvinout jaterní steatóza. Na poruše motility střeva a zácpě se podílí mimo jiné snížená hladina trijodtyroninu a změny v hladině elektrolytů (pokles koncentrace kalia a hořčíku), ale také zneužívání laxativ v anamnéze (Navrátilová a Kalendová, 2019). Pocit hladu se postupně snižuje, až zcela vymizí. Pokud pacient opakovaně zvrací, může dojít ke vzniku ezofagitidy, otoku příušní žlázy a rovněž k narušení zubní skloviny a iritací až zánětu periodontu.. Časté jsou ragády ústních koutků, afty, strukturální změny na povrchu jazyka. (Moskowitz a Weiselberg, 2019).

Kardiovaskulární projevy

Kardiovaskulární změny jsou u pacientů s AN velmi časté. Dlouhodobé hladovění může vést k atrofii srdečního svalu (s častým poklesem hmotnosti levé síně) s projevy srdečního selhávání. Významnou roli ve funkci srdce hrají i změny v elektrolytovém hospodářství, které mohou vyústit až v úmrtí vlivem maligní arytmie, fibrilace komor či akutního srdečního

selhání (Meisnerová, 2013). Typickým nálezem je u pacientů s AN bradykardie, ortostatická hypotenze a arytmie. Na EKG lze často pozorovat snížení amplitudy QRS komplexu, prodloužení QT intervalu nad 470 ms, nodální rytmus či síňokomorovou blokádu, snížení ST úseku, někdy lze pozorovat vlnu U, širokou TU vlnu, snížení T vlny. Echokardiografie poměrně často odhalí prolaps mitrální chlopně, někdy její insuficienci. Změny ve funkci mitrální chlopně lze pozorovat u více než 60 % pacientů s AN. U pacientů s AN byla popsána také Tako-tsubo kardiomyopatie v souvislosti s těžkou hypoglykemií. Na vzniku kardiomyopatie se mohou podílet i deficity mikronutrientů, především draslíku, fosforu, hořčíku, selenu, vitamínu E či thiaminu (Navrátilová a Kalendová, 2019; Moskowitz a Weiselberg, 2019).

Kožní projevy

Pacienti s AN mají typické kožní projevy. V souvislosti s poruchou termoregulace se objevuje výraznější jemné ochlupení, tzv. lanugo, a to zejména na zádech, nápadná je akrocyanóza, kůže bývá suchá, s tendencí k praskání. Vlasy zvýšeně vypadávají, vlasy i nehty jsou lomivé. Zhoršuje se hojení ran. Vzhledem k trombocytopenii a snížené hladině vitamínu K snadno vznikají hematomy a petechie (Navrátilová a Kalendová, 2019). Při výrazné konzumaci karotenoidů se může kůže zbarvit mírně do žlutooranžova, zejména na dlaních a ploskách nohou. Při opakovaném vyvolávání zvracení můžeme pozorovat tzv. Russelovo znamení (hyperkeratóza na hřbetě ruky).

Další klinické projevy

Narušena může být funkce ledvin vlivem změn v elektrolytovém hospodářství, zejména hypokalemií a hypomagnezemií, případně metabolickou acidózou vzniklou vlivem zneužívání projímadel nebo vyvolávaným zvracením. Může dojít až k chronické tubulární insuficienci s polyurií a polydypsií, sekrece kreatininu je nízká. Polyurie a polydypsie mohou být i psychogenního původu při nadměrném příjmu tekutin, někteří pacienti mají naopak nízký i příjem tekutin. U nich se může vlivem hypovolemie a následné stimulace osy renin-angiotenzin-aldosteron zvyšovat hladina reninu a aldosteronu a vzniká sekundární hyperaldosteronismus (Meisnerová, 2013). Při náhlém snížení příjmu tekutin hrozí pacientům vlivem zhoršené koncentrační schopnosti ledvin rychlá dehydratace. Nerozpoznaná dysfunkce ledvin u pacienta s AN může díky zvyšování plazmatické koncentrace draslíku, hořčíku a fosfátu maskovat celkový deficit těchto minerálních látek v organismu (Winston, 2012). Pacienti s chronickou dehydratací a AN mají zvýšený výskyt urolitiázy, patrně i díky vysokému příjmu oxalátů potravou. Častý je útlum dřeně a anémie, u nemocných s dehydratací se naopak koncentrace hemoglobinu zvyšují (Moskowitz a Weiselberg, 2019). Poruchy elektrolytového hospodářství mohou vyústit také v neurologické projevy, pacienti mají zejména sklony ke křečím, hyperventilační tetanii či epileptickým paroxysmům. Přítomny mohou být též poruchy plicní ventilace, související s úbytkem svalové hmoty dýchacích svalů, ale také s deficitem fosforu, draslíku a hořčíku. I opakované zvracení s následnou metabolickou alkalózou může vést k hypoventilaci – nejprve obvykle dochází k respirační kompenzaci s hypoventilací a vzestupem pCO₂ – postupně se může rozvinout až respirační selhání (Navrátilová a Kalendová, 2019). Riziko respiračního selhání s sebou nese i příliš rychlá realimentace bez monitorace a doplnění elektrolytů, především fosforu. Pacienti s mentální anorexií mívají narušen sexuální pud ve smyslu nezájmu až obavy z fyzického kontaktu, u mužů dochází k erektilní dysfunkci.

Hematologické změny

Změny v množství krevních elementů či hemoglobinu jsou u pacientů s AN velmi časté. Studie, zaměřená na hematologické změny u těžké AN popisuje až u 80 % pacientů anémii a leukopenii u třetiny případů se nachází neutropenie a 25 % trombocytopenie. Pancytopenie

byla přítomná u 23 % pacientů se závažnou AN (Sabel et al., 2013). Hematologické změny se připisují hypoplasii kostní dřeně, jejíž hematopoetická část ubývá přímo úměrně s úbytkem celkového tělesného tuku a je nahrazována gelovitou amorfní hmotou bohatou na glykosaminoglykany (rosolovitá přestavba kostní dřeně). Hypoplázie až aplázie kostní dřeně byla zjištěna u 39 % sledovaných pacientů s AN, přičemž 30 % mělo částečnou a 20 % totální rosolovitou přestavbu, v kostní dřeni se zároveň s přestavbou zvyšoval počet a velikost adipocytů (Abella et al., 2002). Zvýšené množství tukové tkáně v kostní dřeni pacientů s AN popisuje i další studie, přičemž vyšší byl podíl tukových buněk ve dřeni pacientek s AN a amenoreou než u pacientek s AN bez amenorey a podíl tukových buněk v kostní dřeni rostlo nepřímou úměrně s BMI, kostní denzitou a množstvím celkové tukové tkáně (Bredella et al., 2009). Při adekvátní výživě se změny v kostní dřeni ukázaly jako vratné (Abella et al., 2002). Celkový počet leukocytů, neutrofilů, monocytů a erytrocytů významně koreluje s BMI. Byla prokázána významná souvislost mezi procentem tělesného tuku a počtem monocytů, neutrofilů, eozinofilů i celkovým počtem leukocytů a hladinou hemoglobinu (Lambert et al., 1997). Studie neprokázala souvislost mezi krevními elementy a netučnou tělesnou hmotou ani u pacientů s AN, ani u kontrolní skupiny. AN je sice spojená s nižším příjmem Fe, Cu či vit. B₁₂, deficit Fe byl ve zmíněné studii popsán pouze u 6 % pacientů s těžkou AN. Deficit kyseliny listové ani vit. B₁₂ nebyl prokázán u žádného pacienta. U 25 % pacientů byl prodloužen INR, přičemž delší INR byl přítomen u pacientů s nižším BMI a během suplementace vit. K se INR u všech pacientů normalizoval (Sabel et al., 2013). Poměrně častým nálezem je u pacientů s AN také akantocytóza (Abella et al., 2002).

Změny elektrolytového, minerálového a vodního hospodářství

Změny v elektrolytovém hospodářství mohou vést u pacientů s mentální anorexií k velmi závažným až smrtelným komplikacím včetně srdečního selhání nebo selhání ledvin. Tyto změny hrozí zejména při častém zvracení, užívání laxativ či diuretik, nejčastěji dochází k poklesu hladin draslíku, hořčíku a fosforu, méně často sodíku a vápníku (Winston, 2012). U pacientů s častým zvracením hrozí metabolická alkalóza s hypochloremií, hyponatremií a sekundárně i sníženou hladinou draslíku a hořčíku. Hlavní příčinou deficitu draslíku při opakovaném zvracení je metabolická alkalóza vlivem ztráty vodíkových iontů v žaludeční šťávě s následnou zvýšenou nabídkou bikarbonátu renálním tubulům. Zvýšená hladina bikarbonátu v renálních tubulech zvyšuje exkreci draslíku. Deficit minerálních látek se nejdříve projeví sníženou až téměř nulovou exkrecí sodíku a chloridů do moči, naopak draslík bývá v moči ve zvýšeném množství a navzdory metabolické alkalóze bývá přítomna acidurie (v důsledku deplece kalia). Stanovení elektrolytů v moči je proto u pacientů s AN přínosnější než jejich stanovení v séru. Hladina minerálních látek v séru klesá až později a svědčí již pro výraznou kachexii. Zejména hladina draslíku jako hlavního intracelulárního iontu zůstává dlouho v normě i při výrazném deficitu jeho zásob v buňkách. U chronických pacientů se jeví jako citlivější laboratorní ukazatel deplece draslíku zvýšená hladina bikarbonátu v plazmě (Winston, 2012). Hypokalemická alkalóza se zvýšenými ztrátami draslíku močí jsou přítomny také při zneužívání diuretik. Biochemický obraz při zvracení nebo zneužívání diuretik je podobný Bartterovu syndromu a nazývá se pseudo-Bartterův syndrom. Odlišit pseudo-Bartterův syndrom od renálních příčin hypokalemické metabolické alkalózy může pomoci stanovení poměru chloridů a kreatininu v moči, který je u renálních příčin normální nebo zvýšený, zatímco u extrarenálních příčin snížený (Winston, 2012). U chronické metabolické alkalózy s těžkou hypokalémií a při zneužívání diuretik však nemusí být výsledek vypovídající. K hypokalémii může přispívat také dehydratace pacienta, při které dochází k sekundárnímu hyperaldosteronismu a následnému zvýšení renální exkrece draslíku a zvýšenému zpětnému vstřebávání sodíku a bikarbonátu. Při opakovaném zvracení dochází

také ke ztrátám chloridů a k hypochloremii, nízká hladina chloridů v ledvinách vede opět k retenci bikarbonátu.

Při zneužívání laxativ může vzniknout hypokalemická a hypochloremická metabolická acidóza, ztráty draslíku jsou způsobeny jeho zvýšeným vylučováním ze střeva (Winston, 2012). V moči bývá při zneužívání laxativ množství draslíku snižené, což pomáhá rozlišit tento stav od změn způsobených zvracením. Vyšetření moči je přínosné i z hlediska zjištění pitného režimu pacienta – nízká osmolarita svědčí pro nadměrný příjem tekutin, vysoká pro jejich restrikcii. Snižené vylučování sodíku a chloridů močí ukazuje na nadměrný příjem tekutin s nedostatkem minerálních látek nebo nadměrné cvičení s nedostatečnou náhradou potních ztrát minerály.

Deplece fosforu je ve fázi těžké malnutrice poměrně častá a přispívá ke snížení svalové síly dýchacích svalů, na které se podílí i nedostatek draslíku a hořčíku. Hypofosfatémie je častou komplikací refeeding syndromu, zejména při parenterální realimentaci, můžeme se s ní setkat však i ve fázi záchvatů přejídání u purgativního typu AN. Zvýšené riziko hypofosfatémie mají i pacienti zneužívající laxativa, diuretika či alkohol. Chronická acidóza při dlouhodobém užívání laxativ snižuje zpětnou resorpci fosfátu v tubulech. K depleci fosfátu u AN přispívá i hyperkortizolémie, která vede ke zvýšení jeho exkrece do moči. Protože fosfát je podobně jako draslík především intracelulární ion, jeho sérová koncentrace může být i při výrazném intracelulárním nedostatku v normě. Hypofosfatémie může vést k rhabdomyolýze, k akutnímu renálnímu selhání, k chronické tubulointersticiální nefropatii nebo glomeruloskleróze (Winston, 2012).

Pacienti s AN mají rovněž často nízký příjem hořčíku, hypomagnezémie se může vyskytovat již ve fázi hladovění, častější je ale až ve fázi realimentace a je součástí refeeding syndromu. Ke ztrátám hořčíku dochází jak stolicí, tak močí, výraznější deplece tedy provází zneužívání laxativ i diuretik. Hypomagnezémie se častěji vyskytuje i u pacientů zneužívajících alkohol, kdy je často spojena s hypokalciurií a hypokalemickou metabolickou alkalózou a vytváří biochemický obraz podobný Gitelmanovu syndromu.

Hormonální změny spolu s nedostatečným příjmem vápníku jsou příčinou velmi časté osteopénie a osteoporózy u pacientů s AN. Osteoporóza je popisována ve 13-38 % případů (Winston, 2012), kostní denzita je u AN snížena až o čtvrtinu oproti zdravým kontrolám (Navrátilová a Kalendová, 2019). Významnější vliv na snížení minerální kostní denzity je připisován hormonálním vlivům, snížený příjem kalcia u pacientů s AN potvrdily pouze některé studie (Misra et al., 2005). Hypokalcémie při dlouhodobém deficitu vápníku může vést až k parestéziím a křečím. Deficit vápníku je častý v období hladovění, k jeho prohloubení dochází ve fázi realimentace při suplementaci fosfátu. K hypokalcémii nereagující na suplementaci přispívá také hypomagnezémie.

Hyponatrémie je spojena jednak s nadměrným příjmem nízkomineralizovaných tekutin, jednak se zneužíváním diuretik, hypovolemická hyponatrémie byla však popsána i u těžce malnutričních pacientů, kteří dodržovali dlouhodobou dietu s velmi nízkým obsahem sodíku v rámci snahy o snížení hmotnosti. Vzácně se může hypovolemická hyponatrémie vyskytovat u opakovaně zvracejících pacientů. Zejména u normovolemické hyponatrémie je nutné diferenciatně diagnosticky vyloučit SIADH (syndrom nepřiměřené sekrece antidiuretického hormonu), při hyponatrémii s relativně vysokou hladinou draslíku je někdy nutné vyloučit Addisonovu chorobu (Winston, 2012).

Ze stopových prvků chybí pacientům s AN nejčastěji železo, zinek a selen (Winston, 2012; Navrátilová a Kalendová, 2019). Deficit železa vede k rozvoji sideropenické (hypochromní, mikrocytární) anémie. Nedostatek selenu přispívá k rozvoji kardiomyopatie, ke zpomalení růstu, k poškození cévních stěn, svalových a nervových buněk. Nedostatek zinku se projevuje sníženou obranyschopností, zhoršeným hojením ran, záněty kůže, nekrotickými změnami v hypofýze či psychickými změnami (Navrátilová a Kalendová, 2019).

Další laboratorní změny

U pacientů s mentální anorexií často nacházíme sníženou hladinu urey a kreatininu díky snížené hmotnosti kosterního svalstva a sníženému příjmu bílkovin. Jejich normální či zvýšená hladina může signalizovat závažnou dehydrataci či selhávání ledvin (Winston, 2012). Protože z hladiny kreatininu se odhaduje glomerulární filtrace, bývá tato často u pacientů s AN nadhodnocována. Pacienti zneužívající laxativa mohou mít sníženou 24hodinovou clearance kreatininu oproti restriktivnímu typu AN (Winston, 2012).

Častým nálezem je elevace jaterních transamináz, ať už ve fázi hladovění či ve fázi realimentace. Většinou nejsou přítomny klinické symptomy signalizující poruchu funkce jater. Během realimentace dochází spíše k normalizaci hladin jaterních transamináz, i když někdy naopak zaznamenáváme jejich vzestup. Za možnou příčinu zvýšených hladin jaterních transamináz se považuje snížená perfúze až ischemie jater, autofagie hepatocytů a nedostatek glutathionu. Předpokládá se, že zvýšená sekrece inzulínu během realimentace může vést k lipogenezi a tukové přeměně jater (Winston, 2012). Závažnější poškození jater až selhání jater při AN jsou velmi vzácné.

Častým laboratorním nálezem u pacientů s AN je rovněž hypoglykémie, mírná hypoglykémie bývá obvykle dobře tolerována. Těžká hypoglykémie je ale závažným prognostickým faktorem a důvodem k okamžité hospitalizaci. Hladiny inzulínu jsou obvykle snížené nebo normální (Winston, 2012).

Z vitamínů nacházíme v krvi u pacientů s AN sníženou hladinu nejčastěji vitamínu B₁ (thiaminu), B₂, B₆ a C. Vztah mezi hladinou vitamínů v krvi a celkovou zásobou v organismu je komplexní a není proto vždy snadné určit závažnost jejich deficitu. Nedostatek thiaminu byl popsán až u 38 % pacientů s AN. Deficit thiaminu může vést i ke kognitivnímu postižení, které je u těžké AN časté (Winston, 2012). Nedostatek vitamínu A je vzácný, ale může vést až ke keratomalacii a následné slepotě. V rané fázi realimentace se doporučuje suplementovat především vitamíny skupiny B. Méně často, avšak signifikantně častěji než u běžné populace, nalézáme u pacientů s AN zvýšenou hladinu β-karotenu. Plazmatické hladiny retinolu a retinol vazebného proteinu však bývají obvykle v normě (Winston, 2012). Příčina zvýšené hladiny β-karotenu není zcela jasná, v některých případech ji lze vysvětlit nadměrným příjmem ovoce a zeleniny bohatých na karoten, tato souvislost však není nalezena vždy.

Hladina vitamínu D je podle většiny prováděných studií u pacientů s AN v normě, v jedné ze studií byla snížená hladina 25-hydroxyvitaminu D pozorována u 88 % pacientů, zatímco hladina 1,25-dihydroxyvitaminu D byla snížena pouze u 12 % pacientů (Winston, 2012).

Méně častým nálezem při AN je zvýšená aktivita slinné amylázy (při poranění nebo zvýšené stimulaci slinné žlázy při opakovaném zvracení). Při hyperamylazémii je nutné změřit i hladinu sérové lipázy k odlišení hyperamylazémie slinného původu od pankreatitidy, která se někdy také při AN vyskytuje.

U pacientů s mentální anorexií, kteří excesivně cvičí, nacházíme často zvýšenou hladinu kreatinkinázy.

Hormonální změny

K typickým endokrinním změnám u pacientů s AN patří syndrom nízkého trijodthyroninu. Dochází k poruše konverze tyroxinu na T₃ v periférii, tyroxin se mění na neúčinný reverzní trijodthyronin. Hladina tyroxinu může být normální nebo snížená, hladina TSH bývá obvykle v normě, přesto klinický obraz odpovídá hypotyreóze (bradykardie, hypotenze, hypotermie, obstipace). Snížená hladina T₃ a T₄ je odpovědí na snížení metabolismu a není vhodná terapie hormony štítné žlázy (Meisnerová, 2013).

Hladina IGF-1 je u pacientů s AN snížena a koreluje s BMI, množstvím tukové tkáně a středním obvodem paže. Může odrážet energetický příjem v posledním období v řádu týdnů

(Casanueva et al., 1997). Snížená je i sérová koncentrace IGFBP-3 (insulin-like growth factor binding protein 3), která koreluje s BMI (Golden et al., 1994). Pacienti s AN mají rovněž signifikantně sníženou hladinu leptinu oproti zdravým kontrolám. Hladina leptinu pozitivně koreluje s množstvím tukové tkáně a se sérovou hladinou IGF-1 (Grinspoon et al., 1996) a někteří autoři dávají sníženou hladinu leptinu do souvislosti s amenorheou u pacientek s AN (Winston, 2012; Hebebrand et al., 1997).

Typický je také hyperkortikalismus, vzestup bazální sekrece růstového hormonu při snížené hladině IGF-1, snížená hladina folikuly stimulujícího hormonu, luteinizačního hormonu a estradiolu u dívek, snížená hladina testosteronu u chlapců. Odpověď na gonadoliberin (GnRH-gonadotropin releasing hormone) je snižená, uvolňování luteinizačního hormonu odpovídá prepubertálnímu období, což je připisováno nízké hladině leptinu, který hraje roli v sekreci GnRH (Winston, 2012). Uvádí se, že již ztráta 10 - 15 % tělesné hmotnosti je spojena s amenoreou (Pařízek a kol., 2010). Přibližně 20 % dívek a žen přestane menstruat ještě před významnou ztrátou hmotnosti.

Při dlouhodobě nízkém příjmu potravy klesá sekrece inzulínu, a naopak dochází ke vzestupu sekrece glukagonu, hydrokortizonu a katecholaminů. Většina pacientů má zvýšenou citlivost tkání k inzulínu, někdy však dochází vlivem katecholaminů i ke snížení citlivosti na inzulín. Při nízkých zásobách glykogenu může docházet k postprandiálním hypoglykemiím (Navrátilová a Kalendová, 2019). Zvýšená je sekrece kortikoliberinu, který snižuje sekreci neuropeptidu Y v hypotalamu a má anorektický účinek. Jeho zvýšená sekrece rovněž zvyšuje sérovou hladinu kortizolu (Meisnerová, 2013). Odpověď na ACTH (adrenokortikotropní hormon) je v normě (Winston, 2012). Mezi hladinou kortizolu a ukazateli nutričního stavu (jako BMI, množství tukové tkáně, hladina leptinu, inzulínu a IGF-1) byla u pacientů s AN popsána negativní korelace. Příjem glukózy nevedl u osob s AN ke snížení sekrece kortizolu, na rozdíl od zdravých kontrol. Nárůst BMI o 10 % vedl u pacientů s AN k významnému snížení počtu kortizolových pulzů. Popsána byla také silná negativní korelace mezi hladinou kortizolu a hladinou markerů kostního metabolismu (C-terminální propeptid prokolagenu I a osteokalcin) (Misra et al., 2004). Z výzkumu vyplývá, že estradiol není dobrým prediktorem kostní hustoty u osob s AN a suplementace estrogenu u nich nevede k jejímu zvýšení. Vůči růstovému hormonu, který je endogenním anabolickým hormonem s účinkem na zvýšení kostní hmoty, je u pacientů s AN popsána nutričně získaná rezistence, a to až u 50 % pacientů (Navrátilová a Kalendová, 2019; Misra et al., 2004). Hormonální příčiny jsou považovány za hlavní důvod snížené minerální kostní denzity a zahrnují hypogonadismus, rezistenci vůči růstovému hormonu, sníženou koncentraci IGF-1, hyperkortisolismus a pravděpodobně i narušenou sekreci leptinu (Winston et al., 2008). Hladina parathormonu je obvykle v normě. Markery kostního metabolismu naznačují u dospělých pacientů s AN rozpojení kostního obratu, zvýšenou resorpci a sníženou tvorbu kostní hmoty, u dospívajících snížený celkový kostní obrat, výsledky jednotlivých studií ale nejsou jednoznačné. Byla nalezena pozitivní korelace mezi BMI a markery tvorby kostní hmoty a negativní korelace mezi BMI a markery kostní resorpce (Winston, 2012). Byla nalezena signifikantní korelace mezi nízkou hladinou leptinu a sníženou kostní minerální denzitou.

24hodinová sekrece ghrelinu je u osob s AN významně zvýšená oproti zdravým kontrolám i osobám s astenickým habitem. K výraznějšímu vzestupu hladiny ghrelinu dochází v noci. Hladina ghrelinu negativně koreluje s BMI (během hladovění i po realimentaci), s hladinou leptinu a trijodthyroninu u pacientů s AN, nebyla nalezena korelace mezi hladinou ghrelinu a růstového hormonu ani mezi hladinou ghrelinu a kortizolu (Tolle et al., 2003). Sekrece ghrelinu je ovlivněna i celkovým energetickým příjmem. Při krátkodobém hladovění byl pozorován vzestup hladiny ghrelinu nezávisle na změnách v množství tukové tkáně (Tschop et al., 2000; Moskowitz a Weiselberg, 2019).

U pacientů s AN byly popsány během hladovění snížené hladiny fibroblastového růstového faktoru 21 (FGF21) oproti osobám s normální hmotností (Dostálová et al., 2008). Plazmatická hladina FGF21 pozitivně korelovala s BMI, s hladinou leptinu a inzulínu a negativně korelovala s hladinou sérového adiponektinu jak u osob s AN, tak u zdravých kontrol. Částečná realimentace u pacientů s AN vedla k dalšímu snížení hladin FGF21 (Dostálová et al., 2008). FGF21 má široké metabolické účinky – působí protizánětlivě, snižuje glykémii a hladiny triglyceridů u obézních osob a diabetiků. Snížená hladina FGF21 při hladovění může přispívat ke zvýšené lipolýze v tukové tkáni a udržení normoglykémie.

Několik studií rovněž našlo narušení sekrece antidiuretického hormonu (ADH) u pacientů s AN. Sekrece ADH je v akutní fázi onemocnění zvýšená, je narušená reakce na nedostatek tekutin (zhoršená schopnost koncentrace moči před i po podání ADH). Koncentrace ADH v mozkomíšním moku pacientů s AN je zvýšená (Winston, 2012). Tyto změny, spolu s nastavením hypotalamických osmoreceptorů na nižší osmolaritu se podílejí na hyponatrémii.

Změny metabolismu proteinů a lipidů

Hladiny sérových proteinů jsou obvykle v normě i přes velmi nízký BMI, v normě je obvykle jak albumin, tak celková bílkovina, prealbumin i transferin, stejně tak i méně často používané markery jako je ceruloplasmin či retinol vazebný protein. Hladiny sérových proteinů proto nejsou vhodným laboratorním ukazatelem, hodnotícím závažnost podvýživy pacienta. Ke snížení hladiny albuminu dochází obvykle až při zánětlivém onemocnění a hypoalbuminémie je závažný prognostický faktor. Příčina dlouhodobého udržení normální hladiny albuminu je nejasná, může reflektovat dostatečný příjem bílkovin i přes velmi nízký energetický příjem, adaptaci na hladovění snížením katabolismu proteinů, ale také přesun albuminu z extravaskulárního do intravaskulárního poolu (Winston, 2012). Jako vhodnější ukazatelé nutričního stavu, než hladiny běžně používaných sérových proteinů se jeví hladiny jednotlivých aminokyselin a jejich vzájemné poměry.

U pacientů s AN je velmi častá dyslipidémie s fenotypem HLP IIa. Ve více než 50 % případů je přítomna hypercholesterolémie (zvýšená hladina celkového cholesterolu, triacylglycerolu a HDL-cholesterolu), která může být důsledkem zvýšené absorpce exogenního cholesterolu spolu se zpomaleným tranzitním časem střeva při nezměněné úrovni syntézy cholesterolu (Žák et al., 2005; Feillet et al., 2000). Publikována byla studie s negativní korelací mezi hladinou cholesterolu a hladinou T₃ a T₄ (Matzkin et al., 2007). Přestože přesná příčina hypercholesterolémie není dosud jasná, je hypercholesterolémie u pacientů s AN užitečným diagnostickým kritériem, které umožňuje AN odlišit například od nespecifických střevních zánětů nebo malabsorpčních syndromů, u kterých je obvykle hladina cholesterolu při dolní hranici normy nebo snížená (Winston, 2012). Výjimečně se však i u pacientů s AN může vyskytovat hypocholesterolémie. K té dochází u těžkých forem s BMI pod 13 kg/m² dochází k hypocholesterolémie (Takeshita et al., 2002).

U nemocných s AN byl prokázán deficit membránových vícenenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LC-PUFA, long-chain polyunsaturated fatty acids) bez biochemických známek deficitu esenciálních mastných kyselin (Caspar-Bauguil et al., 2012). Nicméně nálezy složení mastných kyselin v hlavních lipidových třídách plasmy a erytrocytárních membránách u nemocných s AN jsou pouze částečně shodné (Shih et al., 2016; Shih et al., 2017). Rozdílné nálezy jsou zřejmě důsledkem řady faktorů, mezi nimiž významné jsou metodické aspekty uspořádání studie, charakteristika nemocných s AN (záchyt, úplná nebo částečná remise, psychiatrické a endokrinní komorbidity), typ a složení stravy, délka lačnění, stejně jako genetické faktory (polymorfismy FADS1 a FADS2) (Žák et al., 2016). Výsledky jsou v neposlední řadě ovlivněny i analyticky. Většina prací vyjadřuje koncentrace mastných kyselin v plazmatických a erytrocytárních lipidech v molárních procentech.

U AN obsah PUFA v tkáních negativně koreluje s hmotností tukové tkáně, která přispívá, při omezeném příjmu kyseliny linolové (LA, 18:2n-6) a α -linolenové (ALA, 18:3n-3) pouze zlomkem k obsahu cirkulujících PUFA řady n-3 a n-6 (Caspar-Bauguil et al., 2012). V našich předchozích studiích jsme prokázali specifické změny plasmatických koncentrací necholesterolových sterolů a spektra mastných kyselin. Osoby s AN měly zvýšené koncentrace fytosterolů (kampesterol a β -sitosterol) při nezměněných koncentracích latosterolu. Současně byl nalezen pokles koncentrace vícenenasycených mastných kyselin řady n-6 (PUFA n-6), který byl kompenzován vzestupem koncentrace mononenasycených (MFA) a nasycených mastných kyselin (Žák et al., 2005). Předpokládá se, že eikosanoidy a dokosanoidy derivované z LC-PUFA se podílejí nejen na riziku AN, ale současně mohou ovlivnit patogenezi jejích komorbidit (Yehuda and Rabinowitz, 2016; Shih et al., 2017).

Závěr

Mentální anorexie je závažné psychiatrické onemocnění, které je možno využít jako klinický model prostého hladovění. Dochází při něm k významným změnám v elektrolytovém hospodářství, ke změnám endokrinním, metabolickým, hematologickým, imunologickým i muskuloskeletárním. Realimentaci je nutné vést pozvolna a s důslednou kontrolou vnitřního prostředí předcházet rozvoji refeeding syndromu. Základem léčby mentální anorexie zůstává psychoterapie, k její účinnosti je však někdy nutná stabilizace vnitřního prostředí a zvýšení tělesné hmotnosti.

Práce byla podpořena výzkumnými projekty RVO VFN64165/2012 (MZ ČR) a PROGRES Q25 (1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy)

Literatura

Abella E., Feliu E., Granada I., et al. Bone Marrow Changes in Anorexia Nervosa Are Correlated With the Amount of Weight Loss and Not With Other Clinical Findings. *Am J Clin Pathol* 2002; 118(4): 582-588.

American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Ed. (DSM-5) Washington DC: American Psychiatric Association 2013.

Baker JH., Schaumberg K., Munn-Chernoff MA. Genetics of anorexia nervosa. *Curr Psychiatry Rep* 2017; 19(11): 84.

Barbarich-Marsteller NC. Eating Disorders in the 21st Century. Anorexia Nervosa – Symptoms, Treatment, and Neurobiology. New York: Nova Science Publishers, Inc. 2012. <http://www.novapublishers.com>.

Brandys MK., de Kovel CGF., Kas MJ., et al. Overview of genetic research in anorexia nervosa: the past, the present and the future. *Int J Eat Disord* 2015; 48(7): 814-825.

Bredella MA., Fazeli PK., Miller KK., et al. Increased Bone Marrow Fat in Anorexia Nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(6): 2129-2136.

Casanueva FF., Dieguez C., Popovic V. Serum immunoreactive leptin concentrations in patients with anorexia nervosa before and after partial weight recovery. *Biochem Mol Med* 1997; 60(2): 116-120.

Caspar-Bauguil S., Montastier E., Galinon F., et al. Anorexia nervosa patients display a deficit in membrane long chain poly-unsaturated fatty acids. *Clin Nutr* 2012; 31(3): 386-390.

Dostálová I., Kaválová P., Haluzíková D., et al. Plasma concentrations of fibroblast growth factors 19 and 21 in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(9): 3627-3632.

- Duncan L., Yilmaz Z., Walters R., et al.** Genome-wide association study reveals first locus for anorexia nervosa and metabolic correlations. *Am J Psychiatry* 2017; 174(9): 850-858.
- Feillet F., Feillet-Coudray C., Bard J., et al.** Plasma cholesterol and endogenous cholesterol synthesis during refeeding in anorexia nervosa. *Clin Chim Acta* 2000; 294(1-2): 45-56.
- Golden NH., Kreitzer P., Jacobson MS.** Disturbances in growth hormone secretion and action in adolescents with anorexia nervosa. *J Pediatr* 1994; 125(4): 655-660.
- Grinspoon S., Gulick T., Askari H.** Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(11): 3861-3863.
- Hebebrand J., Blum WF., Barth N.** Leptin levels in patients with anorexia nervosa are reduced in the acute stage and elevated upon short-term weight restoration. *Mol Psychiatry* 1997; 2(4): 330-334.
- Lambert M., Hubert C., Depresseux G., et al.** Hematological Changes in Anorexia Nervosa are Correlated with Total Body Fat Mass Depletion. *Int J Eat Disord* 1997; 21(4): 329-334.
- Matzkin V., Slobodianik N., Pallaro A., et al.** Risk factors for cardiovascular disease in patients with anorexia nervosa. *Int J Psychiatr Nurs Res* 2007; 13(1):1531-1545.
- Meisnerová E.** Poruchy příjmu potravy z pohledu internisty. *Interní Med* 2013; 15(8-9): 266-268.
- Misra M., Miller KK., Almazan C., et al.** Alterations in Cortisol Secretory Dynamics in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa and Effects on Bone Metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(10): 4972-4980.
- Misra M., Miller KK., Kuo K., et al.** Secretory Dynamics of Leptin in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa and Healthy Adolescents. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289(3): E373-E381.
- Moskowitz L., Weiselberg E.** Anorexia/atypical anorexia nervosa. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2017; 47(4): 70-84.
- Navrátilová M., Kalendová M.** Poruchy příjmu potravy – mentální anorexie a bulimie, nejzávažnější somatické a metabolické komplikace. Způsoby realimentace. Shrnutí 30leté praxe z metabolického pohledu internisty. *Čes-slov Pediatr* 2019; 74(5): 290-300.
- Pařízek A., Papežová H., Uhlíková P.** Poruchy příjmu potravy a ženský reprodukční systém. In: Papežová H (ed). *Spektrum poruch příjmu potravy. Interdisciplinární přístup*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing a.s. 2010.
- Sabel AL., Gaudiani JL., Statland B., Mehler PS.** Hematological abnormalities in severe anorexia nervosa. *Ann Hematol* 2013; 92(5): 605-613.
- Shih PB., Yang J., Morisseau C., et al.** Dysregulation of Soluble epoxide hydrolase and lipidomic profiles in anorexia nervosa. *Mol Psychiatry* 2016; 21(4): 537-546.
- Shih PB., Morisseau C., Le T., et al.** Personalized polyunsaturated fatty acids as a potential adjunctive Treatment for anorexia nervosa. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2017; 133: 11-19.
- Soeters PB., Reijven PL., van Bokhorst-de van der Schueren MAE., et al.** A rational approach to nutritional assessment. *Clin Nutr* 2008; 27(5): 706-716.
- Steiger H., Booij L., Kahan E., et al.** A longitudinal, epigenome-wide study of DNA methylation in anorexia nervosa: results in actively ill, partially weight-restored, long-term remitted and non-eating-disordered women. *J. Psychiatry Neurosci* 2019; 44(3): 205-213.
- Tajiri K., Shimizu Y., Tsuneyama K., Sugiyama T.** A Case Report of Oxidative Stress in a Patient with Anorexia Nervosa. *Int J Eat Disord*, 2006; 39(7): 616-618.

Takeshita J., Yasumichi A., Nobuyoshi H., et al. Abetalipoproteinemia-Like Lipid Profile and Acanthocytosis in a Young Woman with Anorexia Nervosa. *Am J Med Sci* 2002; 324(5): 281-284.

Tolle V., Kadem M., Bluet-Pajot MT., et al. Balance in Ghrelin and Leptin Plasma Levels in Anorexia Nervosa Patients and Constitutionally Thin Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(1): 109-116.

Tschop M., Smiley DL., Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407(6806): 908-913.

Winston AP., Alwazeer AEF., Bankart MJG. Screening for osteoporosis in anorexia nervosa: prevalence and predictors of reduced bone mineral density. *Int J Eat Disord* 2008; 41(3): 284-287.

Winston AP. The Clinical Biochemistry of anorexia nervosa. *Ann Clin Biochem* 2012; 49(Pt 2): 132-143.

Yehuda S., Rabinowitz S. The role of essential fatty acids in anorexia nervosa and obesity. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2016; 56(12): 2021-2035.

Zipfel S., Giel KE., Bulik CM., et al. Anorexia nervosa: aetiology, assessment, and treatment. *Lancet Psychiatry* 2015; 2(12):1099-111.

Žák A., Vecka M., Tvrzicka E., et al. Composition of plasma fatty acids and non-cholesterol sterols in anorexia nervosa. *Physiol Res* 2005; 54(4): 443-451.

Žák A., Slabý A., Tvrzická E., et al. Desaturázy mastných kyselin: patofyziologie a klinický význam. *Čas Lék čes* 2016; 155(2): 15-21.

VYBRANÉ EXOGÉNNE FAKTORY A KARDIOVASKULÁRNE OCHORENIA**SELECTED EXOGENOUS FACTORS AND CARDIOVASCULAR DISEASES**

Z. Guľašová, Z. Hertelyová

Ústav experimentálnej medicíny, LF UPJŠ v Košiciach

Abstract

Most of the cardiovascular diseases are affected by many risk factors that can be altered, treated, controlled, and affected. These factors include smoking, obesity, diabetes, high cholesterol and others. There are also factors such as age, gender, family history that cannot be influenced. Despite the fact that many factors contributing to the development of the cardiovascular diseases are known, their amount in the human population is constantly increasing. Therefore, it is necessary to know and find new exogenous factors, not only those that contribute to the development of cardiovascular diseases, but also those factors that protect from the diseases of heart and vessels.

Úvod

Kardiovaskulárne ochorenia patria vo svetovej populácii k často sa vyskytujúcim ochoreniam obehovej sústavy a dosahujú popredné miesto v počte úmrtnosti pacientov. Je to podmienené najmä pôsobením rôznych rizikových faktorov napr. dedičnosti, fajčenia, obezity, diabetes mellitus, depresie a ďalších. Správnou prevenciou je možné prispieť k zníženiu výskytu kardiovaskulárnych ochorení.

Exogénne faktory a kardiovaskulárne ochorenia

Obezita súvisí so zvýšenou úmrtnosťou, rovnako aj so znížením priemernej dĺžky života a dosahuje globálny epidemiologický rozmer nielen u dospelých, ale aj u detí [4]. S obezitou sú pridružené aj ďalšie ochorenia, vrátane niektorých druhov rakoviny a najmä kardiovaskulárnych ochorení. Je hlavným rizikovým faktorom pre hypertenziu, zlyhanie srdca, koronárne ochorenie srdca [22], keďže má nepriaznivé účinky na hemodynamiku, štruktúru a funkciu kardiovaskulárneho systému. Obezita zvyšuje celkový objem krvi a srdcový výdaj, ale aj celkovú pracovnú záťaž srdca [11], súvisí s dysfunkciou endotelu, ktorá je výsledkom zníženia oxidu dusnatého (NO). Tento pokles NO pri obezite koreluje so zvýšením oxidačného stresu, ale môže byť aj dôsledkom aktivity prozápalových cytokínov [22].

S obezitou sú spojené aj ďalšie rizikové faktory kardiovaskulárnych ochorení, zahŕňajúc vysoký krvný tlak, cukrovku, abnormálne hladiny lipidov (vysoký cholesterol a zvýšené triacylglyceroly). Tieto faktory prispievajú nielen k zmene štruktúry krvných ciev, ale aj k celkovej zmene metabolizmu kardiovaskulárneho systému [16]. Zvýšené množstvo cholesterolu v krvi vedie k jeho zabudovávaniu do cievnej steny, čo môže vyústiť až do aterosklerózy. Postihnuté cievy menia svoju štruktúru, výsledkom čoho je sťažený a obmedzený prietok krvi. V prípade, že dôjde k úplnému zablokovaniu prítoku krvi do srdca, nastane srdcový infarkt [30].

Štúdie odhalili spojitosť medzi metabolitmi obsahujúcimi aminokyseliny s rozvetveným reťazcom (BCAA) a rizikom kardiovaskulárneho ochorenia. BCAA predstavuje podskupinu troch dôležitých esenciálnych aminokyselín, leucínu, izoleucínu a valínu, ktorých primárnym zdrojom je potrava. Zvýšené hladiny BCAA boli pozorované u pacientov s koronárnym ochorením artérií, zároveň bol zistený súvis medzi BCAA a cievnu mozgovou príhodou.

Tieto aminokyseliny sú považované aj za jeden z rizikových faktorov vzniku cukrovky. Začiatok nesprávne regulovanej metabolickej signalizácie na začiatku kardiovaskulárnych ochorení, modifikuje metabolizmus BCCA, čo vedie primárne k zmenenému množstvu BCAA cirkulujúceho v krvi a sekundárne môže viesť k zvýšenému množstvu BCAA aj v tkanivách. Zmena metabolizmu BCCA môže byť spojená so zmenou vnútrobunkovej signalizácie v prozápalovom tukovom tkanive pri obezite, fajčení, nedostatku pohybu. Genetické zmeny enzýmov, ktoré regulujú odbúravanie BCCA pravdepodobne najsť signifikantnejšie prispievajú k zvýšenému množstvu týchto aminokyselín v krvi a tkanivách, ktoré ako sa zistilo nie je závislé od ich množstva v diéte. Napriek tomu BCCA patria medzi rizikový faktor kardiovaskulárnych ochorení a zníženie množstva týchto kyselín v krvi môže znížiť výskyt kardiovaskulárnych ochorení a infarktu [7, 26].

Vývoj a progresia koronárnej artériovej choroby je spojené s aktiváciou imunitného systému a zápalom, kde aktivované makrofágy a prozápalový cytokín interferón gamma aktivujú biosyntézu pteridínových derivátov napr. neopterinu a 5,6,7,8-tetrahydrobiopterín (BH₄), ktoré sa podieľajú na kardiovaskulárnych ochoreniach, rakovine ovárií, u pacientov s dlhodobou aktiváciou imunitného systému. Vyššie hladiny pomeru fenylalanínu ku tyrozínu (Phe/Tyr) v krvi boli pozorované počas zápalu a imunitnej aktivácie u pacientov s kardiovaskulárnymi ochoreniami. Zápal a aktivácia imunitného systému poškodzuje premenu fenylalanínu na tyrozín. Poškodený metabolizmus fenylalanínu a zvýšený pomer Phe/Tyr u pacientov s kardiovaskulárnymi ochoreniami je spojený s neuropsychiatrickými poškodeniami a únavou [18].

Koenzým Q10 (CoQ10) prítomný v bunkových membránach, je dôležitý antioxidant, jeho redukovaná forma, ubiquinol, ochraňuje bunkovú a mitochondriálnu membránu, ako aj molekuly DNA pred oxidačným poškodením spôsobeným voľnými radikálmi, zároveň chráni LDL častice pred oxidáciou, ktorý pochádza buď z endogénnej syntézy alebo z exogénnych zdrojov, teda potravy a výživových doplnkov, ktoré sa podávajú pacientom s kardiovaskulárnymi ochoreniami [29]. Štúdie odhalili nedostatok CoQ10 v myokardiálnom tkanive pacientov s kardiovaskulárnym ochorením. Jeho znížená hodnota bola zistená aj u pacientov s ochorením aortálnej a mitrálnej chlopne, s diabetickou kardiomyopatiou, s kongenitálnymi chlopňovými chybami [28].

Vápnik je minerál, ktorý má podstatnú úlohu v metabolizme kostí [12, 23], ale pri kardiovaskulárnych ochoreniach môže dôjsť k cievnej kalcifikácii, teda ukladaniu vápenatých solí v tkanivách, ktorá súvisí s hyperfosfatémiou pri chronickom ochorení obličiek [6]. Zvýšenie množstva fosforu v krvnom sére je ďalším rizikovým faktorom pre kardiovaskulárne ochorenia, pretože vedie k zvýšeniu vápnika a ku kalcifikácii ciev, čo zvyšuje tuhosť ciev pri kardiovaskulárnych ochoreniach, rýchlosť a frekvenciu srdcových pulzov a znižuje tok krvi v koronárnych artériách [15]. Pri cievnej kalcifikácii dochádza k zúženiu ciev, k sťaženiu prietoku krvi cez kalcifikujúce cievy a chlopne, hypertrofii ľavej komory srdca a celkovému zvýšeniu srdečnej činnosti, čo môže viesť až k letálnym následkom [23].

Konzumácia potravinových doplnkov vápnika, ktoré by mali znížiť výskyt osteoporózy, môžu zvýšiť riziko kardiovaskulárnych ochorení, pretože sa môžu ukladať na stene artérií, vytvárať plaky s mastnými kyselinami, čo vedie k ateroskleróze u mužov aj žien [12]. Avšak je potrebné skúmať aký vplyv má súčasné podávanie potravinových doplnkov vápnika a vitamínu D. Zistilo sa, že najlepší vplyv na kardiovaskulárne ochorenia nemajú potravinové doplnky, ale potraviny obsahujúce vápnik, vitamín D (mliečne výrobky, zelená listová zelenina) spolu s pobytom na slnku doplnené aktívnym pohybom [23].

Pri kardiovaskulárnych ochoreniach zohrávajú rolu aj niektoré ióny. Horčík je hlavný vnútrobunkový kation v ľudských bunkách a aktivátor mnohých enzýmov (najmä ATPázy), ktorý má významnú funkciu vo viacerých bunkových metabolických procesoch, vrátane

kardiovaskulárnych ciest [3]. Horčík ovplyvňuje funkciu endotelu, zápalové procesy v cievnej stene, zároveň vplýva aj na ďalšie rizikové faktory ako sú krvný tlak a cukrovka [8]. Klinická hypomagnézia a nedostatok horčíka spôsobuje srdcové arytmie. Nedostatok horčíka v diéte a krvnej plazme zvyšuje riziko kardiovaskulárnych ochorení. Horčík znižuje krvný tlak, lipidy, arytmii srdca, znižuje riziko vzniku tradičného koronárneho srdcového ochorenia, diabetu, aterosklerózy a náhleho srdcového zlyhania, ktorého výsledkom je smrť [8].

Vitamín C je známy antioxidant, ktorý zabraňuje procesu starnutia, podieľa sa na regeneračných mechanizmoch v kostiach a zuboch a na procesoch hojenia rán. Tento vitamín je potrebný pre biosyntézu kolagénu, dôležitej zložky krvných ciev. Zvyšuje dostupnosť oxidu dusnatého (NO) k cievam, čím prispieva k ich lepšej vazodilatácii. Vitamín C predstavuje ochranu pred viacerými rizikovými faktormi kardiovaskulárnych ochorení (Sesso a kol., 2008). Znižuje riziko vysokého krvného tlaku, spomaľuje proces kôrnatenia ciev, pomáha udržiavať pružnosť ciev a chráni ich pred poškodením LDL cholesterolom. Ľudia so zníženou hladinou vitamínu C sú vystavení vyššiemu riziku srdcového infarktu, periférnemu ochoreniu artérií, cievnej mozgovej príhode [24].

Vitamín B6 je dôležitým koenzýmom v metabolizme aminokyselín, lipidov a ďalších dôležitých látok v organizme. Je jedným z hlavných faktorov, ktorý môže znížiť koncentráciu homocysteínu v krvnej plazme. Štúdia odhalila, že znížený príjem vitamínu B6 v potrave (vajcia, pečeň, listová zelenina, zemiaky) a pokles jeho hladiny v krvi je spojený s hypercysteinémiou, ktorá je markerom zvýšenej pravdepodobnosti vzniku kardiovaskulárnych ochorení [13].

Kyselina listová (B9) a kobalamín (B12), ktorých hlavnými zdrojmi sú zelená listová zelenina, fazuľa, pečeň, vnútornosti, kyslá kapusta, syry, sú ďalšími zo skupiny B vitamínov. Ich nedostatok sa podieľa na hyperhomocysteinémii, pri ktorej dochádza k dysfunkcii arteriálneho endotelu a vzniku kardiovaskulárneho ochorenia. Znížený vitamín B12 tiež súvisí s makrocytózou, koronárnym ochorením, infarktomyokardu, cievnu mozgovou príhodou a ďalšími ochoreniami srdca a cievneho systému [20].

Vitamín K, vyskytujúci sa v izoformách K1 (zelená listová zelenina) a K2 (vajcia, vnútornosti), plní svoju úlohu nielen pri zrážaní krvi a tvorbe trombov, ale tiež v metabolizme kostí a kardiovaskulárneho systému, najmä pri procesoch rastu buniek, ich migrácie, proliferácie a apoptózy. Vitamín K inhibuje zvýšenú aktivitu osteoklastov, zabraňuje odbúraniu kostí. V cievach vitamín K zabraňuje nadmernému hromadeniu vápnika v cievach, čím predchádza procesu cievnej kalcifikácii, kedy nastáva nárast degradačných procesov a pokles elasticity v stene ciev, vyúsťujúce až do tvorby aneurizmu aorty [27].

Vitamín E je účinný antioxidant, ktorý synergicky spolupracuje s vitamínom K. Exogénnymi diétnymi zdrojmi vitamínu E sú hlavne rastlinné oleje, obilné klíčky, orechy, zelená listová zelenina. Tento vitamín pomáha predchádzať tvorbe krvných zrazenín, ktoré by mohli viesť k trombóze žíl a srdcového infarktu [17]. Vitamín E je antioxidant, ktorý predchádza tvorbe oxidačných produktov a výstavbe aterosklerotického plaku [25].

Omega 3 a omega 6 mastné kyseliny, ktorých zdrojom sú rastlinné oleje ako napr. rôzne semená (slnečnice, chia, ľanu) a orechy (vlašské orechy, arašidy, mandle), vedú k poklesu rizika ochorenia srdca a ciev. Tieto kyseliny a ich suplementy v subtoxických dávkach znižujú riziko arytmie a trombózy, spomaľujú rast aterosklerotického plaku, zároveň znižujú krvný tlak a redukujú zápalové procesy v organizme. Dôležitý je správny pomer týchto kyselín, kde prevažujú omega 3 mastné kyseliny [9, 10].

Alkaloidy a terpeny sú bioaktívne zložky liečivých rastlín, ktoré sa používajú ako liečivá na cievne a srdcové choroby v závislosti od dávkovania. Pri vyšších dávkach môžu byť aj toxické. Tieto zlúčeniny sa vyznačujú proti-hypertenzívnymi a vazodilatačnými vlastnosťami [14]. Priaznivý účinok na kardiovaskulárne ochorenia majú aj viaceré pigmenty rastlín, ovocia a zeleniny napr. flavonoidy, karotenoidy, chlorofyl a ďalšie, ktoré ovplyvňujú viaceré

metabolické procesy v organizme. Medzi najdôležitejšie protektívne účinky týchto pigmentov patria protiapoptotický, protiaritmický, protihypertenzívny, protiischemický, protioxidačný a protizápalový účinok, ktoré prispievajú k zníženiu rizika viacerých kardiovaskulárnych ochorení [21].

Fajčenie cigariet poškodzuje mnohé orgány v tele, ale najmä pľúca, srdce a krvné cievy, a preto je jedným z najvýznamnejších kardiovaskulárnych rizikových faktorov, čo potvrdzujú aj viaceré štúdie [1, 2]. Komponenty cigaretového dymu sú rýchlo absorbované do krvného obehu. Samotné fajčenie zvyšuje riziko akútneho koronárneho syndrómu, aortálnej aneurizmy, trombózy, periférneho artériového ochorenia [5, 19]. U fajčiarov je potlačená tvorba kolagénu v aortálnych endotelových bunkách a koronárnych arériálnych hladkých svalových bunkách a dochádza k urýchleniu aterosklerotického procesu [5].

Záver

V súčasnosti narastá počet diagnostikovaných ochorení kardiovaskulárneho systému, napriek tomu, že poznáme mnohé faktory, ktoré prispievajú k vzniku týchto ochorení. Kardiovaskulárne ochorenia vznikajú nielen v závislosti na genetickej rodinnej predispozícii, ale predovšetkým ako dôsledok zhoršujúceho sa životného štýlu, s ktorým súvisí nedostatok pohybu, duševný a psychický stres, starnutie, či výber nevhodnej stravy.

Literatúra

1. **Ambrose JA., Barua RS.** The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(10): 1731-1737.
2. **Armani C., Landini L. Jr., Leone A.** Molecular and biochemical changes of the cardiovascular system due to smoking exposure. *Curr Pharm Des* 2009; 15(10): 1038-1053.
3. **Del Gobbo LC, Imamura F., Wu JHY., et al.** Circulating and dietary magnesium and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr* 2013; 98(1): 160-173.
4. **Eckel RH., York DA., Rössner S., et al.** Prevention Conference VII: obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: executive summary. *Circulation* 2004; 110(18): 2968-2975.
5. **Faarvang Allermann A-S., Rørdam Preil AS., Switten Nielsen P., et al.** Smoking is associated with lower amounts of arterial type I collagen and decorin. *Atherosclerosis* 2016; 247: 201-206.
6. **Haarhaus M., Arnqvist HJ., Magnusson P.** Calcifying human aortic smooth muscle cells express different bone alkaline phosphatase isoforms, including the novel B1x isoform. *J Vas Res* 2013; 50(2): 167-74.
7. **Huang Y., Zhou M., Sun H., Wang Y.** Branched-chain amino acid metabolism in heart disease: an epiphenomenon or a real culprit? *Cardiovasc Res* 2011; 90(2): 220-223.
8. **Chiuve SE., Sun Q., Curhan GC., et al.** Dietary and plasma magnesium and risk of coronary heart disease among women. *J Am Heart Assoc* 2013; 2(2): e000114.
9. **Jain AP., Aggarwal KK., Zhang P-Y.** Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19(3): 441-445.
10. **Khandelwal S., Kelly L., Malik R., et al.** Impact of omega-6 fatty acids on cardiovascular outcomes: A review. *Eur J Prev Cardiol* 2013; 2(3): 325-336.
11. **Lavie CJ., Milani RV., Ventura HO.** Obesity and Cardiovascular Disease: Risk Factor, Paradox, and Impact of Weight Loss. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53(21): 1925-1932.
12. **Li K., Kaaks R., Linseisen J., Rohrmann S.** Associations of dietary calcium intake and calcium supplementation with myocardial infarction and stroke risk and overall

- cardiovascular mortality in the Heidelberg cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study (EPIC-Heidelberg). *Heart* 2012; 98(12): 920-925.
13. **Lotto V., Choi SW., Friso S.** Vitamin B6: a challenging link between nutrition and inflammation in CVD. *Br J Nutr* 2011; 106(2): 183-195.
 14. **Maione F. Cicala C., Musciacco G., et al.** Phenols, alkaloids and terpenes from medicinal plants with antihypertensive and vasorelaxant activities. A review of natural products as leads to potential therapeutic agents. *Nat Prod Commun* 2013; 8(4): 539-544.
 15. **McGovern AP., de Lusignan S., van Vlymen J., et al.** Serum phosphate as a risk factor for cardiovascular events in people with and without chronic kidney disease: a large community based cohort study. *PLoS One* 2013; 8(9): p. e74996.
 16. **Movahed MR., Lee JZ., Lim WY., et al.** Strong independent association between obesity and essential hypertension. *Clin Obes* 2016; 6(3): 189-192.
 17. **Moyer VA.** Vitamin, mineral, and multivitamin supplements for the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: U.S. Preventive services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2014; 160(8): 558-564.
 18. **Murr C., Grammer TB., Meinitzer A., et al.** Immune activation and inflammation in patients with cardiovascular disease are associated with higher phenylalanine to tyrosine ratios: the ludwigshafen risk and cardiovascular health study. *J Amino Acids* 2014; 2014: 783730.
 19. **Palazzuoli A., Gallotta M., Guerrieri G., et al.** Prevalence of risk factors, coronary and systemic atherosclerosis in abdominal aortic aneurysm: comparison with high cardiovascular risk population. *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4(4): 877-883.
 20. **Pawlak R.** Is vitamin B12 deficiency a risk factor for cardiovascular disease in vegetarians? *Am J Prev Med* 2015; 48(6): e11-26.
 21. **Peterson JJ., Dwyer JT., Jacques PF., McCullough ML.** Associations between flavonoids and cardiovascular disease incidence or mortality in European and US populations. *Nutr Rev* 2012; 70(9): 491-508.
 22. **Poirier P., Giles TD., Bray GA., et al.** Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(5): 968-976.
 23. **Rautiainen S., Wang L., Manson J-AE., Sesso HD., et al.** The role of calcium in the prevention of cardiovascular disease--a review of observational studies and randomized clinical trials. *Curr Atheroscler Rep* 2013; 15(11): 362.
 24. **Riccioni G., D'Orazio N., Salvatore C., et al.** Carotenoids and vitamins C and E in the prevention of cardiovascular disease. *Int J Vitam Nutr Res* 2012; 82(1): 15-26.
 25. **Saremi A., Arora R.** Vitamin E and cardiovascular disease. *Am J Ther* 2010; 17(3): e56-65.
 26. **Shah SH., Bain JR., Muehlbauer MJ., et al.** Association of a peripheral blood metabolic profile with coronary artery disease and risk of subsequent cardiovascular events. *Circ Cardiovasc Genet* 2010; 3(2): 207-14.
 27. **Shea MK., Holden RM.** Vitamin K status and vascular calcification: evidence from observational and clinical studies. *Adv Nutr* 2012; 3(2): 158-165.
 28. **Singh U., Devaraj S., Jialal I.** Coenzyme Q10 supplementation and heart failure. *Nutr Rev* 2007; 65(6 PT1): 286-293.
 29. **Stoner L., Lucero AA., Palmer BR., et al.** Inflammatory biomarkers for predicting cardiovascular disease. *Clin Biochem* 2013; 46(15): 1353-1371.
 30. **Tehrani DM., Zhao Y., Blaha MJ., et al.** Discordance of low-density lipoprotein and high-density lipoprotein cholesterol particle versus cholesterol concentration for the prediction of cardiovascular disease in patients with metabolic syndrome and diabetes mellitus (from the multi-ethnic study of atherosclerosis [MESA]). *Am J Cardiol* 2016; 117(12): 1921-1927.

BENEFITY APLIKÁCIE PROBIOTICKÉHO KMEŇA *LACTOBACILLUS PLANTARUM* LS/07 V ANIMÁLNOHOM MODELI ČREVNEJ DYSBIÓZY A KOLOREKTÁLNEHO KARCINÓMU

BENEFITS OF APPLICATION OF PROBIOTIC STRAIN *LACTOBACILLUS PLANTARUM* LS/07 IN ANIMAL MODEL OF GUT DYSBIOSIS AND COLORECTAL CANCER

Z. Hertelyová¹, J. Kuzma¹, D. Szabóová², E. Hijová¹

¹ Ústav experimentálnej medicíny LF UPJŠ

² Ústav patologickej fyziológie, LFUPJŠ, Košice

Abstract

Research on chronic diseases focused on clarify the role of gut microbiota in their pathogenesis. Disturbances in physiological composition of gut microbiota leads to reduction of possitive effect or total absence functions of gut microbiota. Connection of gut microbiota and host organisms is main preventive mechanism in the development of chronic and metabolic diseases. The experimental model of gut dysbiosis and colorectal cancer was focused on determinatinig changes in immunological and metabolic parameters. evaluation modulating effect of probiotic strain *L. plantarum* LS/07. The results of experiment showed tendency lowering inflammatory parameters Cox -2, IL -1 β , IL -2. This cytokines can be aplicated in the pathogenesis of colorectal carcinogenesis and other chronic diseases. With development of colorectal is associated with high activity of β - glucuronidase in gut content.

Application of probiotic strain to achieve a reduction in activity of β - glucuronidase and increased activity of α - galactosidase and β - glucosidase in gut content at the end of experiment. This results showed the ability of probiotic strain *L. plantarum* LS/07 had positively impact in inflammatory process on system level. Positive effect of probiotic strain on tissue level was investigated and confirmed in other experimental model.

Úvod

Výskum v oblasti chronických ochorení sa zameriava na objasnenie úlohy črevnej mikrobioty v ich patogenéze. Doteraz zistené poznatky potvrdili spojitosť medzi zložením črevnej mikrobioty a vznikom širokého spektra ochorení (Schipa et al., 2014).

Črevná mikrobiota má vplyv na črevný metabolizmus s následným pozitívnym ovplyvnením funkcií organizmu. Narušenie zloženia fyziologickej črevnej mikrobioty sa definuje ako dysbióza. Prepojenie črevnej dysbiózy s rozvojom chronických ochorení je aktuálna téma v odborných kruhoch a naberá na význame pri nachádzaní možných spoločných mechanizmov ich vzniku. Predpokladá sa spojitosť medzi aktivitou fyziologickej črevnej mikrobioty s pozitívnym vplyvom na funkciu celého organizmu. V prípade porušenia zloženia fyziologickej črevnej mikrobioty vedie tento stav k následnému rozvoju metabolických ochorení. V súčasnosti stále nie je jednoznačne objasnený fakt, či je črevná dysbióza následok alebo príčina zmien črevnej mikrobioty, ktorá vedie k indukcii mierneho stupňa zápalu. Perzistujúci mierny stupeň zápalu asociuje s patogenézou mnohých chronických ochorení, ako sú ateroskleróza, *diabetes mellitus*, zápalové ochorenia čreva (Flint et al., 2012). Dysbiotické zloženie mikrobioty indukuje metabolické poruchy a rozvoj ochorení ako - obezita, hypertenzia, ateroskleróza, metabolický syndróm a onkologické ochorenia (Mráz et al., 2014). Z nemetabolických ochorení sa do súvislosti stále viac dávajú s črevnou dysbiózou psychiatrické ochorenia, gynekologické poruchy a rozvoj alergických ochorení (Piche, 2014).

Rozvoj črevnej dysbiózy súvisí s neprimeraným spôsobom života. Nepravidelné stravovanie, nevyvážené zloženie stravy, neopodstatnené užívanie liekov, hlavne antibiotík, sú faktory spôsobujúce porušenie fyziologickej mikrobioty čreva. Životný štýl je jedným z hlavných faktorov, ktorý ovplyvňuje jej zloženie. Nepravidelná a nevhodne zložená potrava nepriaznivo moduluje prostredie čreva, čím dochádza k zvýšenému výskytu patogénnych baktérií, ktoré pôsobia na celkový metabolizmus hostiteľa. Použitím látok s antimikrobiálnym účinkom sa dosiahne efekt úplného zničenia fyziologickej mikrobioty. Dlhodobé užívanie a často nevhodne nasadené antibiotické prípravky prispievajú k rozvoju antibiotickej rezistencie. Zoznam ochorení, ktoré majú spojitosť s dysbiotickým zložením črevnej mikrobioty, nie je stále jednoznačne uzavretý. Neustále sa rieši množstvo výskumných projektov na objasnenie úlohy črevnej mikrobioty v patogenéze chronických ochorení (Francino, 2016). Aktuálne je jednoznačne potvrdená spojitosť črevnej dysbiózy s obezitou, zápalovým ochorením čreva (IBD), CRC a alergickými ochoreniami (Piche 2014, Schippa, et al., 2014). V súčasnej dobe postihujú chronické ochorenia viac ako 50% dospeléj populácie (Schippa et al., 2014). Jednou z možností modulácie dysbiotického črevnej mikrobioty je využitie bioaktívnych látok prírodného pôvodu, ako sú probiotiká a prebiotiká. Význam probiotík spočíva v produkcii rôznych esenciálnych látok, ktoré majú charakter protektívnych vlastností voči zápalovým ochoreniam čreva, ktoré vedú k rozvoju CRC (Sivieri et al., 2013).

Materiál a metódy

Do experimentu boli zaradené potkany, samce kmeňa Sprague Dawley vo veku 6 týždňov. Zvieratá boli rozdelené do skupín po 10 kusov: kontrolná skupina (KS), dysbiotická skupina (KSD), kontrolná skupina + probiotikum (KSP), dysbiotická skupina + probiotikum (KSDP), skupina s kolorektálnym karcinómom (KK), dysbiotická skupina s kolorektálnym karcinómom (KKD), skupina s kolorektálnym karcinómom + probiotikum (KKP), dysbiotická skupina s kolorektálnym karcinómom + probiotikum (KKDP). Celkový počet zvierat bol 80. Počas celého experimentu mali zvieratá voľný prístup k vode a krmivu s každodenným klinickým monitoringom zdravotného stavu.

Črevná dysbióza bola indukovaná prostredníctvom metronidazolu (Polpharma, Sieradz, Poľsko) a amoxicilínu (Sandoz, Lubľana, Slovinsko) podávaných v pitnej vode počas celého experimentu. Kolorektálny karcinóm bol indukovaný aplikáciou azoxymetánu (AOM) (Sigma – Aldrich, Missouri, USA) intraperitoneálne v dávke 15 mg/kg v dvoch dávkach počas dvoch týždňov.

Probiotický kmeň *L. plantarum* LS/07 bol izolovaný na Ústave experimentálnej medicíny LF UPJŠ Košice (Strojný et al., 2011). Pripravovaný bol ako nočná kultúra počas 24 hodinovej kultivácie pri teplote 37 °C. Denná dávka pre probiotické skupiny predstavovala približne $7,5 \times 10^8$ CFU v objeme 75 μ l.

Na konci experimentu, po 6 mesiacoch (25 týždňov), boli zvieratá uvedené do celkovej anestézy použitím Zoletil 50 (Virbac, Carros, Francúzsko) v dávke 50 mg/kg a Xylazín (Riemser, Greifswald, Nemecko) v dávke 15 mg/kg. Zvieratám v celkovej anestéze bola odoberatá krv punkciou srdca a črevný obsah na potrebné mikrobiologické a biochemické analýzy.

Enzymatická aktivita bola stanovovaná spektrofotometricky na princípe uvoľnenia p - nitrofenolu zo substrátu. Aktivita enzýmov je vyjadrená ako μ mol/l vzniknutého p - nitrofenolu za minútu (IU) na gram črevného obsahu.

Sérové hodnoty cytokínov Cox-2, IL -1 β a IL-2 boli stanovené metódou enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) využitím komerčne dostupných kitov (BlueGene, Shanghai, China, MyBioSource, San Diego, USA, eBioscience, San Diego, USA) s odporúčením výrobcu a ich pracovným postupom.

Celkový počet koliformných baktérií bol stanovovaný z čerstvých vzoriek obsahu kolónu. Obsah kolónu (0,2 g) bol zhomogenizovaný spolu s 1,8 ml 0,9 % roztoku NaCl. Po homogenizácii boli vzorky centrifugované počas 30 s pri otáčkach 1 000 rpm a následne bolo prenesených 200 μ l do pripraveného roztoku NaCl s objemom 1 800 μ l. Týmto spôsobom bolo urobených viacero riedení v rozsahu 10^{-3} - 10^{-8} . Kultivácia koliformných baktérií prebiehala počas 24 hodín pri teplote 37 °C a bola vyjadrená ako Log_{10} CFU/gram feces.

Meranie pH v obsahu kolónu bolo vykonané hneď po eutanázii zvierat pomocou pH metra Consort C 561 (Turnhout, Belgicko).

Hodnoty v grafoch sú vyjadrené ako aritmetický priemer a smerodajná odchýlka ($x \pm \text{SD}$). Výsledky boli vyhodnotené použitím štatistického testu Tukey test (MINITAB for Windows 11,21).

Výsledky

Zmena enzymatickej aktivity počas experimentu

Zmena enzymatickej aktivity počas experimentu bola vyhodnotená porovnaním údajov na začiatku (Z) a na konci (K) experimentu (tab. 1). Týmto spôsobom sa vyhodnotila zmena enzymatickej aktivity β -glukuronidázy v skupinách KK, KKD a KKDP ako signifikantne vyššia na konci experimentu. V skupine KKP aktivita β -glukuronidázy bola na konci experimentu signifikantne nižšia. Rovnako ako v skupine KKP, tak aj v skupine KSDP, bola aktivita β -glukuronidázy signifikantne nižšia na konci experimentu.

Signifikantné zvýšenie aktivity α -galaktozidázy počas experimentu bolo zaznamenané iba v skupine KSP. V skupinách KS, KK, KKD, KSDP a KKDP bol zaznamenaný signifikantný pokles aktivity.

Signifikantné zvýšenie aktivity β -glukozidázy bolo zaznamenané v skupinách KSP a KSDP. V skupinách KSD a KK bolo zaznamenané signifikantné zníženie aktivity počas experimentu.

Skupiny zvierat		β -galaktozidáza $\mu\text{mol/g/min}$	β - glukozidáza $\mu\text{mol/g/min}$	β - glukuronidáza $\mu\text{mol/g/min}$
KS	Z	0,035 \pm 0,01 ^a	0,059 \pm 0,012 ^a	0,074 \pm 0,02 ^a
	K	0,029 \pm 0,01 ^b	0,068 \pm 0,03 ^a	0,084 \pm 0,03 ^a
KSD	Z	0,078 \pm 0,03 ^a	0,072 \pm 0,03 ^b	0,070 \pm 0,006 ^a
	K	0,045 \pm 0,01 ^a	0,036 \pm 0,02 ^a	0,108 \pm 0,05 ^a
KSP	Z	0,031 \pm 0,01 ^b	0,039 \pm 0,006 ^b	0,169 \pm 0,09 ^a
	K	0,070 \pm 0,01 ^a	0,114 \pm 0,02 ^a	0,149 \pm 0,02 ^a
KSDP	Z	0,027 \pm 0,005 ^b	0,028 \pm 0,006 ^b	0,194 \pm 0,08 ^a
	K	0,048 \pm 0,01 ^a	0,068 \pm 0,02 ^a	0,113 \pm 0,02 ^b

Tabuľka 1 Zmeny enzymatickej aktivity α -galaktozidázy, β -glukuronidázy a β -glukozidázy v kontrolných skupinách

a, b - hodnoty reprezentujú štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými skupinami; hodnoty $p < 0,05$ boli považované za štatisticky významné

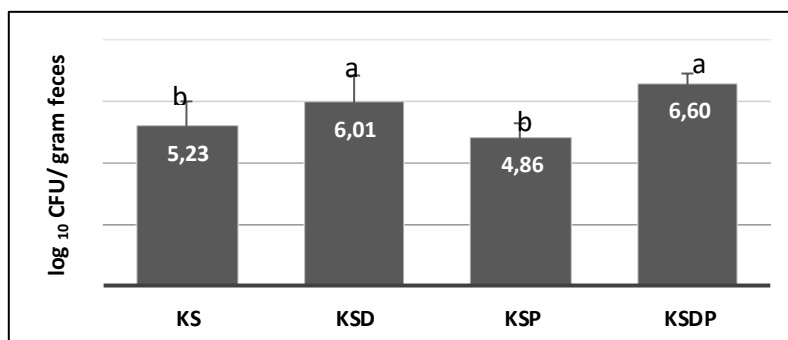
Hodnoty vybraných zápalových cytokínov

V skupinách bez aplikácie probiotického kmeňa bola detekovaná signifikantne vyššia hladina COX-2 ako v skupinách s aplikáciou probiotického kmeňa. Výnimkou je skupina KS, kde hladina COX-2 nebola signifikantne vyššia v porovnaní s probiotickými skupinami. V hladinách IL-1 β neboli zaznamenané signifikantné rozdiely medzi skupinami s indukovaným CRC a ani medzi kontrolnými skupinami.

Aplikáciou probiotického kmeňa došlo v skupine KKDP k signifikantnému zníženiu sérovej hodnoty IL-2 v porovnaní so skupinou KK. V skupinách KKP a KKD nebola zaznamenaná signifikantná zmena. Medzi kontrolnými skupinami nebola zaznamenaná signifikantná zmena v hladine IL-2.

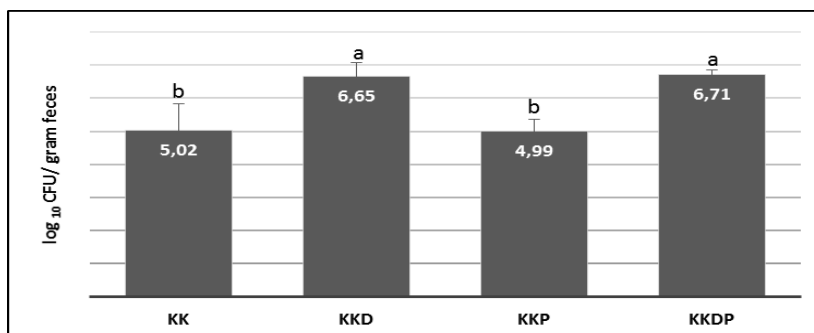
Celkové počty koliformných baktérií

V dysbiotických skupinách KSD, KKD, KSDP, KKDP boli zaznamenané signifikantne vyššie počty koliformných baktérií v porovnaní so skupinami bez indukovanej dysbiózy KS, KK, KSP, KKP. Medzi jednotlivými dysbiotickými a kontrolnými skupinami neboli zaznamenané signifikantné rozdiely v počtoch koliformných baktérií. Výsledky celkového počtu koliformných baktérií v experimentálnych skupinách sú prezentované na grafe 1 a 2.



Graf 1 Zmena počtu koliformných baktérií v kontrolných skupinách

a, b - hodnoty reprezentujú štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými skupinami; hodnoty $p < 0,05$ boli považované za štatisticky významné

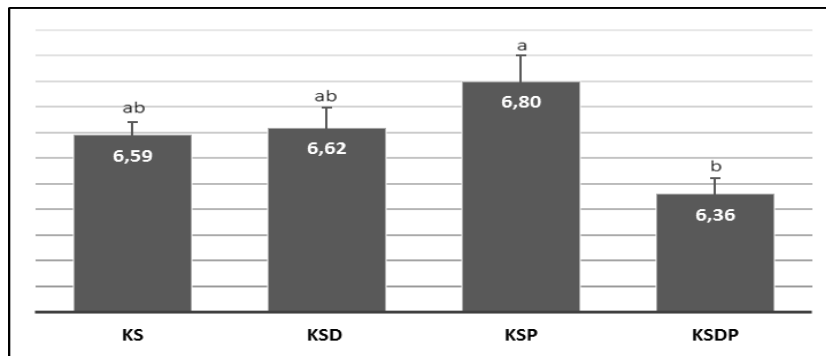


Graf 2 Zmena počtu koliformných baktérií v skupinách s indukovaným CRC

a, b - hodnoty reprezentujú štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými skupinami; hodnoty $p < 0,05$ boli považované za štatisticky významné

Hodnoty pH črevného obsahu kolónu

V skupinách s indukovaným CRC bolo zistené signifikantne nižšie pH v skupinách KKP, KKD, KKDP v porovnaní so skupinou KK. Medzi kontrolnými skupinami signifikantne nižšie pH bolo zistené v skupine KSDP v porovnaní so skupinou KSP. Hodnoty pH črevného obsahu kolónu v jednotlivých skupinách sú prezentované na grafe 3 a 4.

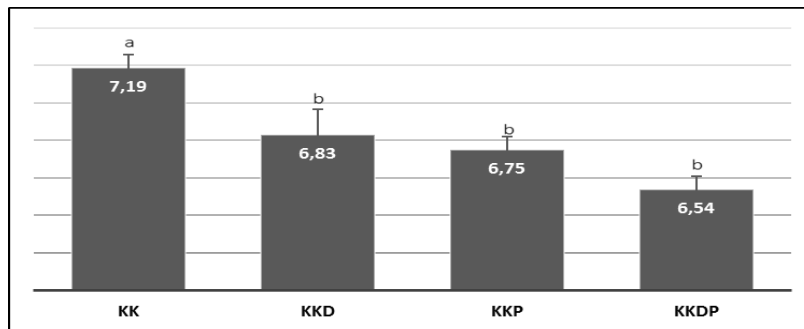


Graf 3 Hodnoty pH črevného obsahu kolónu v kontrolných skupinách

Hodnoty predstavujú priemer a S.E.M. (standard error of means)

a, b - hodnoty reprezentujú štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými skupinami;

hodnoty $p < 0,05$ boli považované za štatisticky významné



Graf 4 Hodnoty pH črevného obsahu kolónu v skupinách s indukovaným CRC

Hodnoty predstavujú priemer a S.E.M.

a, b - hodnoty reprezentujú štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými skupinami;

hodnoty $p < 0,05$ boli považované za štatisticky významné

Diskusia

Dysbióza je stav mikrobioty hostiteľa, ktorý negatívne ovplyvňuje organizmus prostredníctvom kvalitatívnych a kvantitatívnych zmien v zložení črevnej mikrobioty, zmenami ich metabolickej aktivity a lokálnej distribúcie (Walker, 2013). Jednou z charakteristík dysbiotické mikrobioty je stav zníženého počtu obligátne anaeróbných baktérií so súčasným zvýšením fakultatívne anaeróbných baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*. Porušením zloženia fyziologickej črevnej mikrobioty dochádza k zvýšeniu zastúpenia gram negatívnych baktérií (G⁻), ktoré obsahujú vo svojej stene endotoxín - lipopolysacharid (LPS). LPS podnecuje zápalový proces v organizme s následnou produkciou zápalových cytokínov ako TNF- α , IL-6, IL-1. Zvýšená hladina LPS súvisí s indukciou a rozvojom metabolických ochorení prostredníctvom dlhotrvajúceho mierneho stupňa zápalu. LPS spolu s dlhotrvajúcim miernym stupňom zápalu indukujú rozvoj metabolickej endotoxémie, ktorá podporuje rozvoj viacerých chronických metabolických ochorení (Gonzales-Quintela et al., 2013, Zhu et al., 2013). Dlhotrvalý mierny stupeň zápalu sa uplatňuje v rozvoji CRC, prostredníctvom produkcie zápalových cytokínov a reaktívnych foriem kyslíka, ktoré v spoločnej kombinácii podmieňujú rozvoj CRC. Významnú úlohu v tomto procese zohrávajú cytokíny s prozápalovým účinkom ako TNF- α , IL-6, IL-1 (Zhu et al., 2013, Rigottier-Gois, 2013, Laugerette et al., 2011).

Výsledky, v našom experimente v skupinách s indukovaným CRC, poukazujú na signifikantne vyššie hladiny COX-2 v skupinách KK a KKD v porovnaní so skupinami s prídavkom probiotického kmeňa KP a KKDP. V kontrolných skupinách bola stanovená signifikantne vyššia hladina v skupine KSD v porovnaní so skupinami KSP a KSDP. Femia et

al. (2002) publikoval experimentálny model indukcie CRC aplikáciou AOM. V tomto experimente bol sledovaný vplyv probiotických baktérií *L. rhamnosus* a *B. lactis* v kombinácii s inulínom obohateným o oligofruktózu. V experimente bolo sledovaných viacero metabolických a imunologických parametrov, ako aj zmeny v morfolologickej štruktúre črevnej steny so zameraním na histopatologické zmeny. Výsledkom experimentu bolo potvrdenie pozitívneho efektu podávaného prebiotika a probiotických baktérií signifikantnou zmenou viacerých parametrov. Jedným z parametrov, ktorý zaznamenal signifikantné zníženie, je aj COX-2. V procese karcinogenézy zohráva kľúčovú úlohu zvýšená expresia COX-2. Existuje viacero možných ciest, prostredníctvom ktorých zvýšenie expresie COX-2 vedie k rozvoju karcinogenézy (Koehne, Dubios, 2004). Jedna z ciest, ktorá negatívne pôsobí na epitel čreva, je zvýšená migrácia zápalových buniek a strata kontroly nad apoptózou buniek v epiteli čreva. Tento proces predlžuje prežívanie buniek, v ktorých sa kumulujú viaceré zmeny, vrátane mutácií, ktoré indukujú neoplastickú transformáciu. Rozhodujúcim faktorom úspešnej neoplastickej transformácie je dostatočné zásobenie krvou novo vznikajúcej masy buniek podporou procesu angiogenézy. Zvýšená hladina COX-2 sa výrazne uplatňuje a podporuje angiogézu počas karcinogenézy (Scanlan et al., 2008).

V inej štúdií Zackular et al. (2013) publikoval model experimentu CRC s použitím AOM a dextránu sulfátu sodného (DSS). Výsledky v tomto experimente prezentujú signifikantne vyššie hladiny zápalových cytokínov TNF- α , IL-1 β , IL-6 v porovnaní s kontrolnou skupinou. Signifikantne vyššie hladiny zápalových markerov sa prejavili v zmenách morfolologickej štruktúry črevnej steny s výskytom CRC, ako aj rôznych štádií morfologických zmien, ktoré vedú k CRC. V tomto experimente nebol sledovaný vplyv podávaného probiotika a možné zlepšenie zápalových parametrov, ale bol zameraný na porovnávanie jednotlivých parametrov medzi skupinami s AOM a DSS samostatne alebo v kombinácii. V ďalšom experimente Abdin et al. (2008) sledoval účinok probiotického kmeňa *L. acidophilus* na zápalové parametre na modeli kolitídy. V experimentálnych skupinách s podávaným probiotikom boli dosiahnuté nižšie hladiny IL-6 a TNF- α . V našom experimente neboli zaznamenané signifikantné rozdiely pri hladine IL-1 β v skupinách s indukovaným CRC a ani v kontrolných skupinách. Signifikantne vyššia hladina IL-2 bola zaznamenaná v skupine KK v porovnaní so skupinou KKDP. IL-2 je jedným z hlavných faktorov imunitnej homeostázy a podieľa sa na kontrole imunitnej odpovede. Stále nie sú objasnené všetky funkcie IL-2 a pracuje sa na objasnení jeho významu v patogeneze zápalových ochorení a karcinogenézy (Gaffen, 2004).

Pozitívny vplyv podávaného probiotického kmeňa sa prejavil v znižovaní hladín vybraných cytokínov, čo potvrdzuje schopnosť *L. plantarum* LS/07 ovplyvňovať zápalový proces na systémovej úrovni. V súčasnej dobe, napriek veľkému a stále stúpajúcemu záujmu o probiotiká, stále nie je jednoznačne známy mechanizmus preventívneho účinku voči rozvoju CRC, alebo iných onkologických, prípadne iných chronických ochorení. Uvádza sa viacero možných mechanizmov probiotík, ktoré svojou prítomnosťou v čreve priaznivo vplyvajú na organizmus jedinca. Jedným z možných mechanizmov, ktorými probiotické baktérie pozitívne vplyvajú na črevne prostredie, je produkcia antimikrobiálnych látok, ako sú mastné kyseliny s krátkym reťazcom a látky označované ako lantibiotiká. Tieto antimikrobiálne látky výrazne znižujú pH črevného prostredia, a tým ovplyvňujú aj zmenu enzymatickej aktivity črevnej mikrobioty (Jiang et al., 2015). Nízke pH črevného prostredia je účinným preventívnym prostriedkom pred osídlením patogénnymi baktériami (Oelschlager, 2010). Výsledky nášho experimentu poukazujú na zníženie pH črevného obsahu v skupinách s indukovaným CRC a prídavkom probiotického kmeňa v porovnaní so skupinami bez prídavku probiotických baktérií. V nameraných výsledkoch pH sa prejavila individuálna variabilita zvierat, ktorá čiastočne modifikovala záverečné výsledky. Najnižšie namerané pH bolo v skupine KSDP a nie v predpokladanej skupine KSP. Aplikácia probiotického kmeňa nemala vplyv na celkový počet koliformných baktérií. Následkom podávania antibiotík bol vo

všetkých dysbiotických skupinách signifikantne vyšší počet koliformných baktérií. Jiang et al. (2015) publikovala prácu, v ktorej sa skúmal účinok probiotického prípravku, ktorý obsahoval *B. longum*, *L. bulgaricus* a *Str. termophilus*. V experimente bol potvrdený pozitívny vplyv probiotického prípravku a prebiotika - laktulózy na zmenu pH, ktoré sa po podaní signifikantne znížilo v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Užívaním probiotických prípravkov pozostávajúcich z rodov *Lactobacillus sp.* a *Bifidobacterium sp.* sa výrazne znižujú hladiny enzýmov, ktoré sú v úzkom vzťahu k rozvoju CRC, prípadne k zápalovým ochoreniam čreva. Rowland et al. (1998) vo svojej štúdií prezentoval signifikantné zníženie aktivity β -glukuronidázy v skupinách zvierat s aplikáciou inulínu a *B. longum*, v porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat. Rovnako pozitívny efekt podávaného probiotika a prebiotika sa prejavil vo zvýšení aktivity β -glukozidázy. V inej štúdií nastal signifikantný pokles β -glukuronidázy v animálnom modeli s použitím sylimarínu, ako látky s vysokou antioxidačnou aktivitou (Kohn, 2002).

Výsledky, ktoré sme dosiahli v experimente, potvrdili pozitívny efekt podávaného probiotického kmeňa *L. plantarum* LS/07 a poukazujú na jeho modulačné účinky na mikroflóru v skupinách s indukovanou črevnou dysbiózou, ako aj v skupinách s aplikovaným AOM.

Záver

Experiment bol zameraný na objasnenie vplyvu probiotického kmeňa *L. plantarum* LS/07, v animálnom modeli črevnej dysbiózy a kolorektálneho karcinómu, na zmenu vybraných imunologických a metabolických parametrov. Z výsledkov vyplýva preukázateľne pozitívny efekt na zmenu enzymatickej aktivity črevnej mikrobioty v skupinách s indukovanou črevnou dysbiózou, ako aj v skupinách s indukovaným kolorektálnym karcinómom. Rovnako pozitívne sa prejavila zmena nižšieho pH v skupinách s prídavkom probiotického kmeňa. Všetky tieto zmeny v črevnom prostredí sa preukázali aj na systémovej úrovni v signifikantných zmenách vybraných zápalových cytokínov, v zníženej expresii COX-2 v skupinách s probiotickým prídavkom. Zmeny boli zaznamenané aj na úrovni IL-2 a IL-1 β , ale zmena hladín v týchto parametroch nenadobudla signifikantný charakter. Účinok jednotlivých probiotických kmeňov je druhovo špecifický, preto nie je možné získané výsledky aplikovať ako všeobecný údaj platný pre všetky probiotické kmene. Výsledky mnohých experimentálnych štúdií poukazujú na uplatnenie probiotík, prebiotík a synbiotík nie iba v prevencii, ale aj v samotnej terapii ochorení gastrointestinálneho traktu.

Táto štúdia vznikla vďaka podpore projektov: VEGA 1/0584/16, VEGA 1/0622/20

Literatúra

1. **Abdin AA., Saeid EM.** An experimental study on ulcerative colitis as a potential target for probiotic therapy by *Lactobacillus acidophilus* with or without olsalazine. *J Crohns Colitis* 2008; 2(4): 296-303.
2. **Femia AP., Luceri C., Dolara P., et al.** Antitumorigenic activity of prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane – induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis* 2002; 23(11): 1953-1960.
3. **Flint JH., Scott KP., Duncan SH., et al.** Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut microbes* 2012; 3(4): 289-306.
4. **Francino PM.** Antibiotics and the human gut microbiome: Dysbioses and accumulation of resistances. *Front Microbiol* 2016; 6: 1543.

5. **Gaffen LS., Liu KD.** Overview of interleukin-2 function, production and clinical application. *Cytokine* 2004; 28(3): 109-123.
6. **Gonzales-Quintela, AL., Alonso M., Campos J., et al.** Determinants of Serum Concentrations of Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP) in the Adult Population: The role of obesity. *Plos One* 2013; 8(1): e54600.
7. **Koehne CH., Dubios RN.** COX-2 Inhibition and Colorectal cancer. *Seminars in Oncology* 2004; 31(2 suppl 7): 12-21.
8. **Jiang MS., Jia L., Zhang M-H.** Probiotic and lactulose: influence on gastrointestinal flora and pH value in minimal hepatic encephalopathy rats. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(6): 9996-10000.
9. **Kohno H., Tanaka T., Kawabata K., et al.** Silymarin, a naturally occurring polyphenolic antioxidant flavonoid, inhibits azoxymethane – induced colon carcinogenesis in male F344 rats. *Int J Cancer* 2002; 101(5): 461-468.
10. **Mráz M., Haluzík M.** The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammations. *J Endocrinol* 2014; 222(3): R113-R127.
11. **Oelschlager AT.** Mechanism of probiotic actions - A review. *Int J Med Microbiol* 2010; 300(1): 57-62.
12. **Piche T.** Tight junctions and IBS - the link between epithelial permeability, low-grade inflammation, and symptom generation? *Neurogastroenterol Motil* 2014; 26(3): 296-302.
13. **Rigottier-Gois L.** Dysbiosis in inflammatory bowel diseases: the oxygen hypothesis. *ISME J* 2013; 7(7): 1256-1261.
14. **Rowland RI., Rumney CJ., Coutts JT., Lievens LC.** Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen – induced aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis* 1998; 19(2): 281-285.
15. **Scanlan DP., Shanahan F., Clune Y., et al.** Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. *Environ Microbiol* 2008; 10(3): 789-798.
16. **Schippa S., Conte MP.** Dysbiotic Events in Gut Microbiota: Impact on Human Health. *Nutrients* 2014; 12(6): 5786-5805.
17. **Sivieri K., Bedani R., Cavallini DCU., Rossi EA.** Probiotics and Intestinal Microbiota: Implications in Colon Cancer Prevention. In: Kongo M. *Lactic Acid Bacteria - R & D For Food, Health and Livestock Purposes*. Novi Sad: InTech Prepress 2013, 220-230.
18. **Uccello M., Malaguarnera G., Basile F., et al.** Potential role of probiotics on colorectal cancer prevention. *BMC Surg* 2012; 12(Suppl1): S35.
19. **Walker WA., Lawley TD.** Therapeutic modulations of intestinal dysbiosis. *Pharmacol Res* 2013; 69(1): 75-86.
20. **Zackular PJ., Baxter NT., Iverson KD., et al.** The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *mBio* 2013; 4(6): e00692-13.
21. **Zhu, Q., Gao R., Wu W., Qin H.** The role of gut microbiota in the pathogenesis of colorectal cancer. *Tumour Biol* 2013; 34(3): 1285-1300.

CHOLESTEROL A JEHO ZMĚNY V TĚHOTENSTVÍ**CHOLESTEROLEMIA LEVELS DURING PREGNANCY AND ITS PRACTICAL SIGNIFICANCE****J. Hyánek**

Oddělení klinické biochemie a hematologie, Metabolická ambulance Nemocnice na Homolce, Praha

Abstrakt

Článek pojednává o fyziologických a patologických změnách hladiny cholesterolu během těhotenství u 21 000 zdravých těhotných v pražské populaci. Po vyšetření jak klasických lipidových markerů, tak také prekursorů syntézy cholesterolu autor retrospektivně hodnotí průměrný výskyt hypercholesterolemie v tomto výjimečném a specifickém životním období (frekvence 1:132 při hladině > 8,0 mmol/l).

Výsledky dokládá jeho zvýšenou hladinu ve druhé polovině gravidity (prům. o 30 %) intenzivnější syntézou lathosterolu a desmosterolu, zatímco kampesterol a sitosterol nebyly signif. zvýšeny: lathosterol 7,8 + / -1,7 umol/l; desmosterol 4,7 + / -0,9 umol/l; kampesterol: 9,8 + / -2,6 umol/l; sitosterol: 9,6 + / -3,8 umol/l. Sofistikuje podle svých výsledků a podle literárních zdrojů, že tato zvýšená hladina cholesterolu následkem intenzivnější cholesterologenezy je pro matku i plod zřejmě výhodná.

Doporučuje po porodu a skončení kojení využívat tuto zvýšenou hladinu cholesterolu pro aktivní vyhledávání a další diferenciaci do té doby nepoznaných familiárních hypercholesterolemií v populaci.

Abstract

Paper deals with physiological and pathological changes of cholesterolemia levels during pregnancy in 21 000 of healthy pregnant women from Prague area. Classical lipid markers as well as markers of cholesterol synthesis and cholesterol absorption have been used for further differentiation. Average frequency 1:132 of hypercholesterolemia (by the fasting level > 8.0 mmol/l) has been observed.

The increased levels of lathosterol detected among pregnant patients proved the higher endogenous synthesis of cholesterol in the 2nd half of pregnancy. Lathosterol: 7,8 + / -1,7 umol/l; Desmosterol: 4,7 umol/l+/-; Campesterol: 9,8 + / -2,6 umol/l; Sitosterol: 9,6 + / -3,8 umol/l. Sophistication about significance of increased levels of cholesterol and discussion of selected cases patients follows.

Conclusion: Relatively high frequency of hypercholesterolemia in pregnancy is caused according to our findings by increased endogenous synthesis of cholesterol via lathosterol. The highly increased values of cholesterolemia during second half of pregnancy could be effectively used for detection and after lactation period for further differential diagnosis and treatment of previously undiagnosed familial hypercholesterolemia.

VYUŽITÍ OLEJNATÝCH SEMEN VE VÝŽIVĚ

THE ROLE OF OILSEEDS IN NUTRITION

D. Chrpová, J. Pánek

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU Praha; Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Abstrakt

Olejnatá semena jsou velmi cennou potravinou, která se dříve konzumovala jen zcela okrajově. V poslední době, se změnou stravovacích zvyklostí významné části populace, se ale stává dosti významnou složkou naší výživy. Z olejnatých semen se u nás nejvíce využívá mák, ale roste i využívání chia semen, semen lnu, slunečnice, sezamu, konopí nebo dýně. Vesměs se jedná o semena rostlin mírného pásma nebo subtropů.

Jedlá semena mají poměrně významnou nutriční hodnotu. Obvykle obsahují poměrně hodně tuku a mají proto vysokou energetickou hodnotu. Jsou dobrým doplňkovým zdrojem proteinů. V některých případech (např. konopné semeno) se jedná o velmi kvalitní proteiny. V tukovém podílu výrazně převažují nenasycené mastné kyseliny, přičemž často dominují polyenové mastné kyseliny. Z polyenových kyselin je obvykle dominantní linolová kyselina (např. ve slunečnici i 70 % mastných kyselin), významné množství linolenové kyseliny má vedle chia a lněných semen, kde linolenová kyselina je dominantní mastnou kyselinou, již pouze konopné semeno. Velmi zajímavé je složení mastných kyselin konopného semene, kdy vedle relativně vysokého obsahu linolenové kyseliny, je ve významném množství přítomna i γ -linolenová kyselina.

Tato komodita je často označována za vynikající zdroj využitelného vápníku. Při hodnocení je ale třeba vzít v úvahu, vedle obsahu vápníku v samotné potravíně, i její spotřebu. Obsah vápníku je v této komoditě velmi variabilní. Vysoký obsah vápníku je v máku, dobrým doplňkovým zdrojem mohou být i lněné a konopné semeno. Vzhledem ke spotřebě této komodity mohou být uvedená semena pouze doplňkovým zdrojem vápníku.

Některé ořechy a semena jsou také velmi dobrým zdrojem vitamínu E. Platí to zejména o slunečnicových semenech, kde je obsah extrémně vysoký (50 mg/100 g).

Z nutričního hlediska jsou velmi zajímavá chia semena (*Salvia hispanica*). Z toho důvodu získala tato potravina již v roce 2009 (The Commission Decision 2009/827/EC) status Potravinu nového typu pro použití do chleba v maximálním množství 5 %; v roce 2013 (The Commission Implementing Decision 2013/50/EU) bylo použití rozšířeno na pekařské produkty, snídaňové cereálie a směsi sušeného ovoce a ořechů v množství max. 10 %.

TĚHOTENSKÝ PROTEIN PAPP-A2 – VÝZNAM V PROGNÓZE NEMOCNÝCH SE SELHÁNÍM LEDVIN**PREGNANCY PROTEIN PAPP-A2 – SIGNIFICANCE IN PROGNOSIS OF PATIENTS WITH RENAL FAILURE**

M. Kalousová¹, S. Dusilová-Sulková², A. A. Kuběna¹, O. Zakiyanov³, K. Levová¹, M. Bocková⁴, E. Gedeonová⁴, X. Chadtová Song⁴, M. L. Ermini⁴, T. Špringer⁴, J. Homola⁴, V. Tesař³, T. Zima¹

¹ *Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic*

² *Hemodialysis Centre, University Hospital Hradec Králové, Czech Republic*

³ *Department of Nephrology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic*

⁴ *Institute of Photonics and Electronics of the CAS, Prague, Czech Republic*

Pregnancy-proteins are of significance not only in pregnancy but also in patients with renal and cardiovascular diseases. A plenty of knowledge is accumulated about pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) and its significance in the prognosis of haemodialysis (HD) patients but the information about its homolog PAPP-A2 is limited.

PAPP-A2 was measured by surface plasmon resonance biosensor in 102 HD patients and 25 healthy subjects and evaluated together with PAPP-A measured by time resolved amplified cryptate emission as a possible prognostic marker in HD patients followed up for five years.

Both PAPP-A2 and PAPP-A were detectable in both groups of non-pregnant individuals and medians were twice as high in HD patients compared to healthy subjects ($p = 0.006$ and $p < 0.001$, respectively). We confirmed that PAPP-A is a significant prognostic factor in HD patients and disclosed a significant interaction between these two proteins.

Our study contributes to understanding of the significance of pregnancy proteins outside pregnancy.

Supported by research projects Progres Q25, MH CZ DRO VFN 64165 and P205/12/G118

VZÁJOMNÉ VZŤAHY MIKROBIOTY TRÁVIACEHO TRAKTU, ATEROTROMBOGENÉZY A DIABETES MELLITUS

RELATIONSHIP BETWEEN MICROBIOTA OF THE GASTROINTESTINAL TRACT, DIABETES MELLITUS AND ATHEROTHROMBOGENESIS

M. Kuchta¹, Z. Ďurošková²

¹Department of paediatrics and adolescent medicine Medical faculty University P.J. Safarik and Childrens faculty hospital, Trieda SNP 1, Košice

²Department of neonatology L. Pasteur University Hospital, Trieda SNP 1, Košice, Slovak Republic

Abstract

Introduction. Laboratory experiments, clinical trials and major research projects, were conducted throughout the 20th century, to find out about the function of intestinal microbiota and the efficacy of probiotic bacteria, their preventive effects and therapeutic effects, as well as their communication with digestive tract structures and the immune system.

Context. The paper presents up-to-date information about possible relationships of microbiome (microbiota) and the origin, development and course of diabetes mellitus. Not only experimental, but also clinical studies, point to the some-times very “intimate” and varied relationships, that microbiota (especially the intestinal), has with glucose metabolism disorders, either type 1 diabetes or type 2 diabetes mellitus. These relationships and impacts relate not only to the course and development of diabetes, but also to the origin and development of their complications, e.g. athero-thrombogenesis. Some effects of microbiota on achieving and maintaining diabetes compensation have also been identified, e.g. effects on metformin metabolism.

Conclusion. Therapeutic interventions - such as dietary modifications, prebiotics, probiotic bacteria, antibiotics, metformin, stool transplantation and bariatric surgery - can effectively alter the composition of the intestinal bacteria. Perhaps in the near future we will see whether these interventions can benefit patients with diabetes mellitus.

Úvod

Chronický zápal sa považuje za centrálnu patológiu „civilizačných chorôb“, ako sú metabolický syndróm, diabetes mellitus (DM), ateroskleróza. Získavame stále viac dôkazov o tom, že metabolické cesty sú funkčne späté s neadaptívnym imunitným systémom v patogenéze metabolických ochorení. Chronický zápal indukovaný chronickou endotoxémiou nízkeho stupňa, spôsobený zmeneným zložením črevnej mikroflóry, iniciuje zápalový stav pozorovaný pri obezite i inzulínovej rezistencii. Kľúčovou molekulou je lipopolysacharid (LPS), komponent steny gramnegatívnych baktérií, ktorý môže spustiť zápalový proces väzbou na CD14 a TLR-4 (Barengolts, 2016; Dukát et al., 2018; Verhaar et al., 2020). Počas celého 20. storočia prebiehali laboratórne experimenty, klinické pokusy i veľké výskumné projekty, v ktorých sa hľadali poznatky o funkcii črevnej mikrobioty a účinnosti probiotických baktérií, ich preventívneho pôsobenia a terapeutických efektoch, i o ich komunikácii so štruktúrami tráviaceho traktu a imunitného systému.

Už nielen experimentálne, ale aj klinické štúdie poukazujú na niekedy veľmi „intímne“ a pestré vzťahy, ktoré má mikrobiota (najmä črevná) s poruchami metabolizmu glukózy, či už typu diabetes mellitus 1. typu (DM1) alebo diabetes mellitus 2. typu (DM2). Epidemiologické štúdie uverejnené pred viac ako 20 rokmi zistili, že pacienti s anamnézou infarktu myokardu

(Mattila et al., 1989) a s mozgovou príhodou (Syrjänen, 1989) mali horšie zdravie ústnej dutiny ako kontrolné subjekty. To viedlo k veľkému počtu následných epidemiologických štúdií na overenie uvedených poznatkov. Metaanalýza 12 relevantných štúdií dospela k záveru, že po „očistení“ súborov od spoločných rizikových faktorov (napr. fajčenie, vek a pohlavie), bol výskyt aterosklerotického kardiovaskulárneho systémového postihnutia vyšší u subjektov s periodontálnym ochorením, ako u subjektov bez periodontálneho ochorenia, čo bolo signifikantné najmä u mladších osôb (Dietrich et al., 2013).

Diabetes mellitus 1. typu

K tomu, aby sa DM1 klinicky manifestoval nestačí len genetická predispozícia. Medzi najčastejšie faktory, ktoré sa môžu spolupodieľať na vzniku tohto metabolického ochorenia sú infekcie, ktoré sú najčastejšie vyvolané vírusom epidemickej parotitídy, rubeoly, cytomegalovírusom (CMV), vírusmi *Coxsackie* B4 a B5, niektorými retrovirusmi, reovírusmi a vírusom encefalomyokarditídy, *herpes simplex* vírusom (HSV) ale taktiež *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori* a inými (Atkinson and Chervovsky, 2012). Lipopolysacharidy z patogénov v čreve, akým je napríklad *H. pylori*, sú tiež spojené s aktiváciou toll-like receptorov, čo vedie k energetickému hromadeniu, akumulácii tuku a stimulácii vrodeného imunitného systému a následnej inzulínovej rezistencii (Manco, 2010). Zistilo sa, že u jedincov séropozitívnych na *H. pylori* došlo k zvýšenému výskytu diabetu ako u jedincov bez infekcie (Jeon et al., 2012).

Experimentálne sa zistilo, že dlhodobé perorálne podávanie nízkej dávky vysoko čistého kvasnicového β -glukánu v prediabetickom štádiu potlačilo inzulitídu a významne oneskorilo výskyt DM 1 u neobéznych diabetických myši. Dlhodobá liečba β -glukánom spôsobila významnú zmenu v črevnej mikrobiote, najmä zvýšenie počtu Bacteroidetes a zníženie počtu členov Firmicutes. Tieto pozorovania naznačujú, že β -glukán má nielen prebiotické vlastnosti, ale má tiež účinok podobný orálnemu tolerogénnemu adjuvantu a tieto vlastnosti by sa mohli využiť na moduláciu autoimunity pri DM1 (Gudil et al., 2019).

Mexická štúdia porovnávala štruktúru fekálnej mikrobioty u 29 mestských detí vo veku 7 - 18 rokov (8 s novo diagnostikovaným DM1, 13 s DM1 po 2 rokoch liečby a 8 zdravých kontrol). Novo diagnostikované prípady DM1 mali vysoké zastúpenie rodu *Bacteroides* ($p < 0,004$). V črevnej mikrobiote zdravých však dominovala *Prevotella*. Deti s DM1 liečené po dobu 2 rokov mali zastúpenie *Bacteroides* a *Prevotella* v porovnaní s kontrolnou skupinou podobné. Črevná mikrobiota novo diagnostikovaných prípadov DM1 je alterovaná, ale to, či je zapojená do príčinných súvislostí s ochorením alebo či je dôsledkom výberu hostiteľa, zostáva nejasné (Meji'a-Leo'n et al., 2014). Metaanalýza štúdií o vzťahu probiotík a DM1 z roku 2014 zhodnotila 287 publikácií od roku 2002 do 2013 (Gomes et al., 2014). V závere metaanalýzy autori uvádzajú, že črevná mikrobiota predstavuje obrovskú množinu antigénov, ktoré sa môžu zúčastňovať na imunologickej modulácii choroby. Črevná bariéra sprostredkuje špecifické interakcie medzi lumenálnymi antigénmi a organizmom a funkčné rozdiely v mikroflóre GIT tak môžu prispieť k autoimunitnému procesu deštrukcie pankreatických β -buniek.

Diabetes mellitus 2. typu

V roku 2004 boli na bezmikróbných (germ free) myšiach uverejnené prvé dôkazy o tom, že črevná mikrobiota môže prispieť k zmenám v metabolizme glukózy. Myši bez mikróbov po prechode na konvenčný chov i napriek nižšiemu príjmu energie prejavovali výrazné zvýšenie telesného tuku a inzulínovú rezistenciu (Bäckhed et al., 2004). Následne niekoľko štúdií preskúmalo úlohu ľudskej črevnej mikrobioty pri vývoji cukrovky typu 2. Najkomplexnejšie štúdie doteraz používali metagenomické sekvenovanie, napr. v roku 2007 čínski autori (Qin et al., 2012) a v roku 2013 švédski autori (Karlsson et al., 2013). Ich štúdie preukázali, že ľudský

diabetes 2. typu sa vyznačuje dysbiotickou črevnou mikrobiotou. Pacienti s diabetes typu 2 mali napr. menej baktérií produkujúcich butyrát (rod *Roseburia* a druh *Faecalibacterium prausnitzii*). Mikrobióm pacientov s cukrovkou 2. typu je, podľa niektorých štúdií, charakterizovaný zníženým zastúpením *Firmicutes* a *Clostridium* a zvýšeným pomerom *Bacteroidetes* : *Firmicutes*. Tento pomer koreluje s koncentráciou glukózy v plazme (Kuczynski et al., 2012; Weinstock, 2012). Zaujímavé je, že hoci DM2 a obezita spolu úzko súvisia, dostupné údaje naznačujú, že zmeny črevných mikrobiómov nie sú medzi týmito dvoma populáciami pacientov vždy rovnaké. V niektorých štúdiách zahŕňa mikrobióm obéznych jedincov znížený pomer *Bacteroidetes* : *Firmicutes*, na rozdiel od zvýšenia pozorovaného pri DM2. To vyvoláva otázku, či tieto dve ochorenia spôsobujú rovnaké alebo odlišné faktory (Bäckhed et al., 2004; Grarup et al., 2014; Weinstock, 2012).

Denne sa dostáva do hrubého čreva približne 10 g proteínov, kde sú degradované gastrointestinálnymi baktériami na metabolity, ako je napríklad amónium, amíny, tioly, fenoly a indoly. Tieto fermentačné produkty v hrubom čreve sa vylučujú hlavne stolicou, hoci časť sa absorbuje a ďalej sa vylučuje obličkami (Evenepoel et al., 2009). Okrem toho sa črevným mikrobiálnym metabolizmom tiež vytvárajú amíny a polyamíny. Cholín, je napríklad dôležitou živinou potrebnou pre metabolizmus lipidov a produkciu lipoproteínov s veľmi nízkou hustotou (VLDL) v pečeni. Cholín sa však metabolizuje činnosťou mikroflóry na toxický trimetylamín (TMA), ktorý sa ďalej metabolizuje v pečeni za vzniku trimetylamín-N-oxidu (TMAO). Tento metabolit vykazuje proaterogénne vlastnosti a bolo dokázané, že zhoršuje kardiovaskulárne choroby, ktoré sú obzvlášť rozšírené u diabetických pacientov (Koeth et al., 2013; Kirichenko et al., 2020).

Aj keď priama korelácia medzi črevnou dysbiózou a koronárnym mikrovaskulárnym poškodením u diabetických pacientov ešte nie je úplne známa, niektoré z poznatkov dokazujú, že by sa mohla (dysbióza) podieľať na vývoji kardiálnej ischémie, infarktu a rizika aterotrombózy (Zinöcker and Lindseth, 2018). Komplexnosť pôsobenia mikrobiómu sa, samozrejme, mení zmenami diéty či pôsobením rôznych liekov (zvlášť antibiotikami). Tieto fakty sa budú musieť brať do úvahy v klinických štúdiách realizovaných v budúcnosti. Dá sa tiež uvažovať aj o možnosti, že výsledky viacerých klinických liekových štúdií, ktoré „vyšli negatívne“, by možno mali iný výsledok, keby sa prihliadlo aj na vplyvy črevného mikrobiómu (Bull and Plummer, 2014; Verhaar et al., 2020). Zároveň predstavujú novú paradigmu pre preventívnu medicínu v blízkej budúcnosti (Dukát et al., 2018; Zinöcker and Lindseth, 2018).

Záver

Terapeutické zásahy - ako sú diétne modifikácie, prebiotiká, probiotické baktérie, antibiotiká, metformín, transplantácia stolice a bariatrická chirurgia - môžu účinne zmeniť zloženie črevných baktérií a tak snád' už v blízkej budúcnosti uvidíme, či tieto intervencie môžu pacientom s diabetom priniesť benefity.

Literatúra

1. **Atkinson MA., Chervonsky A.** Does the gut microbiota have a role in type 1 diabetes? Early evidence from humans and animal models of the disease. *Diabetologia* 2012; 55(11): 2868-2877.
2. **Barengolts E.** Gut microbiota, prebiotics, probiotics and synbiotics in management of obesity and prediabetes: review of randomized controlled trials. *Endocr Pract* 2016; 22(10): 1224-1234.
3. **Bäckhed F., Ding H., Wang T., et al.** The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(44): 15718-15723.

4. **Bull MJ., Plummer NT.** Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integr Med* 2014; 13(6): 17-22.
5. **Dietrich T., Sharma P., Walter C., et al.** The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease. *J Periodontol* 2013; 84(4Suppl): S70-84.
6. **Dukát A., Kubíková E., Payer J., Šimko F.** Aké sú možné úlohy črevného mikrobiómu v procese vývoja endotelovej dysfunkcie a následnej aterosklerózy? *Interná med* 2018; 18(9): 383-385.
7. **Evenepoel P., Meijers BK., Bammens BR., Verbeke K.** Uremic toxins originating from colonic microbial metabolism. *Kidney Int Suppl* 2009; 114: S12-S19.
8. **Gomes AC., Bueno AA., Machado de Souza RG., Mota JF.** Gut microbiota, probiotics and diabetes. *Nutr J* 2014, 13: 60.
9. **Grarup N., Sandholt CH., Hansen T., Pedersen O.** Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: from genome-wide association studies to rare variants and beyond. *Diabetologia* 2014; 57(8): 1528-1541.
10. **Gudi1 R., Perez N., Johnson BM., et al.** Complex dietary polysaccharide modulates gut immune function and microbiota, and promotes protection from autoimmune diabetes. *Immunology* 2019; 157(1): 70-85.
11. **Jeon CY., Haan MN., Cheng C., et al.** Helicobacter pylori infection is associated with an increased rate of diabetes. *Diabetes Care* 2012; 35(3): 520-525.
12. **Karlsson FH., Tremaroli V., Nookaew I., et al.** Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013; 498(7452): 99-103.
13. **Kirichenko TV., Markina YV., Sukhorukov VN., et al.** A Novel Insight at Atherogenesis: The Role of Microbiome. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 586189.
14. **Koeth RA., Wang Z., Levison BS., et al.** Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 2013; 19(5): 576-585.
15. **Kuczynski J., Lauber CL., Walters WA., et al.** Experimental and analytical tools for studying the human microbiome. *Nat Rev Genet* 2012; 13(1): 47-58.
16. **Manco M., Putignani L., Bottazzo GF.** Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. *Endocr Rev* 2010; 31(6): 817-844.
17. **Mattila KJ., Nieminen MS., Valtonen VV., et al.** Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ* 1989; 298(6676): 779-781.
18. **Mejía-León ME., Petrosino JF., Ajami NJ., et al.** Fecal microbiota imbalance in Mexican children with type 1 diabetes. *Sci Rep* 2014; 4: 3814.
19. **Qin J., Li Y., Cai Z., et al.** A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012; 490(7418): 55-60.
20. **Syrjänen J.** Central nervous system complications in patients with bacteremia. *Scand J Infect Dis* 1989; 21(3): 285-296.
21. **Verhaar BJH., Prodan A., Nieuwdorp M., Muller M.** Gut Microbiota in Hypertension and Atherosclerosis: A Review. *Nutrients* 2020; 12(10): 2982.
22. **Weinstock GM.** Genomic approaches to studying the human microbiota. *Nature* 2012; 489(7415): 250-256.
23. **Zinöcker MK., Lindseth IA.** The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. *Nutrients* 2018; 10(3): 365.

KARDIOPROTEKTIVNÍ A NEFROPROTEKTIVNÍ VÝSLEDKY NOVÝCH NEINZULINOVÝCH ANTIDIABETIK - STRUČNÝ PŘEHLED NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH STUDIÍ

CARDIOPROTECTIVE AND NEPHROPROTECTIVE RESULTS OF NEW NON-INSULIN ANTIDIABETICS - A BRIEF OVERVIEW OF THE MOST IMPORTANT STUDIES

M. Lejsková

Institute for Postgraduate Medical Education, Department of Internal Medicine, Prague.

Thomayer University Hospital, Clinic of Internal Medicine, Department of Diabetology, Prague

Abstract

The so-called "new antidiabetics" include two drug groups with an incretin-based effect: DPP4 inhibitors (-gliptins) and GLP-1 receptor agonists (GLP-1RA) and group with strong but different effect - "glucosurics" - inhibitors of SGLT2 (iSGLT2). Only for iSGLT2 and some GLP-1RA, cardioprotective and nephroprotective results were demonstrated in the studies. These two most beneficial drug groups are effective in reducing glycemia, but through very different mechanisms, which can be reflected in different mechanisms of cardioprotectivity and nephroprotectivity. The benefit of iSGLT2 treatment appears to be mediated predominantly by hemodynamic effects, while GLP-1RAs function predominantly through antiatherogenic/anti-inflammatory and antioxidative mechanisms. The main part of the work includes overview of the results of the most important studies for both drug groups, in conclusion with the results of studies comparing both drug groups. The benefits found led to a change in the antidiabetic selection regimen for DM2t: for optimal choice of the 2nd choice drug, it is now recommended correctly assess the present renal and cardiovascular risk and to select the optimal 2nd and 3rd choice pharmacotherapy from the available antidiabetics.

Úvod

Aterosklerotické kardiovaskulární onemocnění (ASKVO), do něhož je zařazována ischemická choroba srdeční (ICHS), cerebrovaskulární onemocnění (ICHENS) a další choroby periferních tepen s předpokládanou aterosklerotickou etiologií (zejména ischemická choroba dolních končetin, ICHDK) - je podle epidemiologických studií hlavní příčinou morbidity a mortality u pacientů s diabetem.¹ Diabetes 2. typu (DM2t) patří mezi hlavní projevy metabolického syndromu spolu s arteriální hypertenzí a dyslipidemií, které přinášejí další, nezávislé kardiovaskulární riziko. Řada studií ukázala, že účinná kontrola jednotlivých kardiovaskulárních rizikových faktorů (KVR) přináší snížení rizika ASKVO a to zejména tam, kde je účinně ovlivněno více faktorů.² Primárním kardiovaskulárním endpointem ve studiích s antidiabetiky bývá kompozit výsledků kardiovaskulární úmrtí + nefatální infarkt myokardu + nefatální ischemická cévní mozková příhoda (tzv. MACE, Major Atherosclerotic Cardiovascular Event) a nově i hospitalizace pro srdeční selhání (HHF) popř. hospitalizace + urgentní vyšetření pro srdeční selhání (HVHF).

Nová antidiabetika s potenciálem kardio- a nefro- protektivity

Mezi tzv. „nová antidiabetika“ bývají řazeny dvě lékové skupiny s účinkem založeným na působení inkretinů, resp. peptidu GLP-1: tzv. -gliptiny, které účinkují jako inhibitory Dipeptidylpeptidázy 4 (DPP4) a peptidy odolné k DPP4, které působí jako Agonisté Receptoru Glucagon-Like Peptidu 1 (GLP-1RA). Podobně silnými antidiabetiky jsou tzv.

„glukosurika“ - inhibitory Sodium-Glucose Linked Transporter 2 (iSGLT2). Pouze u některých iSGLT2 a některých GLP-1RA byly ve studiích prokázány kardioprotektivní a nefroprotektivní výsledky. Obě tyto lékové skupiny účinně snižují glykemii, ale prostřednictvím velmi odlišných mechanismů, které se mohou projevit odlišnými mechanismy kardioprotektivity a nefroprotektivity. Zdá se, že prospěch z léčby iSGLT2 je realizován převážně hemodynamickými účinky, zatímco GLP-1RA účinkují převážně prostřednictvím antiaterogenních/protizánětlivých i antioxidačních mechanismů.^{3,4}

Srdeční selhání (HF) je další hlavní příčinou morbidity a mortality na kardiovaskulární choroby a jeho význam vzrůstá zejména u osob s diabetem s komplikacemi; recentní studie ukázaly u diabetiků dvojnásobnou četnost hospitalizací se srdečním selháním než u nediabetiků.^{5,6} U osob s diabetem bývá přítomna arteriální hypertenze, diastolická dysfunkce bez poklesu ejekční frakce (EF) a častěji než u nediabetiků i srdeční selhání se zachovalou ejekční frakcí (HFpEF).^{7,8,9} Zatím jsou k dispozici výsledky studií pro prospěch z léčby iSGLT2 u srdečního selhání se sníženou ejekční frakcí (HFrEF).¹⁰

Průkazný kardiovaskulární (KV) prospěch ve studiích vedl ke změně schématu pro volbu antidiabetik u diabetu 2. typu (DM2t): pro nalezení optimálního léku 2. volby po metforminu je nyní doporučováno správně posoudit přítomné kardiovaskulární a renální riziko¹ **Chyba! Záložka není definována.** a poté vybrat optimální farmakoterapii 2. a 3. volby z dostupných antidiabetik.¹¹

Inhibitory SGLT2: skupinový efekt snížení srdečního selhání, ale variabilita výsledků MACE a jeho složek.

Studie **EMPA-REG OUTCOME**, randomizovaná, dvojitě zaslepená s **empagliflozinem** proti placebo nalezla při mediánu sledování 3,1 roku na souboru 7 020 DM2t s průměrným věkem 63 let, s anamnézou ASKVO, významné snížení **MACE** (HR 0,86 [95% CI 0,74 - 0,99] p = 0,04) i **celkové mortality** (HR 0,68 [95% CI 0,57 - 0,82] p < 0,001).¹² Překvapivým vedlejším výsledkem v této první kardiovaskulární (KV) studii s iSGLT2 bylo snížení rizika **hospitalizace pro srdeční selhání (HHF)** o třetinu (HR 0,65 [95% CI 0,50 - 0,85] p = 0,002). Podobně příznivý efekt na srdeční selhání poté našly i další studie s iSGLT2.

Následovaly výsledky dvou velkých studií s **kanagliflozinem**, které samostatně hodnotily diabetiky se vstupními kritérii kardiovaskulárními (**CANVAS**, pouze 66 % zařazených DM2t prodělalo ASKVO) a kardiorenálními (**CANVAS-R** u pacientů s chronickým onemocněním ledvin souvisejících s diabetem).¹³ Kanagliflozin prokázal významné snížení rizika **MACE** (HR 0,86 [95% CI 0,75 - 0,97] pro kombinovaný výsledek) - velmi podobné studii s empagliflozinem. Je však třeba zmínit, že v těchto studiích s kanagliflozinem bylo nalezeno **zvýšené riziko amputace dolních končetin**, které nebylo přítomno v další, cíleně renální studii **CREDESCENCE** s jinými vstupními kritérii. Zvýšeno bylo riziko ketoacidózy. Nicméně léčba kanagliflozinem v této studii prokázala kromě kardiovaskulárních přínosů i jednoznačnou **nefroprotektivitu**: třetinovou redukci primárního kombinovaného renálního endpointu (HR 0,68 [95% CI 0,54 - 0,86]) spolu s významnou redukcí **MACE** (HR 0,80 [95% CI 0,67 - 0,95]) a opět redukcí rizika **HHF** (HR 0,61 [95% CI 0,47 - 0,80]).¹⁴

Další kardiovaskulární studie, **DECLARE-TIMI 58**, randomizovaná, dvojitě zaslepená s **dapagliflozinem** proti placebo měla pouze ~40 % zařazených s anamnézou prodělaného ASKVO, ostatní diabetici splňovali kritéria vícečetných kardiovaskulárních rizik. Byl nalezen přínos dapagliflozinu na snížení kompozitu **kardiovaskulární smrti + HHF** (HR 0,83 [95% CI 0,73 - 0,95] p = 0,005), v němž se promítlo především snížení **HHF** (HR 0,73 [95% CI 0,61 - 0,88]). Přesto redukce primárního cíle, **MACE**, **nedosáhla významnosti** (HR 0,93 [95% CI 0,84 - 1,03] p = 0,17), což bylo vysvětlováno méně než polovičním zařazením diabetiků s anamnézou ASKVO.¹⁵

Studie **VERTIS CV** s iSGLT2 **ertugliflozinem** proti placebo zahrnovala 8246 pacientů s průměrně 13 let trvajícím DM2t, s průkaznou ASKVO, průměrným věkem 64,4 roku. Medián sledování byl 3 roky, tedy všechny klíčové faktory podobné ostatním studiím, a přesto ertugliflozin proti placebo pro **riziko MACE nedosáhl významnosti** (HR 0,97 [95% CI 0,85 - 1,11]). Podobně noninferiorní výsledek byl nalezen i v dalších klíčových sekundárních výsledcích: kompozit úmrtí z kardiovaskulárních příčin + HHF, smrt z kardiovaskulárních příčin, kompozit úmrtí z renálních příčin + nutnost renální substituční terapie + zdvojnásobení hladiny kreatininu v séru. Významný prospěch z léčby ertugliflozinem byl nalezen pouze pro **HHF** (0,70 [95% CI 0,54 - 0,90]).¹⁶

Studie **SCORED** se **sotagliflozinem**, **duálním** inhibitorem SGLT2 a SGLT1, který kromě glukosurie snižuje glykemii i inhibicí na SGLT1 ve střevě, byla ukončena předčasně po mediánu sledování 16 měsíců, když bylo dosaženo významného snížení primárního kompozitu zahrnujícího **kardiovaskulární úmrtí + HHF + HVHF** (HR 0,74 [95% CI 0,63 - 0,88] $p < 0,001$). Podobná redukce jako HHF u ostatních gliflozinů byla nalezena pro **kompozit HHF + HVHF** (HR 0,67 [95% CI 0,55 - 0,82] $p < 0,001$), ale nebyl prokázán významný prospěch ani v mortalitních, ani v renálních endpointech. Nežádoucí účinky sotagliflozinu zahrnovaly častější **průjmy** pravděpodobně související s inhibicí SGLT1 ve střevní stěně.¹⁷

Další studie se **sotagliflozinem**, **SOLOIST-WHF** byla uspořádána **cíleně na akutně dekompenzované srdeční selhání u DM2t**. Bylo zařazeno 1222 DM2t s akutním HHF k okamžité indikaci léčby sotagliflozinem proti placebo (zahájení do 3 dnů od dimise). Kritéria pro vstup do studie byla odlišná od jiných KV studií s antidiabetiky – pečlivě sestavena s cílem vybrat na jedné straně pacienty s jednoznačně zvýšeným rizikem HF (zvýšení natriuretického peptidu, nutnost i.v. diuretik...), ale na druhé straně vyloučit příliš rizikové pacienty (4. stupeň nefropatie, setrvalá oxygenoterapie, koronární syndrom s intervencí, ...). Studie rovněž skončila úspěšně předčasně při mediánu sledování **9 měsíců**: s výsledkem upraveného primárního endpointu na kompozit **kardiovaskulární úmrtí + HHF + HVHF**, který byl léčbou sotagliflozinem **redukován o třetinu** (HR 0,67 [95% CI 0,52 - 0,85] $p < 0,001$). Ve větvi se sotagliflozinem byl nejen častěji průjem ale i 5x více závažných hypoglykemií.¹⁸

Souhrn KV prospěchu z iSGLT2

Recentní metaanalýza studií s iSGLT2 našla u této lékové skupiny největší přínos ve **snížení rizika progresu nefropatie** (renální kompozit HR 0,62 [95% CI 0,56 - 0,70]) a **HHF** (HR 0,68 [95% CI 0,61 - 0,76]): redukce HHF byla shledána nejkonzistentnějším přínosem iSGLT2 mezi studiemi, nezávislým na anamnéze ASKVO i nefropatii. Rovněž **kompozit HHF + KV úmrtí** byl významně redukován (HR 0,78 [95% CI 0,73 - 0,84]) a konzistentní. Heterogenita mezi výsledky studií iSGLT2 byla nalezena jen pro kardiovaskulární mortalitu. I snížení rizika **MACE** (HR 0,90 [95% CI, 0,85 - 0,95]) bylo v této metaanalýze shledáno konzistentní napříč studiemi s iSGLT2.¹⁹

V mezinárodních pokynech pro léčbu diabetu¹ publikovaných ještě před touto metaanalýzou jsou iSGLT2 doporučovány v léčbě diabetiků se sníženou ejekční frakcí. Podle výsledků studie SOLOIST-WHF může být prospěšné indikovat léčbu iSGLT přímo v návaznosti na **akutní HHF**, pro praxi je však potřebné zohlednit skutečnost, že probíhala s **duálním** inhibitorem SGLT2/1, jehož efekt na srdeční selhání nemusí být plně shodný s iSGLT2.

Snížení rizika **HHF** léčbou iSGLT2 je průkazné i u **nediabetiků**: Ve studii DAPA-HF bylo prokázáno, že účinek dapagliflozinu na primární výsledek - HHF byl konzistentní bez ohledu na přítomnost nebo nepřítomnost diabetu 2. typu.²⁰ Podobné výsledky potvrdila studie **EMPEROR Reduced** na souboru pacientů s HFrEF zařazených na základě ejekční frakce

pod 40%.²¹ Publikace výsledků empagliflozinu u pacientů s HFpEF (**EMPEROR Preserved**) je očekávána v září 2021: firma na svých stránkách předběžně ohlásila snížení rizika pro HFpEF empagliflozinem. Zveřejněná pooled data studií **SCORED+SOLOIST** s kategoriemi EF ukazují pro iSGLT2/1 sotagliflozin výborné výsledky u HFpEF, nejméně stejně dobré jako u HFrEF.²² Cílená randomizovaná studie **DELIVER** s dapagliflozinem u HFpEF má výsledky zatím ohlášeny na leden 2022.²³

Peptidy ze skupiny GLP-1RA: s.c. aplikace, výsledky studií příznivé, ale ještě variabilnější.

Enterohormon Glucagon Like Peptid-1 (GLP-1) fyziologicky reguluje kolísání glykemie kontrolou sekrece inzulínu a glukagonu, ale tento účinek je u DM2t narušen. Humánní GLP-1 je in vivo rychle štěpen Dipeptidyl Peptidázou 4 (DPP-4), proto byly vyvinuty peptidy odolné vůči DPP4: jednak na bazi exendinu-4, analogu GLP-1 izolovaného z jedu ještěrky (Gila monster), který je přirozeně vůči DPP4 velmi odolný (exenatid a lixisenatid), a jednak peptidy na bazi humánního GLP-1 upravené pro odolnost k DPP4 (liraglutid, semaglutid a dulaglutid, albiglutid).

Studie **LEADER** s 1x denně s.c. podávaným **liraglutidem** proti placebo (publikovaná paralelně s prvními výsledky empagliflozinu) s mediánem sledování 3,8 roku (9 340 DM2t trvání v průměru téměř 13 let, s již manifestovaným ASKVO nebo s vysokým rizikem, průměrný věk 64 let; prokázala významné snížení **MACE** (HR 0,87 [95% CI 0,78 - 0,97] p = 0,01) i redukci **úmrť z KV příčin** (HR 0,78 [95% CI 0,66 - 0,93] p = 0,007).²⁴ Prespecifikovaná sekundární analýza prokázala **redukci renálního kompozitu** (HR 0,78 [95% CI 0,67 - 0,92] p = 0,003).²⁵

Další GLP-1RA jsou aplikovány s.c. 1x týdně: semaglutid (jediný GLP-1RA se s.c. i perorální variantou), dulaglutid, albiglutid, exenatid ER.

Kardiovaskulární výsledky dalšího GLP-1RA, **semaglutidu**, 1x týdně s.c. proti placebo ve studii **SUSTAIN-6** byly konzistentní se studií LEADER: v této studii bylo 3 297 pacientů s DM2t randomizováno k podávání semaglutidu (0,5 mg nebo 1,0 mg) nebo placebo 1x týdně po dobu 2 let. Bylo nalezeno významné snížení **MACE** (HR 0,74 [95% CI 0,58 - 0,95] p < 0,001)²⁶, i významné gastrointestinální nežádoucí účinky, které bývají nežádoucím účinkem i u dalších léků této skupiny.

KV účinky **orální formy semaglutidu** ve srovnání s placebem byly předběžně hodnoceny ve studii **PIONEER 6**, se 3 183 pacienty, medián sledování pouze **16 měsíců**: Významného snížení dosáhly **mortalitní výstupy: KV mortalita** (HR 0,49 [95% CI 0,27 - 0,92]) i **celková mortalita** (HR 0,51 [95% CI 0,31 - 0,84]), ale pro snížení rizika primárního endpointu **MACE** byla prokázána jen noninferiorita (HR 0,79 [95% CI 0,57 - 1,11]). Kardiovaskulární účinky této formy semaglutidu budou dále testovány ve větší a dlouhodobější studii.²⁷

Rovněž ve studii **Harmony Outcomes** s humánním peptidem **albiglutidem** aplikovaným 1x týdně proti placebo byly nalezeny podobně příznivé KV výsledky. Zařazeno bylo 9 463 DM2t a během mediánu sledování pouhých **1,6 roku** dosáhla významnosti redukce **MACE** (HR 0,78, [95% CI 0,68 - 0,90]) a **IM** (HR 0,75 [95% CI 0,61 - 0,90]).²⁸

Ve studii **REWIND** s **dulaglutidem** proti placebo bylo zařazeno rovněž téměř 10 tisíc pacientů s DM2t (jen třetina s anamnézou ASKVO), medián sledování byl 5,4 let. Bylo prokázáno významné snížení **MACE** (HR 0,88 [95% CI 0,79 - 0,99] p = 0,026), které bylo **konzistentní napříč podskupinami pacientů s anamnézou KV příhody a bez ní**. Celková mortalita mezi skupinami se nelišila (p = 0,067).²⁹

Výsledky **lixisenatidu** (odvozeného od exendinu), s.c. 1x denně, proti placebo ve studii **ELIXA** s pacienty s DM2t zařazenými do půl roku po manifestované ICHS a sledovanými s

mediánem přes 2 roky, nenalezly žádný významný KV prospěch: primární výsledek MACE (HR 1,02 [95% CI 0,89 - 1,17]); podobný výsledek s HR těsně kolem 1,0 měly i složky MACE, sekundární endpointy a další sledované výstupy.³⁰

Výsledkem léčby **exenatidem ER** (rovněž odvozen od exendinu), s.c. 1x týdně proti placebo, ve studii **EXCEL**, v níž 3/4 ze 14752 zařazených DM2t bylo v sekundární prevenci, medián sledování 3,2 roku, byla významně redukována **celková mortalita** (HR 0,86 [95% CI 0,77 - 0,97]) ale nikoli KV mortalita (HR 0,88 [95% CI 0,76 - 1,02]); ani primární endpoint MACE těsně nedosáhl na významné snížení rizika (HR 0,91 [95% CI 0,83 - 1,00]).³¹

Souhrn: Agonisté receptoru glucagon-like peptidu 1 (GLP-1RA)

U léků ze skupiny GLP-1RA jsou sice výsledky kardiovaskulárních studií vesměs příznivé – bez nálezu podezření na zvýšení KV rizika ve srovnání s placebem, ale v detailech jsou silně variabilní a chybí jasný skupinový benefit, jakým je u iSGLT2 redukce HHF a nefroprotektce.

Retrospektivní studie dat DM2t z regionu Veneto (2011-2018) vycházela z hypotézy, že peptidy skupiny GLP-1RA vytvořené jako analoga sekvence endogenního humánního GLP-1 by mohly aktivovat receptor GLP-1 fyziologičtěji, a proto lépe využít mnohostranné působení tohoto enterohormonu, než agonisté receptoru GLP-1 vyvinuté jako analoga exendinu-4. Byly nalezeny významně lepší kardiovaskulární výsledky u pacientů léčených humánními GLP-1RA než exendinovými GLP-1RA pro kompozit **MACE** (HR 0,61; [95% CI 0,39 - 0,95]), **infarkt myokardu** (HR 0,51; [95% CI 0,28 - 0,94]) a **hospitalizaci z kardiovaskulárních příčin** (HR 0,66; [95% CI 0,47 - 0,92]).³²

Porovnání iSGLT2 a GLP-1RA

Velmi **rozsáhlá metaanalýza studií** s antidiabetiky,³³ která měla za cíl získat podklady pro doporučení léčby DM2t, našla **pro obě skupiny** redukci **celkové a kardiovaskulární mortality, nefatálního IM a selhání ledvin. Specifické pro iSGLT2** bylo snížení rizika **HHF. Specifické pro GLP-1RA** bylo snížení rizika **cévních mozkových příhod**. Pro kardiovaskulární výsledky jsou v dodatku publikovány podrobné tabulky prokazující stratifikaci přínosu - s maximem KV prospěchu u kardiovaskulárně nejrizikovějších pacientů.

V **retrospektivní „real-world“** KV zaměřené studii dat obyvatel severovýchodní Itálie s DM2t, z nichž necelá pětina prodělala ASKVO, byl nalezen **výraznější prospěch z léčby iSGLT2 než GLP-1RA**: významně méně nejen **HHF** (HR 0,59; [95% CI 0,35 - 0,99] p = 0,048), ale i **MACE** (HR 0,68; [95% CI 0,61 - 0,99] p = 0,043), **infarktů myokardu** (HR 0,72; [95% CI 0,53 - 0,98] p = 0,035), i **hospitalizací z KV příčin** (HR 0,82; [95% CI 0,69 - 0,99] p = 0,037).³⁴

Metaanalýza 13 randomizovaných studií, splňujících prespecifikovaná kritéria, porovnávala renální a kardiovaskulární výsledky iSGLT-2 a GLP-1 RA u **DM2t s nefropatií**.³⁵ Významná redukce MACE a významný renální benefit byl nalezen **pro iSGLT2 (MACE HR 0,85 [95% CI 0,75 - 0,96], renální kompozit HR 0,68 [95% CI 0,59 - 0,78])**, **nikoli pro GLP-1 RA** při zařazení obou podtypů GLP-1RA (MACE HR 0,91 [95% CI 0,80 - 1,04], renální HR 0,68 [95% CI 0,72 - 1,03]). Při porovnání obou skupin (oba typy analogů GLP-1RA dohromady proti iSGLT2) redukovaly iSGLT2 lépe **renální endpointy** (HR **0,79** [0,63 - 0,99]), ale významné rozdíly pro MACE nebyly nalezeny (HR 0,94 [0,78 - 1,12]). Podrobné subanalýzy humánních proti exendinovým agonistům receptoru GLP-1 našly (podobně jako³²) kardiovaskulární přínos snížení **MACE** pouze pro humánní (HR **0,81** [0,69 - 0,95]) a nikoli pro exendinové (HR 1,03 [0,88 - 1,20]) analogy skupiny GLP-1RA: rozdíl mezi nimi se podílel na celkově horším hodnocení celé skupiny GLP-1RA v porovnání s iSGLT2.

Závěr

Nezastupitelný a mezi antidiabetiky jedinečný efekt snížení rizika srdečního selhání s nefroprotektivitou, který mají iSGLT2 i u nediabetiků, bude využíván nejen diabetology, ale i kardiology, internisty a nefrology. Pro GLP-1RA je specifické snížení rizika cévních mozkových příhod. Obě skupiny mají v metaanalýzách výsledky s redukcí celkové a kardiovaskulární mortality, nefatálního IM a selhání ledvin. Určitá odlišnost v účinku humánní a exendinové podskupiny GLP-1RA může přispět k oslabení kardiovaskulárních přínosů GLP-1RA, jsou-li v metaanalýzách hodnoceny celkově. Jsou vyvíjeny nové duálně působící peptidy, které dokáží ještě účinněji přispět k redukcí hmotnosti a mohly by doplnit spektrum nejen antidiabetik, ale i antiobezitik.

Literatura

1. **American Diabetes Association** Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes—2021 Diabetes Care 2021;44(Supplement 1): S125-S150.
2. **Gaede P., Lund-Andersen H., Parving H.-H., Pedersen P.** Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. N Engl J Med 2008; 358(6): 580-591.
3. **DeFronzo RA.** Combination therapy with GLP-1 receptor agonist and SGLT2 inhibitor. Diabetes Obes Metab 2017; 19(10): 1353-1362.
4. **Lee MMY., Petrie MC., McMurray JJV., Sattar N.** How Do SGLT2 Inhibitors and GLP-1 Receptor Agonists Reduce Cardiovascular Outcomes? Arterioscler Thromb Vasc Biol 2020; 40(3): 506-522.
5. **Cavender MA., Steg PG., Smith SC. Jr., et al.** REACH Registry Investigators. Impact of diabetes mellitus on hospitalization for heart failure, cardiovascular events, and death: outcomes at 4 years from the Reduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry. Circulation 2015; 132(10): 923-931.
6. **McAllister DA., Stephanie H Read SH., Kerssens J., et al.** Incidence of hospitalization for heart failure and case-fatality among 3.25 million people with and without diabetes mellitus. Circulation 2018; 138(24): 2774-2786.
7. **Lam CSP., Voors AA., de Boer RA., et al.** Heart failure with preserved ejection fraction: from mechanisms to therapies. Eur Heart J 2018; 39(30): 2780-2792.
8. **Toth P., Gauthier D.** Heart failure with preserved ejection fraction: strategies for disease management and emerging therapeutic approaches. Postgrad Med 2021; 133(2): 125-139.
9. **Williams DM., Evans M.** Dapagliflozin for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Will the DELIVER Study Deliver? Diabetes Ther 2020; 11(10): 2207-2219.
10. **Butler J., Usman MS., Khan MS., et al.** Efficacy and safety of SGLT2 inhibitors in heart failure: systematic review and meta-analysis. ESC Heart Fail 2020; 7(6): 3298-3309.
11. **American Diabetes Association.** Figure 9.1 in Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes - 2021. Diabetes Care 2021; 44(Supp. 1): S111-S124.
12. **Zinman B., Wanner C., Lachin JM., et al.** Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes. N Engl J Med 2015; 373(22): 2117-2128.
13. **Neal B., Perkovic V., Matthews DR.** Canagliflozin and cardiovascular and renal events in type 2 diabetes. N Engl J Med 2017; 377(7): 644-657.
14. **Perkovic V., Jardine MJ., Neal B., et al.** Canagliflozin and renal outcomes in type 2 diabetes and nephropathy. N Engl J Med 2019; 380(24): 2295-2306.
15. **Wiviott SD., Raz I., Bonaca MP., et al.** Dapagliflozin and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. N Engl J Med 2019; 380(4): 347-357.
16. **Cannon CP., Pratley R., Dagogo-Jack S., et al.** Cardiovascular outcomes with ertugliflozin in type 2 diabetes. N Engl J Med 2020; 383(15): 1425-1435.

17. **Bhatt DL., Szarek M., Pitt B., et al.** Sotagliflozin in patients with diabetes and chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2021; 384(2):129-139.
18. **Bhatt DL., Szarek M., Steg PG., et al.** Sotagliflozin in Patients With Diabetes and Recent Worsening Heart Failure. *N Engl J Med* 2021; 384(2): 117-128.
19. **McGuire DK., Shih WJ., Cosentino F., et al.** Association of SGLT2 Inhibitors With Cardiovascular and Kidney Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes. *JAMA Cardiol* 2021; 6(2): 148-158.
20. **McMurray JJV., Solomon SD., Inzucchi SE., et al.** Dapagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *N Engl J Med* 2019; 381(21): 1995-2008.
21. **Anker SD., Butler J., Filippatos G., et al.** Effect of Empagliflozin on Cardiovascular and Renal Outcomes in Patients With Heart Failure by Baseline Diabetes Status: Results From the EMPEROR-Reduced Trial. *Circulation* 2021; 143(4): 337-349.
22. **Bhatt DL.** SOLOIST-WHF and SCORED Investigators Effect of Sotagliflozin on Cardiovascular Events in Patients With Type 2 Diabetes Post Worsening Heart Failure - SOLOIST-WHF. In ACC.21 Presentation Slides | SOLOIST and SCORED: SGLT1/2 Inhibition With Sotagliflozin Across Full EF Spectrum
23. **ClinicalTrials.gov.** Dapagliflozin Evaluation to Improve the LIVES of Patients With PReserved Ejection Fraction Heart Failure. (DELIVER). 2020. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03619213>.
24. **Marso SP., Daniels GH., Brown-Frandsen K., et al.** LEADER Steering Committee; LEADER Trial Investigators. Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2016; 375(4): 311-322.
25. **Mann JFE., Ørsted DD., Brown-Frandsen K., et al.** LEADER Steering Committee and Investigators Liraglutide and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2017; 377(9): 839-848.
26. **Marso SP., Holst AG., Vilsbøll T.** SUSTAIN-6 Investigators. Semaglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2016; 375(19): 1834-1844.
27. **Husain M., Birkenfeld AL., Donsmark M., et al.** Oral semaglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2019; 381(9): 841-851.
28. **Hernandez AF., Green JB., Janmohamed S., et al.** Albiglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and cardiovascular disease (Harmony Outcomes): a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2018; 392(10157): 1519-1529.
29. **Gerstein HC., Colhoun HM., Dagenais GR., et al.** REWIND Investigators. Dulaglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes (REWIND): a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2019; 394(10193): 121-130.
30. **Pfeffer MA., Claggett B., Diaz R., et al.** ELIXA Investigators. Lixisenatide in patients with type 2 diabetes and acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2015; 373(23): 2247-2257.
31. **Holman RR., Bethel MA., Mentz RJ., et al.** EXSCEL Study Group. Effects of once-weekly exenatide on cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2017; 377(13): 1228-1239.
32. **Longato E., Di Camillo B., Sparacino G., et al.** Cardiovascular effectiveness of human-based vs. exendin-based glucagon like peptide-1 receptor agonists: a retrospective study in patients with type 2 diabetes. *Eur J Prev Cardiol* 2021; 28(1): 22-29.
33. **Palmer SC., Tendal B., Mustafa RA., et al.** Sodium-glucose cotransporter protein-2 (SGLT-2) inhibitors and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists for type 2 diabetes: systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2021; 372: m4573.

34. **Longato E., Di Camillo B., Sparacino G., et al.** Cardiovascular outcomes of type 2 diabetic patients treated with SGLT-2 inhibitors versus GLP-1 receptor agonists in real-life. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2020; 8(1): e001451.
35. **Yamada T., Mako Wakabayashi M., Bhalla A., et al.** Cardiovascular and renal outcomes with SGLT-2 inhibitors versus GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic kidney disease: a systematic review and network meta-analysis *Cardiovasc Diabetol* 2021; 20(1): 14.

MASTNÉ KYSELINY U OBEZITY**FATTY ACIDS IN OBESITY****J. Macášek, M. Zeman, M. Vecka, B. Staňková, A. Žák***IV. interní klinika 1. lékařská fakulta Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze***Abstrakt**

Obezita je stav, při kterém dochází k nadměrnému hromadění tělesného tuku. Obezita je asociována s řadou komorbidit, jako jsou diabetes mellitus 2. typu, dyslipidémie, arteriální hypertenze, ischemická choroba srdeční, některá nádorová onemocnění, spánková apnoe a další. Jako měřítko obezity je nejčastěji užíván body mass index (BMI), jehož hodnota je vypočítávána jako poměr mezi hmotností v kilogramech a druhou mocninou výšky v metrech. Za obézní jsou považovány osoby s hodnotou tohoto indexu 30 a více. Těsnější korelaci se zdravotními riziky má stupeň abdominální obezity, vyjádřený obvodem pasu v cm; v naší populaci jsou za obézní považováni muži s obvodem pasu nad 94 cm a ženy nad 80 cm. V rozvoji obezity hrají roli faktory environmentální, jako přejídání, nevhodné složení stravy a faktory genetické. Mastné kyseliny, přijímané ve stravě, produkováné endogenní syntézou a podléhající metabolickým přeměnám, patří k pojítkům mezi obezitou a uvedenými komorbiditami. V práci jsou diskutovány mechanismy, kterými se jednotlivé třídy mastných kyselin (nasyčené, transnenasyčené, monoenoové a polyenoové řady n-3 a n-6) a jejich deriváty uplatňují v rozvoji metabolických poruch a komplikací obezity.

Abstract

Obesity is characterised by an excessive accumulation of body fat. Obesity is associated with many potentially harmful diseases such as type 2 diabetes mellitus, dyslipidaemia, arterial hypertension, ischemic heart disease, several carcinomas, sleep apnea syndrome etc. We use measurement of body mass index (BMI) to screen individuals with possible health problems. Body mass index is a person's weight in kilograms divided by the square of height in meters. Patients with BMI equal to or greater than 30 are considered obese. Visceral fat accumulation is very deleterious for patients and thus tightly associated with metabolic diseases. Visceral obesity is characterised as a waist circumference taken around the abdomen roughly at the level of the umbilicus. In our population for man, a waist circumference of 94 and more centimeters, and for women, a waist circumference of 80 and more centimeters, indicates risk of metabolic diseases. There are several factors important for development of obesity such as environmental contributions, overeating, inappropriate composition of the diet with too much sugar and unhealthy fat and genetic factors as well. Fatty acids obtained in the diet, endogenously produced or transformed in metabolism, and their composition play a role in obesity and its complications. Our work discusses mechanisms of action of particular fatty acids in obesity and metabolic diseases. Saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids differ in their impacts on obesity because their metabolic products e.g. proinflammatory and antiinflammatory cytokines have different effects in pathogenesis of obesity and its complications.

Úvod

Obezita představuje vysoké zdravotní riziko, protože se významně podílí na rozvoji nepříznivých zdravotních komplikací. Mezi obézní jedince řadíme pacienty, kteří mají hodnotu BMI rovnu nebo vyšší než 30. Nicméně pro lepší identifikaci zdravotních rizik je vhodnější měření obvodu pasu, protože za rozvoj komplikací je zodpovědná především abdominální=centrální obezita. Dle Mezinárodní diabetologické federace (Alberti et al., 2005) je centrální obezita definována obvodem pasu u mužů nad 94 cm a u žen nad 80 cm. Jedná se o definici pro Evropany a měří se jako obvod pasu uprostřed vzdálenosti mezi horní hranou lopaty kyčelní a posledním žebrem. Celosvětová prevalence obezity zhodnocená na základě BMI je 13 %, v Severní Americe dokonce až 36 % (Ravaut et al., 2020). Mezi komplikace obezity patří kardiovaskulární choroby, arteriální hypertenze, metabolický syndrom spolu s diabetes mellitus 2. typu a dyslipidemií, onkologická onemocnění, nealkoholová steatóza jater a steatohepatitida atd. Obezita je výsledkem pozitivní energetické bilance organismu. Pacienti s obezitou mají špatné stravovací návyky (přijímají vyšší množství sacharidů a tuků), nepravidelnost v životosprávě a nedostatek pohybu.

Mastné kyseliny (MK) hrají důležitou úlohu v rozvoji samotné obezity i jejích komplikací. U obézních jedinců je množství MK ovlivněno nejen na základě exogenního příjmu ve stravě těchto lidí, ale i vlivem změněných metabolických pochodů a regulací v souvislosti s inzulinovou resistencí a zánětlivým stavem.

Obezita se vyznačuje excesivní akumulací tuku v adipocytech. Predilekčním místem jsou adipocyty viscerálního tuku. Následné patofyziologické reakce vedou k rozvoji inzulinorezistence a chronického zánětlivého stavu v mnoha tkáních mezi které patří tuková tkáň, svaly, játra, ledviny, hypothalamus atd. U obézních pacientů dochází ke zvýšení markerů zánětu (TNF- α , CRP, interleukin-6 atd.) (Zhou et al., 2020). Vlivem zvýšené kumulace lipidů ve viscerální bílé tukové tkáni dochází k ektopickému ukládání lipidů v dalších orgánech (játra, svaly, pankreas) a rozvíjí se jaterní steatóza, lipomatóza pankreatu atd. Přesycené adipocyty uvolňují volné mastné kyseliny pomocí translokáz mastných kyselin (označované jako FAT, CD36) a volné MK jsou v krevní plazmě navázány a transportovány prostřednictvím fatty acid binding proteinu (FABP) a fatty acid transport proteinu (FATP). Akumulace MK s dlouhými řetězci v netukové tkáni vede ke vzniku lipotoxických molekul, mezi které patří ceramidy a cholesterolestery (Unger, 2002), které prostřednictvím iniciace stresu endoplasmatického retikula navozují rozvoj inflamatorní reakce (Van Herpen a Schrauwen-Hinderling, 2008). Pro rozvoj obezity je důležité i složení lipidů přítomné v buněčné membráně. Na základě prospektivních studií biomembrán erytrocytů bylo prokázáno, že zvýšené množství omega-3 PUFA ve fosfolipidech buněčné membrány mělo protektivní vliv před vznikem a rozvojem obezity, naopak zvýšené množství omega-6 PUFA, transnenasycených MK a zvýšený poměr omega-6 vůči omega-3 PUFA mělo vliv negativní (Wang et al., 2015). Za rozvojem obezity stojí i genetické faktory. Celogenomové studie prokázaly kolem 90 lokusů, obsahující genetické variace ovlivňující rozvoj obezity. Mnoho těchto variant se nachází v intronech genů. Nejsilnější vazbou pro vznik polygenní obezity se ukázal SNP polymorfismus (single nucleotide polymorphism) v intronu 1 a 2 genu zvaného FTO (fat mass and obesity associated) (Simopoulos, 2016). Tyto polymorfismy ovlivňují energetický metabolismus mitochondrií a intraadipocytární akumulaci triacylglycerolů (TAG). Dalšími geny, které silně ovlivňují vznik obezity ve vztahu k lipidům patří IRX3 (iroquois homeobox 3) a IRX5 (iroquois homeobox 5), které stimulují přeměnu adipocytů v bílou tukovou tkáň.

Jednotlivé mastné kyseliny

Volné mastné kyseliny

U obézních pacientů nacházíme zvýšené množství neesterifikovaných (volných) mastných kyselin v krevní plazmě (Arner a Rydén, 2015). Neesterifikované MK jsou důležitým patofyziologickým pojítkem obezity s inzulinovou resistencí a diabetem mellitus 2. typu. Zdrojem volných MK je především lipolýza v adipocytech bílé tukové tkáně, při které vznikají glycerol a mastné kyseliny. Mezi oběma pohlavími existuje rozdíl v plazmatické hladině MK. Hladina volných plasmatických MK je vyšší u žen, protože ženy mají vyšší podíl tukové tkáně. Nicméně vliv obezity jako takové na jejich množství je u obou pohlaví stejný (Arner a Rydén, 2015). Zvýšené množství volných MK vede ke snížení inzulinové senzitivity a inhibici produkce a uvolňování inzulinu z beta-buněk pankreatu, což podporuje rozvoj diabetu mellitus 2. typu (Arner, 2001). Bylo prokázáno, že snížení lipolýzy v bílé tukové tkáni vede k lepšímu vychytávání glukózy a zlepšení glukózové senzitivity (Girousse, 2013). Pozitivní efekt na glukózovou senzitivitu uplatňují prostřednictvím inhibice lipolýzy i perorální antidiabetika metformin a thiazolidindion (Bourron et al., 2010). U pacientů s mutací genu pro hormon senzitivní lipázy, která vede ke vzniku afunkčního enzymu, dochází ke vzniku inzulinové rezistence, diabetu mellitus 2. typu a ektopickému ukládání tuku (Albert, 2014). Na hladinu volných mastných kyselin mají nepochybně vliv i jiné aspekty jako jsou velikost a počet adipocytů, jejich endokrinní aktivita atd. Dalším markerem zvýšené lipolýzy u obézních osob je zvýšená plazmatická hladina glycerolu.

Nasyčené mastné kyseliny

Nasyčené mastné kyseliny (saturated fatty acids, SFA), které přijímáme v jídle, mají většinou nepříznivé zdravotní účinky. SFA hrají negativní roli v rozvoji obezity, chronického zánětlivého stavu a podílí se na rozvoji metabolického syndromu a jeho komplikací (Calder et al., 2011). V mnoha humánních studiích byla popsána spojitost mezi tzv. „západní“ dietou s nadměrným množstvím SFA a metabolickým syndromem, obezitou, jaterní steatózou a diabetem mellitus 2. typu (např. Vaitinen et al., 2017). Zvýšené množství potravy přijímaných SFA indukuje zánětlivou odpověď v tukové podkožní tkáni, ve které jsou zvýšeně exprimovány proinflatorní cytokiny (Rocha et al., 2017). Nasyčené MK mají vliv i na hromadění nadměrného množství triacylglycerolů (TAG) v buněčném poolu adipocytů. Excesivní množství TAG v adipocytech má další konsekvence jako je zvýšená sekrece leptinu a cytokinů IL-6, TNF- α , IL-1 β atd. Spouští se tak chronický zánětlivý stav vedoucí k vaskulárnímu poškození a rozvoji ischemické srdeční nemoci (Lundman et al., 2007).

Mononenasyčené mastné kyseliny

Oproti nasyceným mastným kyselinám hrají nenasycené mastné kyseliny, obsahující v uhlíkovém řetězci jednu nebo více dvojných vazeb, především kardioprotektivní roli. Významnou skupinu představují mononenasyčené mastné kyseliny (monounsaturated fatty acids, MUFA) s jednou dvojnou vazbou v uhlíkovém řetězci. Zdrojem MUFA v organismu je především exogenní příjem ve stravě. Bohatým zdrojem MUFA je tzv. středomořská dieta, která zahrnuje ryby, olivový olej, zeleninu, celozrnné potraviny (MUFA představují až 60 % kalorického obsahu). Zvýšené množství v dietě přijímaných MUFA redukuje množství SFA i PUFA v organismu a je tak zajímavým příkladem vlivu nutriční modulace na obsah tuku v těle (Ravaut et al., 2021). Je velmi pravděpodobné, že MUFA mají inhibiční vliv na rozvoj zánětlivé reakce organismu a konzumace středomořské diety vede ke snížení krevního tlaku a zlepšení parametrů glukózového i lipidového metabolismu (Esposito et al., 2017). Zvýšený

příjem olivového oleje s obsahem MUFA v lidské stravě vede ke snížení výskytu obezity a metabolického syndromu a ve svém důsledku vede ke snížení mortality (Widmer et al., 2015). Dalším možným mechanismem kardiovaskulární protektivity středomořské diety může být i ovlivnění střevního mikrobiomu. U chorobných stavů jako jsou např. nádory dochází ke zvýšení množství endogenně produkovaných MUFA vznikajících akcelerovanou syntézou MK *de novo* a desaturací vlivem zvýšené aktivity SCD-1. Následné zvýšení poměru MUFA/SFA u patologických stavů představuje marker zhoršení zánětlivé reakce. Role MUFA není tedy jednoznačná.

Vícenenasycené mastné kyseliny

Vícenenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids, PUFA) obsahují dvě a více dvojných vazeb. Fyziologicky a patofyziologicky jsou důležité dvě řady PUFA omega-3 a omega-6. Obě řady PUFA hrají důležitou roli v u obézních pacientů. Výchozí zástupci obou řad PUFA s osmnácti uhlíky v řetězci, kyselina linolová kyselina (LA) pro řadu omega-6 PUFA a kyselina alfa-linolenová (ALA) pro řadu omega-3 PUFA, jsou esenciálními MK pro lidské buňky. Tyto je totiž nedokáží syntetizovat a musí je přijímat exogenní cestou. Metabolismus exogenně přijatých výchozích PUFA, zahrnující desaturační a elongační reakce, nemá dostatečnou kapacitu k vytvoření dostatečného množství PUFA s dlouhým řetězcem (C 20, C22). Na základě tohoto faktu je tedy zřejmé, že je nezbytný i exogenní příjem PUFA s dlouhým řetězcem potravou.

Z fyziologického hlediska je žádoucí, aby poměr množství potravou přijímaných PUFA omega-6/omega-3 byl 1:1, protože to takto bylo nastaveno během evoluce člověka (Simopoulos, 2001). Téměř celou evoluční historii našeho druhu přijímal člověk v potravě vyšší množství omega-3 PUFA (ryby, ořechy, maso divoce žijících zvířat, rostliny atd.) a tudíž poměr omega-6 a omega-3 PUFA byl u paleolitických lidí 0,79. V posledních cca 150 letech se skladba potravy dramaticky změnila v neprospěch množství přijímaných omega-3 PUFA. Moderní strava, především západní dieta, založená na mase chovaných zvířat a na uměle pěstovaných rostlinách obsahuje nízké množství omega-3 PUFA, což je v literatuře již dlouhou dobu popisovaný poznatek (Raper et al., 1992). V tzv. západní dietě euroatlantického regionu je v současnosti tento poměr 20-15:1 ve prospěch kardiovaskulárně nepříznivě působících zástupců omega-6 PUFA (Simopoulos, 2008, 2016). Omega-6 PUFA kompetují s omega-3 PUFA o desaturázy a ačkoliv desaturázy MK (fatty acid desaturase-FADS1, FADS2) mají vyšší afinitu k ALA než k LA, tak při nadbytečném množství linolové kyseliny je upřednostněna její přeměna na arachidonovou kyselinu (AA, 20:4 ω 6) na úkor přeměny alfa-linolenové kyseliny na kyseliny eikosapentaenovou (EPA, 20:5 ω 3) a dokosahexaenovou (22:6 ω 3). S desaturačními a elongačními enzymy navíc interferují i transmastné kyseliny (Simopoulos, 2016). Přeměnou arachidonové kyseliny vznikají proinflatorně a protromboticky působící eikosanoidy (prostaglandin PGE2, leukotrien LTB4, thromboxany, hydroxy MK). Naopak z eikosapentaenové a dokosahexanové kyseliny vznikají kardioprotektivně působící eikosanoidy (prostaglandin PGE3 a leukotrien LTB5), avšak vzhledem k nepříznivému poměru ve stravě jsou syntetizovány v menším množství. Tento nepoměr pak hraje nepříznivou roli v rozvoji obezity a jejích komplikací (Kromhout et al., 2014). Pro vznik obezity a rozvoj jejích komplikací je zajímavá role desaturáz (FADS) a elongáz. Aktivita těchto enzymů může být ovlivněna působením mastných kyselin a genetickými faktory. Při genotypizaci FADS v evropské populaci byly zjištěny dva haplotypy pojmenované A a D. Haplotyp D je častější (především v africké populaci) a je spojen se zvýšenou hladinou krevních lipidů, kdežto méně častý haplotyp A je asociován s nižší hladinou krevních lipidů. Haplotyp D navíc zajišťuje vyšší účinnost vzniku MK s dlouhým řetězcem (Simopoulos, 2016). Tento haplotyp u lidí z africké populace (afroameričané)

konzumujících západní dietu s vyšším poměrem omega-6 vůči omega-3 PUFA vede k syntéze nepříznivě působící AA a je tedy rizikovým faktorem pro metabolický syndrom, obezitu, diabetes mellitus 2. typu a ischemickou chorobu srdeční (Sergeant et al., 2012). Aktivita FADS je nepříznivě ovlivněna i dalšími faktory jako jsou rostoucí věk (s vyšším věkem se snižuje) a přítomností hypertenze či diabetes. U těchto skupin je snížena schopnost přeměny ALA na protektivní EPA a DHA.

Ve světle zásadních změn ve stravě lidí žijících především v euroatlantickém prostoru proběhly nutriční studie prokazující, že nepříznivý poměr přijímaných omega-6 a omega-3 PUFA se může podílet na rozvoji současné epidemie obezity (Birch et al., 2002). Intervenční studie s omega-3 PUFA při léčbě obézních však neměly jednoznačné výsledky (Hill et al., 2007, Simopoulos, 2015). Rozporuplné výsledky mohou být zapříčiněny nejednotným designem těchto studií, nejednotným dávkováním množství PUFA, nebráním zřetele na příjem omega-6 a omega-3 v běžné stravě studovaných objektů, různá délka suplementace PUFA atd. (Simopoulos, 2016).

Obecně mají obě třídy PUFA významný účinek na tukovou tkáň, protože ovlivňují řadu procesů odehrávajících se v adipocytech jako jsou adipogeneze, zánětlivá odpověď, množství lipidů, ovlivňují také osu mozek-střevo-tuková tkáň (Simopoulos, 2016). Většina účinků omega-6 a omega-3 PUFA je protichůdných. Metabolity zástupce omega-6 PUFA kyseliny arachidonové ovlivňují nepříznivou diferenciaci preadipocytů na terminální adipocyty, kdežto omega-3 PUFA tento proces inhibují. Omega-6 PUFA zvyšují intraadipocytární obsah triacylglycerolů zvýšením permeability membrány. Omega-3 PUFA obsah TAG snižují stimulací beta-oxidace a inhibicí lipogenních enzymů. Jejich protichůdné účinky působí i v rámci aktivace osy mozek-střevo-tuková tkáň či v rámci rozvoje zánětlivé odpovědi, což v konečném důsledku opět moduluje diferenciaci preadipocytů a růst tukové tkáně.

Na studiích s laboratorními zvířaty se ukázalo, že pokud jsou březí samičky myši krmeny západní dietou s vyšším obsahem omega-6 PUFA, tak dochází k nárůstu tukové hmoty u všech narozených myší (Massiera et al., 2010). V humánních studiích byl také prokázán negativní vliv na adipozitu potomků při zvýšeném příjmu omega-6 PUFA ženami v perinatálním období. U narozených dětí je prokázána asociace množství AA s BMI a s nadváhou (Simopoulos, 2016). Negativní vliv AA může být zprostředkován i účinkem na hypothalamus, respektive na sekreci a tkáňovou resistenci leptinu, jak ukázaly studie na myších. Tímto mechanismem omega-6 PUFA přispívají ke vzniku leptinové resistance, obezity a diabetes mellitus 2. typu. Na druhou stranu humánní i zvířecí studie prokázaly protektivní účinky EPA a DHA před rozvojem obezity a proti nárůstu váhy (Buckley a Howe, 2009). Při suplementaci PUFA řady omega-3 došlo k redukci škodlivého viscerálního tuku. Bylo pozorováno zmenšení velikosti adipocytů i pokles jejich počtu. Suplementace omega-3 PUFA má vliv i na apetit, po jejich podávání se lidé cítili méně hladoví. Některé intervenční studie prokázaly, že při suplementaci omega-3 PUFA došlo k redukci tělesné váhy nejen u štíhlých, ale i u obézních jedinců či těch s nadváhou. Na metabolické úrovni se vliv omega-3 PUFA uplatňuje stimulací oxidace lipidů, beta-oxidace, a to více u mužů než u žen (Couet et al., 1997, Simopoulos, 2016). Z mechanismů významně ovlivňujících vznik nadváhy a obezity patří i rozsah diferenciaci adipocytů buď v bílou či hnědou tukovou tkáň. Hnědá tuková tkáň totiž spaluje velká množství energie procesem thermogeneze a snižuje množství intracelulárních triacylglycerolů, které naopak bílá tuková tkáň akumuluje. V tomto případě mají omega-3 PUFA pozitivní vliv a omega-6 PUFA negativní vliv na formování hnědé tukové tkáně. Konkrétně AA přímo inhibuje expresi genu pro mitochondriální uncoupling protein hnědé tukové tkáně (UCP) (Simopoulos, 2016).

V neposlední řadě poměr omega-6 a omega-3 PUFA ovlivňuje i endokannabinoidový systém. Endokannabinoidy jsou molekuly lipidů, jejichž prekurzorem je arachidonová kyselina, a mezi které patří 2-arachidonoylglycerol (2-AG) a anandamid (AEA). Endokannabinoidový

systém ovlivňuje působením přes receptory CB1 a CB2, které se nachází v mozku, játrech, GIT a tukové tkáni, chuť k jídlu, energetickou bilanci a jeho hyperaktivita vede k rozvoji obezity (Artmann et al., 2008). Aktivace CB1 receptorů v hypothalamu zvyšuje chuť k jídlu a příjem stravy. U zvířecích modelů bylo prokázáno, že stimuluje sladkou chuťovou modalitu a přispívá tak ke zvýšení příjmu potravy (Yoshida et al., 2010).

Závěr

Obezita je pandemií 21. století a vede k mnoha zdravotním komplikacím především v kardiovaskulárním systému. Na jejím rozvoji se podílí řada faktorů. Mezi důležité metabolické faktory patří i jednotlivé třídy mastných kyselin. Na patofyziologických reakcích rozvoje obezity a jejích komplikací se podílí exogenně přijaté i endogenně syntetizované mastné kyseliny. V neposlední řadě je důležitý i poměr jednotlivých tříd mastných kyselin vůči sobě.

Práce byla podpořena výzkumnými projekty RVO VFN64165/2012 a PROGRES Q25

Literatura

Albert JS., Yerges-Armstrong LM., Horenstein RB., et al. Null mutation in hormone-sensitive lipase gene and risk of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2014; 370(24): 2307-2315.

Alberti KG., Zimmet PZ., Shaw J. The metabolic syndrome – a new worldwide definition. *Lancet* 2005; 366(9491): 1059-1062.

Arner P., Rydén M. Fatty Acids, Obesity and Insulin Resistance. *Obes Facts* 2015; 8(2): 147-155.

Arner P. Free fatty acids – do they play a central role in type 2 diabetes? *Diabetes Obes Metab* 2001; 3(suppl 1): S11–19.

Artmann A., Petersen G., Hellgren L., et al. Influence of dietary fatty acids on endocannabinoid and N-acyl ethanolamine levels in rat brain, liver and small intestine. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1781(4): 200-212.

Birch EE., Hoffman DR., Castañeda YS., et al. A randomized controlled trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of formula in term infants after weaning at 6 wk of age. *Am J Clin Nutr* 2002; 75(3): 570-580.

Bourron O., Daval M., Hainault I., et al. Biguanides and thiazolidinediones inhibit stimulated lipolysis in human adipocytes through activation of amp-activated protein kinase. *Diabetologia* 2010; 53(4): 768-778.

Buckley JD., Howe PR. Anti-obesity effects of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Obes Rev* 2009; 10(6): 648-659.

Calder PC., Ahluwalia N., Brouns F., et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr* 2011; 106(Suppl 3): S5-S78.

Couet C., Delarue J., Ritz P., et al. Effect of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxidation in healthy adults. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21(8): 637-643.

Esposito K., Maiorino MI., Bellastella G., et al. Mediterranean diet for type 2 diabetes: Cardiometabolic benefits. *Endocrine* 2017; 56(1): 27-32.

Girousse A., Tavernier G., Valle C., et al. Partial inhibition of adipose tissue lipolysis improves glucose metabolism and insulin sensitivity without alteration of fat mass. *PLoS Biol* 2013; 11(2): e1001485.

- Hill AM., Buckley JD., Murphy KJ., Howe PR.** Combining fish-oil supplements with regular aerobic exercise improves body composition and cardiovascular disease risk factors. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(5): 1267-1274.
- Lundman P., Boquist S., Samnegard A., et al.** A high-fat meal is accompanied by increased plasma interleukin-6 concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17(3): 195-202.
- Kromhout D., de Goede J.** Update on cardiometabolic health effects of omega-3 fatty acids. *Curr Opin Lipidol* 2014; 25(1): 85-90.
- Massiera F., Barbry P., Guesnet P., et al.** A Western-like fat diet is sufficient to induce a gradual enhancement in fat mass over generations. *J Lipid Res* 2010; 51(8): 2352-2561.
- Raper NR., Cronin FJ., Exler J.** omega-3 fatty acid content of the US food supply. *J Am Coll Nutr* 1992; 11(3): 304-308.
- Ravaut G., Légiot A., Bergeron K-F., Mounier C.** Monounsaturated Fatty Acids in Obesity-Related Inflammation. *Int J Mol Sci* 2020; 22(1): 330.
- Rocha DM., Bressan J., Hermsdorff HH.** The role of dietary fatty acid intake in inflammatory gene expression: A critical review. *Sao Paulo Med J* 2017; 135(2): 157-168.
- Sergeant S., Hugenschmidt CE., Rudock ME., et al.** Differences in arachidonic acid levels and fatty acid desaturase (FADS) gene variants in African Americans and European Americans with diabetes or the metabolic syndrome. *Br J Nutr* 2012; 107(4): 547-555.
- Simopoulos AP.** Evolutionary aspects of diet and essential fatty acids. In: *Fatty Acids and Lipids - New Findings*. Hamazaki T., Okuyama H. Eds. Basel: Karger 2001; 88: 18-27.
- Simopoulos AP.** The importance of the omega-6/omega-3 Fatty Acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med* 2008; 233(6): 674-688.
- Simopoulos AP.** The Impact of the Bellagio Report on Healthy Agriculture, Healthy Nutrition, Healthy People: Scientific and Policy Aspects and the International Network of Centers for Genetics, Nutrition and Fitness for Health. *J Nutrigenet Nutrigenomic* 2015; 7(4-6): 189-209.
- Simopoulos AP.** An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients* 2016; 8(3): 128.
- Unger RH.** Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med* 2002; 53: 319-336.
- Vaittinen M., Mannisto V., Kakela P., et al.** Interorgan cross talk between fatty acid metabolism, tissue inflammation, and FADS2 genotype in humans with obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2017; 25(3): 545-552.
- Van Herpen NA., Schrauwen-Hinderling VB.** Lipid accumulation in non-adipose tissue and lipotoxicity. *Physiol Behav* 2008; 94(2): 231-241.
- Wang L., Manson JE., Rautiainen S., et al.** A prospective study of erythrocyte polyunsaturated fatty acid, weight gain, and risk of becoming overweight or obese in middle-aged and older women. *Eur J Nutr* 2015; 55(2): 687-697.
- Widmer RJ., Flammer AJ., Lerman LO. Lerman A.** The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *Am J Med* 2015; 128(3): 229-238.
- Yoshida R., Ohkuri T., Jyotaki M., et al.** Endocannabinoids selectively enhance sweet taste. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(2): 935-939.
- Zhou H., Urso CJ., Jadeja V.** Saturated Fatty Acids in Obesity-Associated Inflammation. *J Inflamm Res* 2020; 13: 1-14.

POLYMORFISMY V GENU FADS1 A SLOŽENÍ MASTNÝCH KYSELIN U ADOLESCENTŮ

FADS1 GENE POLYMORPHISM(S) AND FATTY ACID COMPOSITION OF SERUM LIPIDS IN ADOLESCENTS

T. Metelcová¹, M. Vaňková¹, H. Zamrazilová¹, M. Hovhannisyan¹, B. Staňková², E. Tvrzická², M. Hill¹, V. Hainer¹, J. Včelák¹, M. Kunešová

¹Endokrinologický ústav Praha, ²IV. interní klinika 1. LF UK a VFN Praha

Abstrakt

Polynenasycené mastné kyseliny se podílejí na regulaci fyziologických pochodů v těle. V předchozích studiích byla nalezena asociace mezi SNPs v genu *FADS1* a složením MK v těle. V našem projektu jsme sledovali vztah mezi SNPs (rs174546, rs174537) a složením MK u českých adolescentů.

K analýze jsme využili soubor z projektu COPAT (Childhood Obesity Prevalence And Treatment). Z této skupiny jsme genotypizovali 670 adolescentů (336 dívek a 334 chlapců). DNA byla izolována z krevního vzorku. U subjektů bylo zjištěno složení MK pomocí plynové chromatografie. Ke statistickému zpracování byla použita regrese.

V našem souboru byla zjištěna asociace mezi polymorfismy a složením MK. Nosiči minoritní alely T měli v obou SNPs nižší hladinu kyseliny arachidonové 20:4(n-6) a palmitové 16:0. U dívek jsme našli také asociaci s kyselinou eikosadienovou 20:2(n-6). Vztah minoritní alely T a dihomog- γ -linolenové kyseliny 20:3(n-6) byl zjištěn u chlapců. Vliv SNPs na hladiny metabolických faktorů nebyl nalezen.

Nosiči minoritní alely měli nižší hladiny kyseliny arachidonové a palmitové. Další asociace mezi složením mastných kyselin v séru a polymorfismy jsme našli u jen u chlapců nebo dívek. Naše výsledky poukazují na to, že SNPs v genu *FADS1* ovlivňují aktivitu desaturázy, která se účastní syntézy polynenasycených MK.

Abstract

An association has been identified between single nucleotide polymorphisms (SNP) in the *FADS1* (Fatty acid desaturase 1) gene and the percentage of PUFA in serum lipids. The relationship between 2 SNPs in the *FADS1* gene (rs174546, rs174537) and the fatty acid composition of serum lipids in adolescents was examined.

We used DNA samples (670 children; 336 girls and 334 boys) from the Childhood Obesity Prevalence And Treatment (COPAT) project. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes in whole blood samples. For genotype analysis, TaqMan SNP Genotyping assays (Applied Biosystems) was used. Fatty acid composition in the serum lipids was assessed using gas chromatography. Regression was used for statistical evaluation.

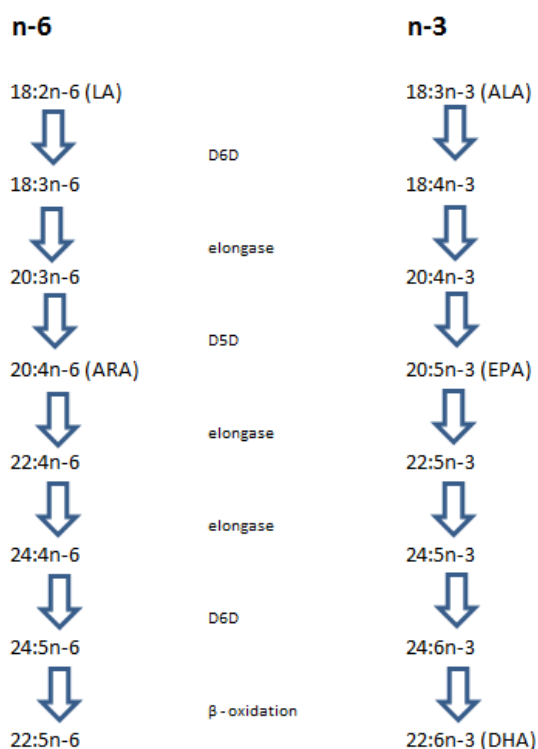
In both polymorphisms, minor allele T carrier had a significantly negative association with arachidonic acid and palmitic acid in both sexes. In girls, minor allele T carriers had positive association with eicosadienoic acid. We found positive relationship between allele T carriers and dihomog- γ -linolenic acid in boys. These results imply that these SNP in the *FADS* gene cluster influence the desaturase activity.

Úvod

Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA = polyunsaturated fatty acid) ovlivňují řadu funkcí v lidském těle. Nedílnou součástí syntézy PUFA je enzym desaturáza (obrázek 1), který se podílí na tvorbě dvojné vazby na uhlíkatý řetězec (Smink *et al.*, 2012). Delta 5 desaturáza (D5D) je kódována genem *FADS1*, jež je lokalizovaný na chromozomu 11 v pozici 11q12-13.1 [URL1]. Jednonucleotidový polymorfismus (SNP = single nucleotide polymorphism) v genu *FADS1* může ovlivnit účinnost syntézy PUFA. Polynenasycené mastné kyseliny jsou asociovány s kardiovaskulárním, nervovým a imunitním systémem (Glaser *et al.*, 2010) a mimo jiné ovlivňují zánětlivou reakci (Klingel *et al.*, 2019). Mnohé studie prezentovaly vztah mezi SNPs v genu *FADS1* a složením mastných kyselin (Schaeffer *et al.*, 2006, Wang *et al.*, 2015). Například Wolters *et al.* (2017) pospal u nosičů minoritní alely T v SNP rs174546 nižší aktivitu D5D, čímž se pravděpodobně snížila hladina kyseliny arachidonové (20:4n-6). Nižší hladina kyseliny arachidonové může nepřímo vést k ovlivnění krevního tlaku a hmotnosti jednice (Wolters *et al.*, 2017). Nosiči minoritní alely T v SNP s genu *FADS1* mají taktéž nižší hladiny kyseliny eikosapentaenové (20:5n-3) (Tanaka *et al.*, 2009).

Cílem této studie je vztah mezi SNPs (rs174546, rs174537) v genu *FADS1* a složením mastných kyselin u českých adolescentů. Výjimečnost naší studie tkví v relativně nízkém věku zapojených subjektů. Valná většina výzkumů zabývajících se vztahem genu *FADS1* a složením mastných kyselin je zkoumána na dospělých jedincích.

Obrázek 1: syntéza PUFA



Na obrázku je zjednodušeně popsána syntéza omega 3 a omega 6 polyenových mastných kyselin. Během syntézy se uplatňují enzymy elongáza a desaturáza, které jsou nezbytné pro prodloužení uhlíkatého řetězce a vytvoření dvojné vazby na tomto řetězci.

Soubor a metody

Do studie bylo zapojeno 754 českých adolescentů (376 dívek a 378 chlapců) z projektu COPAT (Childhood Obesity Prevalence And Treatment). Ze vzorků krve byla izolována DNA a následně provedena genotypizace za použití real-time PCR (Roche, Basel, Switzerland). Genotypizace byla provedena pro dva polymorfismy v genu *FADS1* (rs174546 a rs174537). Zkoumaný vzorek byl rozdělen podle přítomnosti minoritní alely T na dvě skupiny, nosiče (minoritní homozygoti a heterozygoti) a nenosiče (majoritní homozygoti) u každého polymorfismu (rs174546: skupina TT/CT a CC; rs174537: skupina TT/GT a GG). U těchto 754 subjektů bylo také stanoveno složení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie. Zjišťovala se molární procenta u 22 mastných kyselin ve třech lipidových třídách (PL = fosfolipidy, CE = estery cholesterolu, TG = triglyceridy). U zkoumané skupiny bylo provedeno antropometrické měření a stanovení metabolických parametrů, jejich hodnoty byly ve fyziologické normě. Subjekty také vyplnily několik dotazníků a třídní jídelníček. Do statistické analýzy byli zahrnuti pouze ti jedinci, u nichž byl vyplněn třídní jídelníček. Jednalo se o 670 subjektů (336 dívek a 334 chlapců). Ve statistické analýze jsme hodnotili asociaci mezi nosiči minoritní alely a složením mastných kyselin. K zjištění tohoto vztahu byla použita regrese s adjustací na věk a příjem tuku v gramech. Analýza se dělala zvlášť pro jednotlivé polymorfismy a pohlaví.

Výsledky

V tabulce 1 je vidět, že frekvence genotypů v naší kohortě se shodovala s procentuálním zastoupením v Evropské populaci [URL2, URL3]. Pro určení vztahu mezi SNPs byla vypočítána v Haploview 5.0 vazebná nerovnováha, která u těchto dvou polymorfismů činila 98 %. Polymorfismy byly signifikantně asociovány s procentuálním zastoupením mastných kyselin ve dvou lipidových třídách (fosfolipidech a esterech cholesterolu). U obou SNPs (rs174546, rs174537) jsme našli signifikantní inverzní vztah minoritní alely T s kyselinou palmitovou (PL 16:0; $p < 0.0001$) a kyselinou arachidonovou (PL 20:4n-6; $p < 0.0001$). Tento vztah byl nalezen jak u dívek, tak i u chlapců. Alela T obou SNPs byla u dívek pozitivně asociována s kyselinou eikosadienovou (PL 20:2n-6, $p = 0.0015$). U chlapců byl zjištěn signifikantní pozitivní vztah mezi minoritní alelou T sledovaných polymorfismů a kyselinou dihomogamma-linolenovou (CE 20:3n-6; $p < 0.0001$). Další signifikantní vztahy byly nalezeny jen u jednoho polymorfismu a pohlaví. S dalšími faktory (systolický a diastolický krevní tlak, hladina glukózy v krvi nalačno, hladina triglyceridů a obvod pasu) nebyla nalezen signifikantní asociace.

Tabulka 1 Frekvence genotypů v naší kohortě a u Evropské populace u SNPs rs174546 a rs174537

		TT	CT/GT	CC/GG
Zkoumaný soubor	rs174546	11.04 %	42.84 %	46.12 %
	rs174537	11.49 %	41.94 %	46.57 %
Evropská populace	rs174546	10.57 %	43.89 %	45.54 %
	rs174537	11.17 %	44.50 %	44.34 %

Tabulka 2 Vztah mezi nosičem minoritní alely T pro rs174546 a % mastných kyselin v séru s adjustací na věk a příjem tuku (v gramech) u dívek analyzovaný pomocí zpětné postupné regrese

Parametr	Regresní koeficient (SE)	T-statistika	P-value	Síla testu ($\alpha = 0.05$)
CONSTANT	-4160 (598)	-6.95	<0.0001*	1.0000
age (years)	-38.5 (27.5)	-1.4	0.1618	0.2944
Dietary fat (g)	-2.74 (6.07)	-0.451	0.652	0.0522
CE_20:0	-6.73 (2.95)	-2.28	0.0234	0.6345
CE_18:1t	13.4 (5.19)	2.59	0.01	0.7253
CE_18:1(n-7c)	1.24 (0.522)	2.37	0.0185	0.6484
CE_18:1(n-9c)	38.1 (13.1)	2.91	0.0039	0.8324
CE_18:2(n-6)	5.39 (2.53)	2.13	0.0336	0.5575
CE_20:2(n-6)	9.67 (3.01)	3.21	0.0015*	0.8924
CE_22:4(n-6)	-14.1 (5.37)	-2.62	0.0091	0.7302
PL_12:0	-47.4 (22.7)	-2.09	0.0375	0.5623
PL_16:0	-3480 (472)	-7.37	<0.0001*	1.0000
PL_18:0	-95.1 (21.2)	-4.49	<0.0001*	0.9949
PL_14:1(n-5)	49.7 (14.6)	3.41	0.0007*	0.9306
PL_16:1(n-7c)	105 (52)	2.02	0.0441	0.5250
PL_18:1t	-15.6 (6.35)	-2.45	0.0149	0.6717
PL_18:1(n-9c)	-685 (122)	-5.6	<0.0001*	0.9999
PL_18:2(n-6)	-41.8 (14.4)	-2.89	0.0041	0.8249
PL_18:3(n-6)	-20.6 (9.37)	-2.2	0.0289	0.5741
PL_20:4(n-6)	-87.1 (11.1)	-7.85	<0.0001*	1.0000
PL_20:5(n-3)	-126 (47.5)	-2.66	0.0083	0.7517
TG_12:0	35.8 (15.2)	2.35	0.0194	0.6577
TG_14:0	-17.4 (8.63)	-2.02	0.0446	0.5558
TG_20:0	0.359 (0.177)	2.02	0.0439	0.5442
TG_16:1(n-9)	9.16 (4.15)	2.2	0.0282	0.6074
TG_20:1(n-9)	-8.83 (4.4)	-2.01	0.0456	0.5201
TG_18:2(n-6)	-125 (29.4)	-4.25	<0.0001*	0.9891
TG_18:3(n-6)	-115 (37.6)	-3.07	0.0023	0.8738
TG_20:5(n-3)	-64.5 (22.6)	-2.86	0.0046	0.8134
TG_22:5(n-3)	16.2 (3.59)	4.52	<0.0001*	0.9949

$R = 0.663$, $n = 336$, $p < 0.0001$. Jako adjustace byly do finálního modelu přidány věk a příjem lipidů v gramech. Po Bonferroniho korekci byla hodnota statistické významnosti $p < 0.0017$ (označeno hvězdičkou).

Tabulka 3 Vztah mezi nosičem minoritní alely T pro rs174546 a % mastných kyselin v séru s adjustací na věk a příjem tuku (v gramech) u chlapců analyzovaný pomocí zpětné postupné regrese

Parametr	Regresní koeficient (SE)	T-statistika	P-value	Síla testu ($\alpha = 0.05$)
CONSTANT	-1460 (271)	-5.4	<0.0001*	0.9996
age (years)	40.6 (27.8)	1.46	0.1449	0.3254
Dietary fat (g)	7.63 (5.88)	1.3	0.1951	0.1315
CE_16:0	-25.6 (12.5)	-2.04	0.0422	0.5081
CE_18:3(n-6)	-12.1 (4.11)	-2.94	0.0035	0.8266
PL_16:0	-1320 (264)	-4.98	<0.0001*	0.9981
PL_18:1t	-12.4 (5.53)	-2.24	0.0259	0.5833
PL_20:2(n-6)	2.37 (0.957)	2.47	0.0139	0.6777
PL_20:3(n-6)	161 (36.8)	4.37	<0.0001*	0.9912
PL_20:4(n-6)	-42.6 (6.39)	-6.67	<0.0001*	1.0000
PL_20:5(n-3)	-107 (38.9)	-2.75	0.0063	0.7861
PL_22:5(n-3)	-10.5 (4.22)	-2.5	0.013	0.6733
TG_18:0	-6.83 (2.95)	-2.31	0.0213	0.6123
TG_18:1(n-7c)	103 (32.3)	3.18	0.0016*	0.8669
TG_18:1(n-9c)	-6.59 (3.21)	-2.05	0.0411	0.5139
TG_18:3(n-6)	-173 (31)	-5.6	<0.0001*	0.9998

$R = 0.64$, $n = 334$, $p < 0.0001$. Jako adjustace byly do finálního modelu přidány věk a příjem lipidů v gramech. Po Bonferroniho korekci byla hodnota statistické významnosti $p < 0.0033$ (označeno hvězdičkou).

Tabulka 4 Vztah mezi nosičem minoritní alely T pro rs174537 a % mastných kyselin v séru s adjustací na věk a příjem tuku (v gramech) u dívek analyzovaný pomocí zpětné postupné regrese

Parametr	Regresní koeficient (SE)	T-statistika	P-value	Síla testu ($\alpha = 0.05$)
CONSTANT	-1370 (235)	-5.83	<0.0001*	0.9999
age (years)	-36.2 (27.6)	-1.31	0.1904	0.3333
Dietary fat (g)	-5.03 (6.15)	-0.819	0.4136	0.0627
CE_20:2(n-6)	11.8 (2.51)	4.72	<0.0001*	0.9695
CE_22:4(n-6)	-11.3 (4.5)	-2.5	0.0128	0.5155
PL_16:0	-1590 (233)	-6.85	<0.0001*	1.0000
PL_14:1(n-5)	29.4 (13.3)	2.22	0.0272	0.6145
PL_18:1t	-16.8 (5.77)	-2.91	0.0039*	0.7287
PL_18:3(n-6)	-28.3 (7.28)	-3.89	0.0001*	0.6310
PL_20:4(n-6)	-53.2 (6.32)	-8.42	<0.0001*	1.0000
TG_16:1(n-7c)	32.8 (8.33)	3.94	0.0001*	0.9226
TG_18:3(n-6)	-118 (27.9)	-4.24	<0.0001*	0.9905

$R = 0.578$, $n = 338$, $p < 0.0001$. Jako adjustace byly do finálního modelu přidány věk a příjem lipidů v gramech. Po Bonferroniho korekci byla hodnota statistické významnosti $p < 0.0045$ (označeno hvězdičkou).

Tabulka 5 Vztah mezi nosičem minoritní alely T pro rs174537 a % mastných kyselin v séru s adjustací na věk a příjem tuku (v gramech) u chlapců analyzovaný pomocí zpětné postupné regrese

Parametr	Regresní koeficient (SE)	T-statistika	P-value	Síla testu ($\alpha = 0.05$)
CONSTANT	-1430 (263)	-5.42	<0.0001*	0.9997
age (years)	41.1 (28)	1.47	0.1429	0.3245
Dietary fat (g)	5.68 (5.88)	0.966	0.3349	0.1132
PL_16:0	-1250 (251)	-4.96	<0.0001*	0.9980
PL_18:1t	-11.9 (5.51)	-2.16	0.0318	0.5551
PL_20:2(n-6)	2.27 (0.952)	2.38	0.0178	0.6534
PL_20:3(n-6)	146 (34.5)	4.23	<0.0001*	0.9877
PL_20:4(n-6)	-40 (6.39)	-6.26	<0.0001*	1.0000
PL_20:5(n-3)	-128 (38.9)	-3.3	0.0011*	0.9096
PL_22:5(n-3)	-8.74 (4.26)	-2.05	0.0409	0.5109
TG_18:0	-7.91 (2.85)	-2.77	0.0059	0.7717
TG_18:1(n-7c)	87 (31.5)	2.77	0.006	0.7657
TG_18:3(n-6)	-186 (27.4)	-6.79	<0.0001*	1.0000

$R = 0.64$, $n = 334$, $p < 0.0001$. Jako adjustace byly do finálního modelu přidány věk a příjem lipidů v gramech. Po Bonferroniho korekci byla hodnota statistické významnosti $p < 0.0042$ (označeno hvězdičkou).

Diskuze

Již z předchozích studií je známo, že jednonukleotidové polymorfismy v genu *FADS1* jsou asociované se složením mastných kyselin (Coltell *et al.*, 2020; Koletzko *et al.*, 2019; Bokor *et al.*, 2010). Naše výsledky ukazují na vztah mezi složením mastných kyselin (především PUFA) a přítomností alely T v polymorfismech genu *FADS1*. SNPs v genu *FADS1* snižuje aktivitu D5D (Wolters *et al.*, 2017), která je nezbytným enzymem při přeměně kyseliny dihydro-gamma-linolenové (DGLA) na kyselinu arachidonovou (ARA) respektive kyseliny eikosatetraenové na kyseliny eikosapentaenovou (Smink *et al.*, 2012; Brenna *et al.*, 2009). V souladu s předchozími studiemi, jsme u obou polymorfismů našli signifikantní negativní asociaci a ARA (Schaeffer *et al.*, 2006; Lankinen *et al.*, 2019). Také Klingel *et al.* (2019) popisuje nižší aktivitu D5D, která zapříčiňuje nižší hladiny ARA u jedinců s přítomností minoritní alely T. Sergeant *et al.* (2012) zjistil, že nosiči minoritní alely mají signifikantně nižší hladiny ARA a vyšší hladiny DGLA než majoritní homozygoti. Lankinen *et al.* (2019) popsal korelaci mezi genotypem TT a hladinou eikosanoidů a ARA v plazmě. Hladina PUFA, prekurzorů eikosanoidů, ovlivňuje riziko kardiometabolických onemocnění (Kark *et al.*, 2003; Roke *et al.*, 2013). Na rozdíl od předchozích publikací (Tarnowski *et al.*, 2017; Coltell *et al.*, 2020), v našem souboru nebyla nalezena asociace mezi metabolickými faktory a minoritní alelou, což může být způsobeno mladou a relativně zdravou zkoumanou kohortou.

Většina publikací týkající se SNPs v genu *FADS1* byla zaměřena na dospělou populaci. V mladé kohortě tkví výjimečnost naší studie, jejíž výsledky se shodují s předchozími výzkumy, např. Dumont *et al.* (2011) popsal asociaci mezi rs174546 a složením mastných kyselin. Naše výsledky týkající se zastoupení PUFA u nosičů alely T jsou v souladu se studií Bokor *et al.* (2010). Recentní publikace Wolters *et al.* (2017) se zaměřila na problematiku spojitosti SNPs a složení mastných kyselin u dětí mladších 10 let.

Je známo mnoho SNPs v genech *FADS*, které mají mezi sebou silnou vazbu (Schaeffer *et al.*, 2006). My jsme v našem výzkumu vyšetřovali pouze dva polymorfismy v genu *FADS1* (rs174546 a rs174537). Do regulace metabolismu lipidů jsou však zapojeny další geny. Na složení mastných kyselin se také podílí i negenetické faktory, jako je příjem mastných kyselin v potravě, diabetes mellitus, hypertenze (Das *et al.*, 2006).

Závěr

Nosiči minoritní alely měli nižší hladiny kyseliny arachidonové a palmitové. Další asociace mezi složením mastných kyselin v séru a polymorfismy jsme našli u jen u chlapců nebo dívek. Naše výsledky poukazují na to, že SNPs v genu *FADS1* ovlivňují aktivitu desaturázy, která se účastní syntézy polyneenasycených MK.

Tento výzkum byl podpořen granty Nr. 17-31670 a MZ CR (EÚ, 00023761)

Reference

Bokor S., Dumont J., Spinneker A., et al. HELENA Study Group. 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(8): 2325-2333.

Brenna JT., Salem N. Jr., Sinclair AJ., et al. α -Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2009; 80(2-3): 85-91.

Coltell O., Sorlí JV., Asensio EM., et al. Genome-Wide Association Study for Serum Omega-3 and Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids: Exploratory Analysis of the Sex-Specific Effects and Dietary Modulation in Mediterranean Subjects with Metabolic Syndrome. *Nutrients* 2020; 12(2): 310.

Das UN. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnol J* 2006; 1(4): 420-439.

Dumont J., Huybrechts I., Spinneker A., et al. HELENA Study group. *FADS1* genetic variability interacts with dietary α -linolenic acid intake to affect serum non-HDL-cholesterol concentrations in European adolescents. *J Nutr* 2011; 141(7): 1247-1253.

Glaser C., Heinrich J., Koletzko B. Role of *FADS1* and *FADS2* polymorphisms in polyunsaturated fatty acid metabolism. *Metabolism* 2010; 59(7): 993-999.

Kark JD., Kaufmann NA., Binka F., et al. Adipose tissue n-6 fatty acids and acute myocardial infarction in a population consuming a diet high in polyunsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(4): 796-802.

Klingel SL., Valsesia A., Astrup A., et al. *FADS1* genotype is distinguished by human subcutaneous adipose tissue fatty acids, but not inflammatory gene expression. *Int J Obes (London)* 2019; 43(8): 1539-1548.

Koletzko B., Reischl E., Tanjung C., et al. *FADS1* and *FADS2* polymorphisms modulate fatty acid metabolism and dietary impact on health. *Annu Rev Nutr* 2019; 39: 21-44.

Lankinen MA., Fauland A., Shimizu BI., et al. Inflammatory response to dietary linoleic acid depends on *FADS1* genotype. *Am J Clin Nutr* 2019; 109(1): 165-175.

Roke K., Ralston JC., Abdelmagid S., et al. Variation in the *FADS1/2* gene cluster alters plasma n-6 PUFA and is weakly associated with hsCRP levels in healthy young adults. *Prostaglandins Leukotr Essent Fatty Acids* 2013; 89(4): 257-263.

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(11): 1745-1756.

Sergeant S., Hugenschmidt CE., Rudock ME., et al. Differences in arachidonic acid levels and fatty acid desaturase (FADS) gene variants in African Americans and European Americans with diabetes or the metabolic syndrome. *Br J Nutr* 2012; 107(4): 547-555.

Smink W., Gerrits WJJ., Gloaguen M., et al. Linoleic and α -linolenic acid as precursor and inhibitor for the synthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in liver and brain of growing pigs. *Animal* 2012; 6(2): 262-270.

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(1): e1000338.

Tarnowski M., Malinowski D., Pawlak K., et al. GCK, GCKR, FADS1, DGKB/TMEM195 and CDKAL1 Gene Polymorphisms in Women with Gestational Diabetes. *Can J Diabetes* 2017; 41(4): 372-379.

Wang L., Athinarayanan S., Jiang G., et al. Fatty acid desaturase 1 gene polymorphisms control human hepatic lipid composition. *Hepatology* 2015; 61(1): 119-128.

Wolters M., Dering C., Siani A., et al. The role of a FADS1 polymorphism in the association of fatty acid blood levels, BMI and blood pressure in young children—Analyses based on path models. *PloS One* 2017; 12(7): e0181485.

URL1: *FADS1 fatty acid desaturase 1 [Homo sapiens (human)]*. [online]. 2020/10/04. 2020/10/12. Available:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=3992>

URL2: Genotype frequency (NIH) rs174546. [online]. 2021/04/21. 2021/04/10. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs174546#frequency_tab

URL3: Genotype frequency (NIH) rs174537. [online]. 2021/04/21. 2021/04/10. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs174537#frequency_tab

VÝZNAM ENDOGLINU V PATOGENEZI KARDIOMETABOLICKÝCH ONEMOCNĚNÍCH

ENDOGLIN ROLE IN THE PATHOGENESIS OF CARDIOVASCULAR DISORDERS

P. Nachtigal

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Biological and Medical Sciences, Heyrovskeho 1203, Hradec Kralove 500 05, Czech Republic

Abstract

Membrane endoglin (Eng, CD105) is a transmembrane glycoprotein essential for the proper function of vascular endothelium. It might be cleaved by matrix metalloproteinases to form soluble endoglin (sEng), which is released into the circulation. We propose that reduced Eng expression is a hallmark of endothelial dysfunction development in chronic pathologies related to metabolic syndrome. Eng expression is also essential for leukocyte transmigration and acute inflammation, suggesting that Eng is crucial for the regulation of endothelial function during the acute phase of vascular defense reaction to harmful conditions. sEng is a circulating biomarker of metabolic syndrome-related symptoms and pathologies, including hypercholesterolemia, hyperglycemia, diabetes mellitus, arterial hypertension, and liver fibrosis. Besides, sEng can participate in the development of endothelial dysfunction and promote the development of arterial hypertension, suggesting that high levels of sEng promote metabolic syndrome symptoms and complications. Therefore, we suggest that the treatment of metabolic syndrome should take into account the importance of Eng in the endothelial function and levels of sEng as a biomarker and risk factor of related pathologies.

Introduction

Endoglin (Eng, CD105) is a 180 kDa transmembrane glycoprotein considered a co-receptor for ligands of the Transforming Growth Factor β (TGF β) superfamily, with an increasing research interest and currently over 2800 citations in PubMed. Eng is involved in the physiological function of the endothelium but also plays an essential role in various pathological conditions. There are two different isoforms of membrane Eng expressed by various cells and soluble endoglin (sEng) circulating in plasma or cell culture medium [1].

Eng is expressed by endothelial cells, vascular smooth muscle cells [2], fibroblasts [3], hepatic stellate cells [4], and activated monocytes and macrophages [5]. Changes in Eng expression and function are predominantly associated with several pathological conditions, including Hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT) [6], cancer, angiogenesis [7], heart development [8], fibrosis [9], endothelial dysfunction [10] and inflammation [11].

Soluble endoglin (sEng) is the N-terminal cleavage product of the extracellular domain of Eng formed by the activity of matrix metalloproteinases (MMP14 and MMP12) that is released into the circulation or cell culture medium in various pathological conditions [12]. Increased sEng levels in the circulation have been detected in endothelium-related pathologies such as atherosclerosis [13], arterial hypertension, and type II diabetes mellitus [1]. Moreover, sEng is not only a biomarker of cardiovascular and metabolic disorders. Recently, it was demonstrated that sEng regulates bone morphogenetic protein-4 (BMP4) levels, resulting in the induction of arterial hypertension in mice and cardiac hypertrophy/heart failure, what suggests BMP4 as a downstream mediator of sEng [14, 15].

Role of membrane endoglin in hypercholesterolemia, and inflammation with respect to endothelial dysfunction

Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) is a crucial enzyme maintaining the proper function of vascular endothelium. For instance, when the activity of eNOS is reduced by hypercholesterolemia and/or inflammation, it may result in the development of endothelial dysfunction [16].

Several studies showed a mutual relationship between Eng, eNOS, and the proper function of the endothelium. It was demonstrated that reduced Eng expression result in the alteration of blood vessels function and possibly to the development of endothelial dysfunction [10].

Interestingly, we found that exposure to similar stimuli results in opposite outcomes *in vitro* and in *in vivo* experiments with respect to Eng. We explored the differences between the acute effect of 7-ketocholesterol (7K) (simulating oxidized LDL (oxLDL) effects in atherogenesis) in HAECs and chronic effect of hypercholesterolemia in apolipoprotein E-deficient/LDL receptor-deficient (ApoE^{-/-}/LDLR^{-/-}) mice [10]. It was demonstrated that 7K induces Eng expression in HAECs via simultaneous activation of transcription factors regulating Eng expression including Krüppel like factor 6 (KLF6) [17, 18] nuclear factor kappa B p65 – hypoxia-inducible factor 1 (RELA-HIF-1) [19, 20] and liver X receptor (LXR) nuclear receptor subfamily 1 group H member 3 (NR1H3) [21, 22]. Increased expression of Eng was associated with increased expression of eNOS and phosphorylated form of eNOS (p-eNOS) protein levels, which may suggest activation of potential protective mechanisms of Eng after oxidized cholesterol treatment in HAECs. On the other hand, significantly increased protein levels of Eng after 7K treatment were associated with significantly increased levels of cell adhesion proinflammatory molecules (E/P-selectins, VCAM-1, and ICAM-1). Consequent increased adhesion and transmigration of monocytes through 7K pre-treated endothelial monolayer confirmed the development of endothelial dysfunction. After the silencing of Eng, induction of adhesion and transmigration was prevented [10], suggesting a crucial role of Eng in endothelial dysfunction in acute (12 hours) hypercholesterolemic condition *in vitro*.

In vivo part of the study was focused on the chronic effect of hypercholesterolemia in ApoE^{-/-}/LDLR^{-/-} mouse model of spontaneous hypercholesterolemia, endothelial dysfunction, and atherogenesis [23]. Hypercholesterolemia (in the time frame of two months) resulted in the development of vascular and endothelial dysfunction in the aorta, with reduced Eng/eNOS/pSMAD2/3 expression in the aorta and decreased nitric oxide (NO) production, induction of inflammation and increase of sEng levels in plasma. These results show that reduced Eng expression is related to the alteration of NO production and vascular function (endothelial dysfunction) even before the formation of atherosclerotic lesions, which suggests that proper Eng expression is crucial for the prevention of endothelial dysfunction. This is in line with our previous papers showing that the progression of atherogenesis (increased size of atherosclerotic lesions) is accompanied by reduced Eng expression in the aorta and increased levels of sEng in blood [24-26]. Thus, we suggest that reduced Eng expression and increased levels of sEng are hallmarks of endothelial dysfunction development and atherogenesis, as shown in Fig. 4.

Thus, we propose that once Eng role in conditions related to inflammation, hypercholesterolemia, endothelial dysfunction, and monocyte/macrophage adhesion and transmigration is evaluated, the conclusion should take into consideration the time of the exposure/treatment, *in vitro* or *in vivo* conditions and type of vasculature.

Membrane endoglin and liver alteration

Profibrotic changes in the liver are a part of the pathophysiology of diseases such as nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). NAFLD

is often recognized as a hepatic manifestation of metabolic syndrome-related to obesity and fat accumulation in the liver. Some NAFLD patients may develop a more severe form termed NASH, which may progress to cirrhosis and permanent liver damage [27].

Eng is known to play an important role in fibrosis development in the liver [28, 29]. Meurer et al. reported high protein expression of Eng in isolated liver hepatic stellate cells, myofibroblast-like cells, liver macrophages (Kupffer cells), and liver sinusoidal endothelial cells, however no expression of Eng in hepatocytes neither in HepG2 cell line was found. Up-regulation of Eng expression was observed during hepatic stellate cells activation and transdifferentiation to myofibroblast-like cells in cell culture and both mice and rat experimental models of liver injury (CCl₄ application or bile duct ligation) [30] [31]. Although the study mentioned above suggest the profibrotic effect of Eng, it is still unclear whether Eng stimulates or inhibits fibrosis, since the conducted studies support both hypotheses. Alsamman et al. suggested Eng as protective against fibrotic injury when they found that deficiency of Eng significantly aggravates liver fibrosis in response to liver injury [9].

Soluble endoglin as a biomarker of cardiometabolic disorders

sEng levels are increased in patients with hypercholesterolemia [32] and Familial hypercholesterolemia [33]. In addition, sEng levels were also increased in the experimental mouse model of atherosclerosis with hypercholesterolemia, before the formation of visible atherosclerosis in aorta, and during the formation of advanced lesions [10, 25, 26]. Moreover, a correlation of sEng levels with cholesterol levels in hypercholesterolemic mice was demonstrated [34].

Hypercholesterolemia is a crucial risk factor for the development of atherosclerosis, and oxidative modification of cholesterol (oxLDL) plays an important role in the pathogenesis. It was demonstrated that sEng levels are higher in mice with more prominent atherosclerotic lesions [25, 26]. However, no correlation between atherosclerotic plaque size and sEng levels was confirmed [34]. Interestingly, sEng showed a positive linear correlation with carotid intima-media thickness in 978 patients suggesting that sEng might be an interesting biomarker of subclinical carotid atherosclerosis [35].

According to these data, sEng could be considered a biomarker related to hypercholesterolemia, but there is no conclusive evidence that sEng reflects the development of atherosclerotic lesions.

Soluble endoglin and type II diabetes mellitus

Hyperglycemia is considered as a risk factor for the development of cardiometabolic disorders, especially type II diabetes mellitus (DM). Plasma concentration of sEng was increased in patients with advanced DM, and the concentration of sEng positively correlates with the severity of diabetic vascular alterations such as retinopathy [1], diabetic peripheral neuropathy [36] and nephropathy [37, 38]. The increase of sEng is related to reduce NO concentration in adolescents with type I diabetes mellitus compared to the control group of healthy adolescents [39], and middle-age men with diabetes mellitus type II compared to middle-aged men without diabetes mellitus [40].

These data demonstrate that sEng levels reflect hyperglycemia, and we might propose that sEng could be considered an important biomarker of developing diabetic changes.

Soluble endoglin and liver diseases (NAFLD, NASH, Fibrotic changes)

Increased circulating levels of sEng were described in the serum of patients with hepatic fibrosis featuring chronic hepatitis C virus infection (HCV)[41], patients with biliary atresia [42], cystic fibrosis-associated liver disease (CFLD)[43] and patients with liver cirrhosis and carcinoma [44]. Moreover, ongoing studies at our laboratory show that circulating sEng levels are also increased in rodent diet-induced NASH model and experimental model of estrogen-induced intrahepatic cholestasis (unpublished data).

We suggest that sEng is a potential biomarker reflecting the severity of the ongoing liver injury and can be used in a risk assessment of liver complications during metabolic syndrome, including the development of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients.

However, several studies also demonstrated that sEng might be not only a biomarker, but it can induce and/or promote metabolic syndrome symptoms and even aggravate related pathological conditions as well.

Soluble endoglin as an inducer of cardiometabolic disorders

Venkatesha et al. showed that placenta-derived sEng from pregnant preeclamptic women is able to inhibit capillary tube formation *in vitro* and increase vascular permeability and induce arterial hypertension *in vivo*. sEng was able to inhibit TGF β 1 binding and signaling in endothelial cells, which resulted in decreased activation of eNOS and impaired vasodilatation in isolated rat renal microvessels and mesenteric vessels. Authors concluded that sEng plays an essential role in the pathogenesis of arterial hypertension, proteinuria, and glomerular endotheliosis [45]. Besides, in an experimental model of preeclampsia, transgenic mice overexpressing human sEng (sEng levels higher than 2000 ng/ml) had higher systolic blood pressure when compared to wild type littermates [22]. Furthermore, we showed that sEng treatment induced inflammation (represented by increased NF- κ B and IL6) in HUVECs, suggesting sEng has a proinflammatory potential as well [46].

Based on these studies, we might propose that sEng promotes the development of endothelial dysfunction, which might contribute to an increase of systemic blood pressure, suggesting that high levels of sEng promote metabolic syndrome.

Our experimental group focused on the role of sEng effects in the aorta, a blood vessel prone to the development of endothelial dysfunction and atherosclerosis, which is part of metabolic syndrome.

It was demonstrated that high levels of sEng did not affect aortic endothelial function either at the protein or at the functional level, suggesting possibly no contribution to endothelial dysfunction when sEng is operating as a single factor [47]. In general, it is accepted that endothelial dysfunction and atherosclerosis “requires” hypercholesterolemia. Thus, we combined high sEng levels with high fat diet (HFD) administration for six months. We showed significant aggravation of endothelial dysfunction characterized by reduced Eng, p-eNOS/eNOS, pSMAD2/3/SMAD2/3 signaling pathway only in mice with high sEng levels.

Thus, we might suggest that sEng, especially combined with other risk factors of metabolic syndrome, might be considered as a risk factor for the development of endothelial dysfunction/inflammation and possibly atherosclerosis.

Conclusion

In conclusion, we propose that reduced Eng expression is a hallmark of endothelial dysfunction development in chronic disorders associated with metabolic syndrome. On the other hand, Eng also plays an essential role in leukocyte transmigration and acute inflammation, suggesting that Eng is crucial for the regulation of endothelial function during

the acute phase of vascular defense reaction to harmful conditions. sEng is a circulating biomarker of metabolic syndrome-related symptoms and pathologies, including hypercholesterolemia, hyperglycemia, diabetes mellitus, arterial hypertension, and liver damage. In addition, sEng is able to participate in the aggravation of endothelial dysfunction and promote the development of arterial hypertension, suggesting that high levels of sEng promote metabolic syndrome symptoms and its complications. Therefore, we suggest that the treatment of metabolic syndrome should take into account the importance of Eng in the endothelial function and levels of sEng as a biomarker and risk factor of related pathologies.

References

1. **Blazquez-Medela AM., Garcia-Ortiz L., Gomez-Marcos MA., et al.** Increased plasma soluble endoglin levels as an indicator of cardiovascular alterations in hypertensive and diabetic patients. *BMC Med* 2010; 8: 86.
2. **Bot PT., Hoefler IE., Sluijter JP., et al.** Increased expression of the transforming growth factor-beta signaling pathway, endoglin, and early growth response-1 in stable plaques. *Stroke* 2009; 40(2): 439-447.
3. **St-Jacques S., Forte M., Lye SJ., Letarte M.** Localization of endoglin, a transforming growth factor-beta binding protein, and of CD44 and integrins in placenta during the first trimester of pregnancy. *Biol Reprod* 1994; 51(3): 405-413.
4. **Meurer S., Wimmer AE., Leur EV., Weiskirchen R.** Endoglin Trafficking/Exosomal Targeting in Liver Cells Depends on N-Glycosylation. *Cells* 2019; 8(9): 997.
5. **Lastres P., Bellon T., Cabanas C., et al.** Regulated expression on human macrophages of endoglin, an Arg-Gly-Asp-containing surface antigen. *Eur J Immunol* 1992; 22(2): 393-397.
6. **McAllister KA., Grogg KM., Johnson DW., et al.** Endoglin, a TGF-beta binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. *Nat Genet* 1994; 8(4): 345-351.
7. **Kapur NK., Morine KJ., Letarte M.** Endoglin: a critical mediator of cardiovascular health. *Vasc Health Risk Manag* 2013; 9: 195-206.
8. **Qu R., Silver MM., Letarte M.** Distribution of endoglin in early human development reveals high levels on endocardial cushion tissue mesenchyme during valve formation. *Cell Tissue Res* 1998; 292(2): 333-343.
9. **Alsamman M., Sterzer V., Meurer SK., et al.** Endoglin in human liver disease and murine models of liver fibrosis-A protective factor against liver fibrosis. *Liver Int* 2018; 38(5): 858-867.
10. **Vicen M., Vitverova B., Havelek R., et al.** Regulation and role of endoglin in cholesterol-induced endothelial and vascular dysfunction in vivo and in vitro. *FASEB J* 2019; 33(5): 6099-6114.
11. **Rossi E., Sanz-Rodriguez F., Eleno N., et al.** Endothelial endoglin is involved in inflammation: role in leukocyte adhesion and transmigration. *Blood* 2013; 121(2): 403-415.
12. **Vicen M., Igreja Sa IC., Tripska K., et al.** Membrane and soluble endoglin role in cardiovascular and metabolic disorders related to metabolic syndrome. *Cell Mol Life Sci* 2021; 78(6): 2405-2418.
13. **Vitverova B., Blazickova K., Najmanova I., et al.** Soluble endoglin and hypercholesterolemia aggravate endothelial and vessel wall dysfunction in mouse aorta. *Atherosclerosis* 2018; 271: 15-25.

14. **Gallardo-Vara E., Gamella-Pozuelo L., Perez-Roque L., et al.** Potential Role of Circulating Endoglin in Hypertension via the Upregulated Expression of BMP4. *Cells* 2020; 9(4): 988.
15. **Guo WT., Dong DL.** Bone morphogenetic protein-4: a novel therapeutic target for pathological cardiac hypertrophy/heart failure. *Heart Fail Rev* 2014; 19(6): 781-788.
16. **Davignon J., Ganz P.** Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109(23 Suppl 1): III27-III32.
17. **Botella LM., Sanchez-Elsner T., Sanz-Rodriguez F., et al.** Transcriptional activation of endoglin and transforming growth factor-beta signaling components by cooperative interaction between Sp1 and KLF6: their potential role in the response to vascular injury. *Blood* 2002; 100(12): 4001-410.
18. **Gallardo-Vara E., Blanco FJ., Roque M., et al.** Transcription factor KLF6 upregulates expression of metalloprotease MMP14 and subsequent release of soluble endoglin during vascular injury. *Angiogenesis* 2016; 19(2): 155-171.
19. **Sanchez-Elsner T., Botella LM., Velasco B., et al.** Endoglin expression is regulated by transcriptional cooperation between the hypoxia and transforming growth factor-beta pathways. *J Biol Chem* 2002; 277(46): 43799-43808.
20. **van Uden P., Kenneth NS., Rocha S.** Regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha by NF-kappaB. *Biochem J* 2008; 412(3): 477-484.
21. **Henry-Berger J., Mouzat K., Baron S., et al.** Endoglin (CD105) expression is regulated by the liver X receptor alpha (NR1H3) in human trophoblast cell line JAR. *Biol Reprod* 2008; 78(6): 968-975.
22. **Valbuena-Diez AC., Blanco FJ., Oujo B., et al.** Oxysterol-induced soluble endoglin release and its involvement in hypertension. *Circulation* 2012; 126(22): 2612-2624.
23. **Csanyi G., Gajda M., Franczyk-Zarow M., et al.** Functional alterations in endothelial NO, PGI(2) and EDHF pathways in aorta in ApoE/LDLR-/- mice. *Prostaglandins & other lipid mediators* 2012; 98(3-4): 107-115.
24. **Vecerova L., Strasky Z., Rathouska J., et al.** Activation of TGF-beta receptors and Smad proteins by atorvastatin is related to reduced atherogenesis in ApoE/LDLR double knockout mice. *J Atheroscler Thromb* 2012; 19(2): 115-126.
25. **Strasky Z., Vecerova L., Rathouska J., et al.** Cholesterol effects on endoglin and its downstream pathways in ApoE/LDLR double knockout mice. *Circ J* 2011; 75(7): 1747-1755.
26. **Rathouska J., Vecerova L., Strasky Z., et al.** Endoglin as a possible marker of atorvastatin treatment benefit in atherosclerosis. *Pharmacol Res* 2011; 64(1): 53-59.
27. **Rinella ME.** Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Jama* 2015; 313(22): 2263-2273.
28. **Finsson KW., Philip A.** Endoglin in liver fibrosis. *J Cell Commun Signal* 2012; 6(1): 1-4.
29. **Garcia-Pozo L., Miquilena-Colina ME., Lozano-Rodriguez T., Garcia-Monzon C.** [Endoglin: structure, biological functions, and role in fibrogenesis]. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100(6): 355-360.
30. **Meurer SK., Tihaa L., Borkham-Kamphorst E., Weiskirchen R.** Expression and functional analysis of endoglin in isolated liver cells and its involvement in fibrogenic Smad signalling. *Cell Signal* 2011; 23(4): 683-699.
31. **Meurer SK., Alsamman M., Scholten D., Weiskirchen R.** Endoglin in liver fibrogenesis: Bridging basic science and clinical practice. *World J Biol Chem* 2014; 5(2): 180-203.
32. **Blann AD., Wang JM., Wilson PB., Kumar S.** Serum levels of the TGF-beta receptor are increased in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1996; 120(1-2): 221-226.

33. **Blaħa M., Cermanova M., Blaħa V., et al.** Elevated serum soluble endoglin (sCD105) decreased during extracorporeal elimination therapy for familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2008; 197(1): 264-270.
34. **Rathouska J., Jezkova K., Nemeckova I., Nachtigal P.** Soluble endoglin, hypercholesterolemia and endothelial dysfunction. *Atherosclerosis* 2015; 243(2): 383-388.
35. **Li Q., Lin F., Ke D., et al.** Combination of Endoglin and ASCVD Risk Assessment Improves Carotid Subclinical Atherosclerosis Recognition. *J Atheroscler Thromb* 2020; 27(4): 331-341.
36. **Bilir B., Ekiz Bilir B., Yilmaz I., et al.** Association of apelin, endoglin and endocan with diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016; 20(5): 892-898.
37. **Doghish AS., Bassyoumi AA., Mahfouz MH., et al.** Plasma endoglin in Type2 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes Metab Syndr* 2019; 13(1): 764-768.
38. **Ekiz-Bilir B., Bilir B., Aydin M., Soysal-Atile N.** Evaluation of endocan and endoglin levels in chronic kidney disease due to diabetes mellitus. *Arch Med Sci* 2019; 15(1): 86-91.
39. **Emeksiz HC., Bideci A., Damar C., et al.** Soluble Endoglin Level Increase Occurs Prior to Development of Subclinical Structural Vascular Alterations in Diabetic Adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2016; 8(3): 313-320.
40. **Trebaticky B., Zitnanova I., Dvorakova M., et al.** Role of oxidative stress, adiponectin and endoglin in the pathophysiology of erectile dysfunction in diabetic and non-diabetic men. *Physiol Res* 2019; 68(4): 623-631.
41. **Clemente M., Nunez O., Lorente R., et al.** Increased intrahepatic and circulating levels of endoglin, a TGF-beta1 co-receptor, in patients with chronic hepatitis C virus infection: relationship to histological and serum markers of hepatic fibrosis. *J Viral Hepat* 2006; 13(9): 625-632.
42. **Preativatanyou K., Honsawek S., Chongsrisawat V., et al.** Correlation of circulating endoglin with clinical outcome in biliary atresia. *Eur J Pediatr Surg* 2010; 20(4): 237-241.
43. **Rath T., Hage L., Kugler M., et al.** Serum proteome profiling identifies novel and powerful markers of cystic fibrosis liver disease. *PloS One* 2013; 8(3): e58955.
44. **Yagmur E., Rizk M., Stanzel S., et al.** Elevation of endoglin (CD105) concentrations in serum of patients with liver cirrhosis and carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19(9): 755-761.
45. **Venkatesha S., Toporsian M., Lam C., et al.** Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006; 12(6): 642-649.
46. **Varejkova M., Gallardo-Vara E., Vicen M., et al.** Soluble endoglin modulates the pro-inflammatory mediators NF-kappaB and IL-6 in cultured human endothelial cells. *Life Sci* 2017; 175: 52-60.
47. **Nemeckova I., Serwaczak A., Oujó B., et al.** High soluble endoglin levels do not induce endothelial dysfunction in mouse aorta. *PloS One* 2015; 10(3): e0119665.

OŘECHY VE VÝŽIVĚ

NUTS IN NUTRITION

J. Pánek, D. Chrpová

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha; Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU Praha

Abstrakt

Tato komodita, dříve zcela okrajová, se v poslední době, se změnou stravovacích zvyklostí významné části populace, stává dosti významnou složkou naší výživy, zejména ve formě snídanových cereálií, snacků apod. K ořechům subtropických oblastí a mírného pásma patří vlašské ořechy, lísková jádra, mandle, pistácie, persiko, piniové ořechy a jedlé kaštiny. Z ořechů tropických oblastí je třeba zmínit para ořechy (Brazil nuts), kešu (Cashew), pekanové ořechy, makadamiové ořechy a kokosový ořech. Ořechem je vlastně i jádro (nikoliv dužnina) palmy olejné, které se ale využívá pouze pro průmyslové zpracování (tzv. palmojádrový tuk). K ořechům se někdy (poněkud nesprávně) řadí i arašidy (které se požívají jako ořechy). V tomto případě se ale jedná o luštěninu.

Ořechy (s výjimkou jedlého kaštanu, který se svým složením i využitím této komoditě vymyká) mají poměrně vysokou nutriční hodnotu. Díky vysokému obsahu tuku mají vysokou energetickou hodnotu. Jsou dobrým doplňkovým zdrojem proteinů. S výjimkou kokosového ořechu (a zmíněného palmojádrového tuku) spíše převažují nenasycené mastné kyseliny, u vlašských ořechů dominují polyenové, u ostatních ořechů monoenové mastné kyseliny (hlavně kyselina olejová). Vlašský ořech, jako jediný z běžných ořechů, obsahuje významné množství linolenové kyseliny (n-3). Téměř se dá zobecnit, že čím teplejší klima, tím je tukový podíl více nasycený.

Význam ořechů jako zdroje minerálních látek a mikronutrientů je zcela okrajový. V některých případech mohou být ořechy doplňkovým zdrojem vápníku (např. lískové ořechy nebo mandle) nebo zdrojem vitamínu E (např. jedlý kaštan nebo kešu ořechy), ale při nízké spotřebě se o reálném významu nedá hovořit.

CHARAKTERIZÁCIA EXPRESIE TELOMERÁZY V MIECHE POTKANA**CHARACTERIZATION OF TELOMERASE GENE EXPRESSION IN RAT SPINAL CORD****D. Szabóová¹, J. Košuth², F. Mochňacký²**¹*Ústav patologickej fyziológie, UPJŠ, Košice*²*Katedra bunkovej biológie, UPJŠ, Košice***Abstract**

Presence of neural stem cells in spinal cord has not yet been confirmed. A possible marker of neural stem cell's presence could be tracking telomerase gene expression, which can be detected in areas of adult brain with confirmed presence of neural stem cells. We confirmed expression of mRNA encoding telomerase (wildtype *tert*) and detected expression of telomerase isoforms created by alternative splicing. We detected isoform var A (catalytically active) and var B, var C and var D (catalytically inactive) in every studied stage of ontogenetic development – P8, P29, P90 and in embryos during 14. day of embryonic development. With RT-qPCR we discovered that isoforms var C and var D are in spinal cord expressed weakly in every ontogenetic stage. In contrast, we detected high expression of these isoforms in brain tissue at P29 and P90. In general, expression of *tert* diminishes during ontogenesis, peaks at E14 and P8 and significantly decreases at P29 and P90. It's important to consider different biochemical properties of every alternatively spliced isoform when detecting and identifying possible neural stem cells.

Úvod

Na koncoch všetkých eukaryotických chromozómov sa nachádzajú teloméry, ktoré predstavujú oblasti bohaté na repetitívne sekvencie. Pre každý druh sú tieto sekvencie špecifické (Hiyama and Hiyama, 2007). Telomeráza (*tert*) je enzým pozostávajúci z RNA templátu a reverznej transkriptázy (Kaneko et al., 2006). Je zodpovedná za syntézu nových telomérických opakovaní, ktoré slúžia na vyriešenie problému s neúplnou replikáciou lineárnych chromozómov. Po narodení dochádza vo väčšine somatických buniek každého jedinca k poklesu telomerázovej aktivity a k následnému skracovaniu telomér po každom delení bunky (Hiyama and Hiyama, 2007). Toto skracovanie má za následok nestabilitu chromozómov a možnú senesciu alebo premenu bunky na rakovinovú. Výnimku predstavujú bunky, u ktorých je aj po narodení zachovaná telomerázová aktivita a u ktorých dochádza ku kontinuálnemu predlžovaniu telomér. Majú potenciál deliť sa nekonečne veľa krát (Mathieu et al., 2004). Ide o bunky so značnou proliferatívnou aktivitou ako sú napríklad aktivované lymfocyty, bunky pečene, zárodočné bunky, rakovinové a kmeňové bunky (Hiyama and Hiyama, 2007). V oblastiach dospelého mozgu s potvrdenou prítomnosťou neurálnych kmeňových buniek bola zaznamenaná expresia telomerázy (Liu et al., 2018).

U potkana boli okrem wildtype telomerázy (wt) s kompletnou nukleotidovou sekvenciou identifikované 4 izoformy transkriptov vznikajúcich alternatívnym zostrihom s odlišnými biochemickými vlastnosťami. Izoforma var A obsahuje deléciu 18 bp a predpokladá sa, že je, rovnako ako wildtype telomeráza, katalyticky aktívna. U izoform var B, var C a var D dochádza počas alternatívneho zostrihu heteronukleárnej mRNA k ponechaniu 145 bp intrónu, čo vedie k narušeniu čítacieho rámca a k tvorbe nefunkčných proteínov. Izoforma var C obsahuje ďalšiu deléciu 39 bp a izoforma var D deléciu 72 bp (Kaneko et al., 2006). Za pomoci charakterizácie expresie telomerázy v mieche potkana a využitia ďalších metodík ako

je *in situ* hybridizácia, je možné detegovať a lokalizovať konkrétne bunky exprimujúce katalyticky aktívny typ telomerázy za účelom identifikácie neurálnych kmeňových buniek.

Materiál a metodika

Počas výskumu sme využili tkanivo odobraté z laboratórneho potkana *Rattus norvegicus* z kmeňa Wistar vo veku P8 (skorý postnatálny vek), P29 (neskorý postnatálny vek) a P90 (dospelosť). Ako pozitívnu kontrolu sme použili embryá odobraté na 14. embryonálny deň (ozn. E14). Tkanivo miechy bolo odobraté z lumbálnej oblasti a pozbavené miechových obalov. Pracovali sme s nefixovaným tkanivom. Tkanivo mozgu bolo odobraté spolu s bočnými komorami aj hipokampom. Pre dizajn primerov sme využili sekvencie NM_053423 (wildtype *tert*, referenčná sekvencia), AY539718 (var A *tert*), AY539719 (var C *tert*, v GenBank označené ako var B), AY539720 (var D *tert*, v GenBank označené ako var C). Na detekciu alternatívne zostrihaných izoforiem telomerázy (var A, var B, var C a var D) sme použili primery vymedzujúce jednotlivé inzercie, resp. delécie, vznikajúce alternatívnym zostrihom sekvencie *tert*. Izoformy sme detegovali pomocou RT-PCR a ich prítomnosť sme overili elektroforeticky. Pomocou RT-qPCR sme kvantifikovali relatívnu expresiu telomerázy vo vzorkách. Na odlíšenie jednotlivých izoforiem sme použili dostupné primery, pričom každý set primerov bol špecificky navrhnutý pre konkrétnu izoformu. Relatívna expresia telomerázy bola normalizovaná vzhľadom na referenčný gén *EEF1 α 1* (eukaryotický translačný elongačný faktor 1 alfa 1), ktorý sme si vybrali na základe skúseností z našej predchádzajúcej štúdie, keďže sa v mieche potkana ukázal ako veľmi stabilne exprimovaný počas celej ontogenézy (Košuth et al., 2019).

Výsledky a diskusia

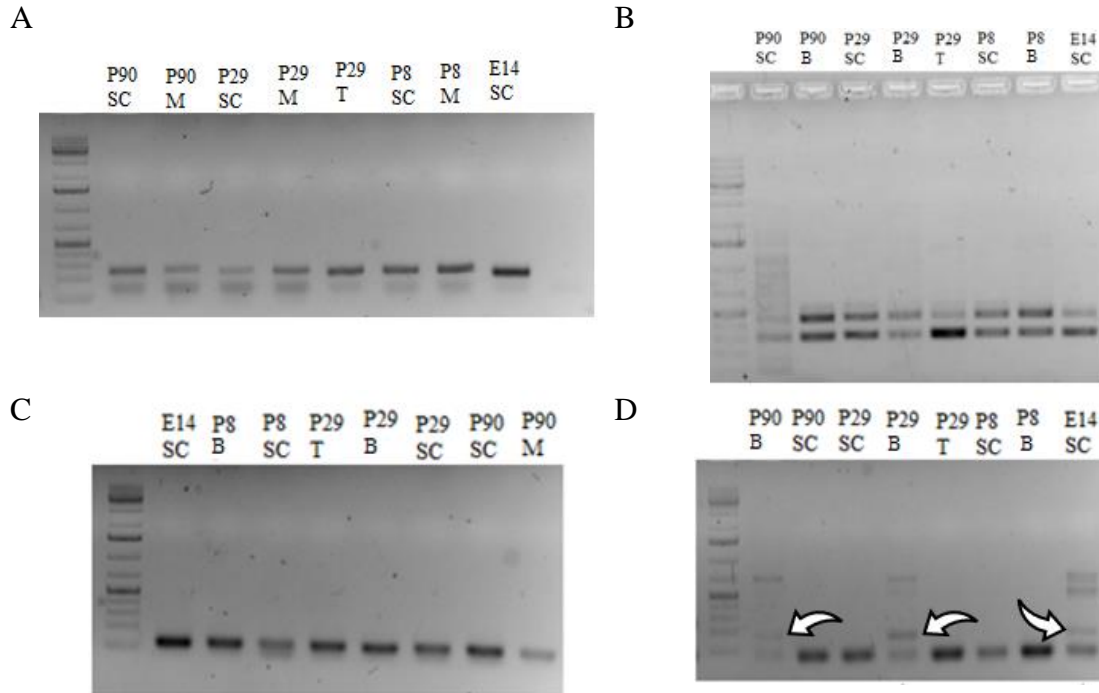
Expresiu telomerázy (wildtype a jej alternatívne zostrihaných izoforiem var A, var B, var C alebo var D) sme potvrdili vo všetkých nami sledovaných štádiách ontogenetického vývinu – E14, P8, P29 a P90 – v tkanivách mozgu aj miechy (obrázok 1). Na rozdiel od (Kaneko et al., 2006) sme potvrdili prítomnosť izoformy var A aj v nervovom systéme potkana za pomoci primerov premost'ujúcich deléciu 18 bp párov. Na detekciu transkriptov s prítomnou inzerciou 145 bp spájanou s izoformami var B, var C a var D sme použili primery, ktoré ohraničovali danú inzerciu. Expresiu katalyticky neaktívnych izoforiem var B, var C a var D, doteraz popísaných v literatúre iba v mozgu (Kaneko et al., 2006), sme detegovali v mieche aj mozgu naprieč celou ontogenezou potkana.

Samostatná kvantifikácia jednotlivých izoforiem nebola vo všetkých prípadoch možná kvôli lokalizácii inzercie a delécií prítomných v izoformách. Preto sme pomocou kvantitatívnej RT-qPCR kvantifikovali sumárnu expresiu wt + var A + var B a sumu bez var C a sumu bez var D v mieche aj v mozgu (graf 1). Expresiu wt + var A + var B sme kvantifikovali párom primerov lokalizovaných do oblastí delétovaných v izoforme var D a C. Sumu expresie telomerázy bez var D sme stanovili pomocou páru primerov, z ktorých jeden bol umiestnený do oblasti s deléciou prítomnou v izoforme D, vďaka čomu sa templát var D neamplifikoval. Podobne sme kvantifikovali sumu expresie *tert* bez var C - jeden z 1 primerov sme umiestnili do oblasti s deléciou prítomnou v izoforme var C. Izoformu A sme detegovali párom primerov, z ktorých jeden premost'oval deléciu prítomnú v izoforme A. Zaznamenali sme, že expresia var C a var D vo všetkých nami sledovaných štádiách v mieche je veľmi nízka. Ako sme predpokladali, expresia telomerázy sa počas ontogenetického vývinu znižovala, pričom hlavné zastúpenie mala wt/var A + var B. Na E14 a P8 boli tieto varianty exprimované najviac. Na P29 sme zaznamenali výrazný pokles ich expresie a najnižšia expresia bola na P90. U starších jedincov (P29 a P90) sme v mozgu pozorovali vysokú expresiu katalyticky neaktívnych izoforiem var C a var D. Tieto izoformy boli exprimované výrazne viac ako

suma wt + var A + var B. Podobne, vysokú expresiu neaktívnych izoforiem var B, C a D opísal aj (Kaneko et al., 2006) v mozgu 8-týždňových zvierat. Títo autori však nedokázali od seba odlíšiť izoformy var B, var C a var D. Expresia var A v postnatálnom období bola najvyššia na P8, na P29 a P90 klesá, podobne ako suma expresie wt/var A + var B. Obdobne s expresiou var C a var D bola aj expresia var A vyššia v mozgu starších jedincov.

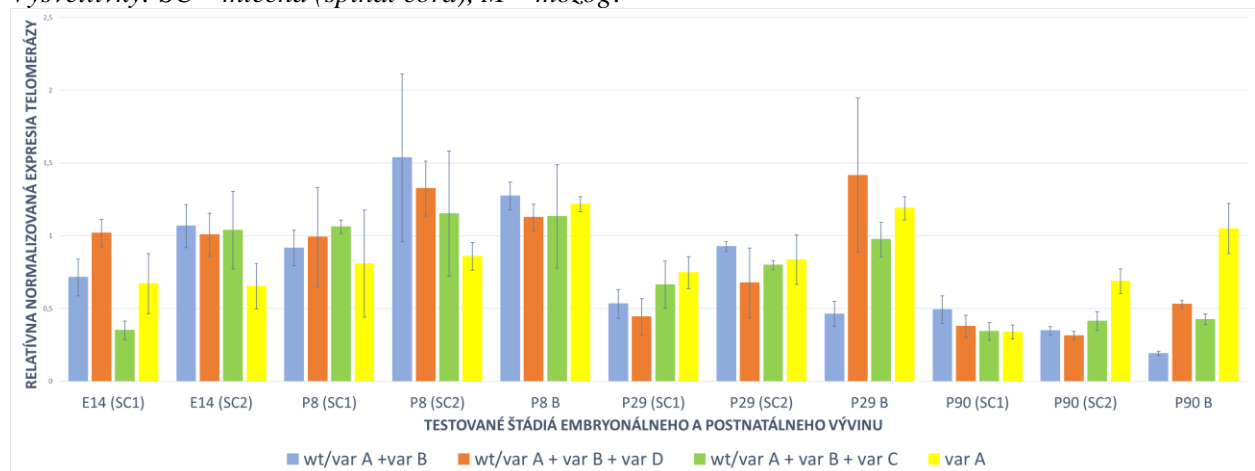
Obrázok 1 A – RT – PCR amplifikácia izoformy var A. B – RT-PCR amplifikácia izoforiem telomerázy var B, C a D spolu s wildtype telomerázou. C – RT-PCR amplifikácia izoformy var C. D – RT-PCR amplifikácia izoformy var D. Biele šípky označujú správny produkt

Vysvetlivky: SC – miecha (spinal cord), M – mozog, T – semenníky (testes).



Graf 1 Expresia telomerázy a jej izoforiem v rôznych štádiách ontogenetického vývinu

Vysvetlivky: SC – miecha (spinal cord), M – mozog.



Záver

V mieche a mozgu sme potvrdili expresiu wildtype telomerázy aj jej alternatívne zostrihaných izoforiem var A, var B, var C a var D vo všetkých skúmaných štádiách ontogenetického vývinu. Ako sme predpokladali, počas ontogenetického vývinu sme zaznamenali pokles expresie telomerázy. V mieche sa majoritne exprimovali katalyticky aktívne formy telomerázy (wildtype a var A). Katalyticky neaktívne izoformy var C a var D boli v mieche slabo exprimované. Avšak v mozgu starších jedincov na P29 a P90 prevyšovali svojou expresiou wt/var A + var B. Analýza a charakterizácia expresie konkrétnych izoforiem telomerázy sú dôležité pre ďalšie štúdium neurálnych kmeňových buniek v mieche a to vďaka možnosti vytvorenia RNA sondy pre *in situ* hybridizáciu špecifickej konkrétne pre wildtype telomerázu. Vďaka tomu by bola možná presná identifikácia a lokalizácia buniek exprimujúcich katalyticky aktívny typ telomerázy spájaný s telomerázovou aktivitou.

Táto štúdia vznikla vďaka podpore projektov APVV-15-0239 a VVGS-PF-2019-1063.

Literatúra

1. **Hiyama E. and Hiyama K.** Telomere and telomerase in stem cells. *Br J Cancer* 2007; 96(7): 1020-1024.
2. **Kaneko R., Esumi S., Yagi T., Hirabayashi T.** Predominant expression of rTERTb, an inactive TERT variant, in the adult rat brain. *Protein Pept Lett* 2006; 13(1): 59-65.
3. **Košuth J., Farkašovská M., Mochnacký F., et al.** Selection of Reliable Reference Genes for Analysis of Gene Expression in Spinal Cord during Rat Postnatal Development and after Injury. *Brain Sci* 2019; 10(1): 6.
4. **Liu MY., Nemes A., Zhou QG.** The Emerging Roles for Telomerase in the Central Nervous System. *Front Mol Neurosci* 2018; 11: 160.
5. **Mathieu N., Pirzio L., Freulet-Marrière MA., et al.** Telomeres and chromosomal instability. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61(6): 641-656.

POKROČILÉ SONOGRAFICKÉ METODY V DIAGNOSTICE JATERNÍCH CHOROB**ADVANCED SONOGRAPHIC METHODS IN DIAGNOSIS OF LIVER DISEASES****V. Šmíd**

IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova Praha

Abstrakt

Ultrazvukové vyšetřovací metody v posledním desetiletí zaznamenaly překotný vývoj, který podporuje trend zavádění minimálně či zcela neinvazivních vyšetřovacích metod v diagnostice interních chorob. V oblasti hepatologie mezi takové metody patří měření tuhosti jaterní tkáně pomocí elastografie umožňující staging jaterní fibrózy, neinvazivní kvantifikace jaterní steatózy a v poslední době také hodnocení nekroinflamatorních změn. Všechny tyto metody vedou ke změně zavedených diagnostických postupů a ve svém důsledku významně snižují nutnost provedení jaterní biopsie. Jaterní elastografie se může dále uplatňovat v diagnostice ložiskových jaterních lézí, kvantifikaci portální hypertenze či v rámci hodnocení léčebného efektu.

Abstract

In the last decade, new ultrasound examination methods have been developed, which supports the trend of introducing minimally or completely non-invasive examination methods in the diagnosis of internal diseases. In the field of hepatology, such methods include the measurement of liver stiffness by elastography, non-invasive quantification of liver steatosis and, more recently, the evaluation of necroinflammatory changes. All these methods lead to a change in established diagnostic procedures and, as a result, significantly reduce the need for a liver biopsy. Hepatic elastography can be further used in the diagnosis of focal liver lesions, quantification of portal hypertension or in the evaluation of therapeutic effect.

Ultrazvukové vyšetřovací metody v posledním desetiletí zaznamenaly překotný vývoj, který podporuje trend zavádění minimálně či zcela neinvazivních vyšetřovacích metod v diagnostice interních chorob. V oblasti hepatologie mezi takové metody patří měření tuhosti jaterní tkáně pomocí elastografie umožňující staging jaterní fibrózy, neinvazivní kvantifikace jaterní steatózy a v poslední době také hodnocení nekroinflamatorních změn. Všechny tyto metody vedou ke změně zavedených diagnostických postupů a ve svém důsledku významně snižují nutnost provedení jaterní biopsie. Jaterní elastografie se může dále uplatňovat v diagnostice ložiskových jaterních lézí, kvantifikaci portální hypertenze či v rámci hodnocení léčebného efektu.

Největší skupinou pacientů s potenciálně pokročilým chronickým jaterním poškozením jsou jedinci s metabolickým syndromem. Více než polovina těchto pacientů (40 – 80 %) je postižena nealkoholovou tukovou chorobou jater (NAFLD – z ang. *non-alcoholic fatty liver disease*), která je považována za nejčastější chronické jaterní onemocnění současnosti. Má vysokou prevalenci nejen v běžné populaci (ve vyspělých zemích postihuje cca 20-30 % osob), ale především v rámci rizikových skupin – diabetiků, pacientů s dyslipidémií či obézních. Prostou steatózu již nelze považovat za zcela benigní onemocnění, tak jak tomu bývalo v minulosti. Minimálně 25 % těchto osob vykazuje známky nealkoholové steatohepatitidy, která nezářídka progreduje do jaterní fibrózy s následným vznikem cirhózy se všemi svými komplikacemi (portální hypertenze, hepatocelulární karcinom ad.). U těchto pacientů

představuje jaterní elastografie jednu z mála možností, jak jaterní fibrózu/cirhózu efektivně, rychle a neinvazivně vyhledat.

Ultrazvukové vyšetření je základní modalitou při diagnostice prosté jaterní steatózy. Její senzitivita při nízkém stupni steatózy je však nízká (cca 55 % při steatóze 10 – 19 %), významně stoupá až s tíží steatózy a při postižení více než 30 % hepatocytů steatózou senzitivita i specifita dosahuje přes 85 %. Proto byly vyvinuty další diagnostické nástroje k její detekci a zejména kvantifikaci. Jedná se především o tzv. CAP (Controlled Attenuation Parameter), dále ATI (Attenuation Imaging), UGAP (Ultrasound-Guided Attenuation Parameter) a ATT (Attenuation Coefficient), kterými lze steatózu nejen diagnostikovat, ale především také kvantifikovat.

Diagnostika nekroinflatorních změn, typických např. pro virové postižení či NAFLD, se nadále opírá o jaterní biopsii, která představuje „zlatý standard“. Její roli však částečně přebírají některé sérové /neinvazivní/ diagnostické nástroje a také pokročilé sonografické metody, např. měření viscoelasticity.

Tíže jaterní fibrózy je jediný nezávislý prediktor mortality na jaterní choroby a dlouhodobého celkového přežití. Určuje tudíž zásadním způsobem prognózu těchto pacientů. Umožňuje také stratifikaci z pohledu rizika vzniku hepatocelulárního karcinomu včetně zahájení jeho včasného ultrazvukového screeningu a screeningu jícnových varixů. Neinvazivita elastografie a její velmi dobrá reproducibilita také umožňuje hodnocení léčby (restaging) a je proto považována za optimální metodu v rámci dispenzarice pacientů s jaterními chorobami. Je také metodou vhodnou pro efektivní screening širší populace.

Z metod, které hodnocení jaterní tuhosti (z ang. *liver stiffness*) umožňují, je nejlépe validovanou tzv. transientní elastografie, která je považována za „zlatý standard“. Dále se v klinické praxi používají metody založené na ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) – point shear-wave elastografie (pSWE) a 2D shear-wave elastografie. Všechny tyto metody mají téměř shodné výsledky a jsou tedy metodami ekvivalentními k transientní elastografii. Jejich nespornou výhodou je implementace do standartního ultrazvukového přístroje, díky čemuž lze provést obě vyšetření (sonografii a elastografii) na jednom přístroji.

Jaterní elastografie má v současné době nezastupitelnou úlohu v péči o pacienty s virovými hepatitidami, u nichž zcela upozadila potřebu provedení iniciální jaterní biopsie, která bývala nutná v rámci posouzení tíže jaterní fibrózy. Stejně tak je využívána v péči o pacienty s autoimunitními jaterními onemocněními (autoimunitní hepatitida, primární sklerozující cholangitida, primární biliární cholangitida). Široce dostupná elastografická diagnostika se tak stala nezbytným předpokladem umožňujícím poskytování maximálně kvalitní péče pacientům s chronickými jaterními onemocněními.

Reference

Anstee QM., Targher G., & Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10 (6): 330-344.

Berzigotti A., De Gottardi A., Vukotic R., et al. Effect of meal ingestion on liver stiffness in patients with cirrhosis and portal hypertension. *PLoS One* 2013; 8 (3): e58742.

Bravo AA., Sheth SG., Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001; 344 (7): 495-500.

Brůha R., Dvořák K., Fejfar T., et al. Doručení postup České hepatologické společnosti ČLS JEP pro diagnostiku a léčbu Nealkoholové tukové choroby jater (NAFLD); 2019 <https://www.ces-hep.cz/file/602/naflid-dop-postup-chs.pdf>

Dietrich CF., Bamber J., Berzigotti A., et al. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version). *Ultraschall Med* 2017; 38 (4): e16-e47.

Dvořák K., Strítěský J., Petrtyl J., et al. Use of non-invasive parameters of non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in daily practice--an exploratory case-control study. *PLoS One* 2014; 9(10): e111551.

Ferraioli G., WongVW., Castera L., et al. *Ultrasound Med Biol* 2018; 44(12): 2419-2440.

Hernaez R., Lazo M., Bonekamp S., et al. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology* 2011; 54 (3): 1082-1090.

Chalasani N., Younossi Z., Lavine JE., et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018; 67(1): 328-357.

Kwok R., Choi KC., Wong GL., et al. Screening diabetic patients for non-alcoholic fatty liver disease with controlled attenuation parameter and liver stiffness measurements: a prospective cohort study. *Gut* 2015; 65(8): 1359-1368.

Marchesini G., Bugianesi E., Forlani G., et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37(4): 917-923.

Myers RP., Pollett A., Kirsch R., et al. Controlled Attenuation Parameter (CAP): a noninvasive method for the detection of hepatic steatosis based on transient elastography. *Liver Int* 2012; 32 (6): 902-910.

Tada T., Nishimura T., Yoshida M., Iijima H. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: new trends and role of ultrasonography. *J Med Ultrason* (2001) 2020; 47(4): 511-520.

Vernon G., Baranova A., Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34(3): 274-285.

Lipidomická analýza tukové tkáně u pacientů s ischemickou chorobou srdeční a diabetes mellitus 2. typu

Lipidomic analysis of adipose tissue in patients with ischaemic heart disease and type 2 diabetes

P. Tomášová^{1,2}, M. Čermáková¹, H. Pelantová¹, M. Vecka², H. Kratochvílová^{3,4}, M. Lipš⁵, J. Lindner⁶, P. Ivák⁴, I. Netuka⁴, B. Šedivá^{1,7}, M. Haluzík⁴, M. Kuzma¹

¹ Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha

² IV. interní klinika ILF UK a VFN v Praze

³ ÚLBLD VFN v Praze

⁴ IKEM Praha

⁵ Anesteziologicko-resuscitační klinika, ILF UK a VFN v Praze

⁶ II. chirurgická klinika – kardiovaskulární chirurgie IFL UK a VFN v Praze

⁷ Fakulta aplikovaných věd, ZČU Plzeň

Ischemická choroba srdeční (ICHS) je celosvětově jednou z nejčastějších příčin úmrtí. Je způsobena kornatěním tepen a následným nedostatečným zásobením myokardu kyslíkem a živinami. Rozvoj aterogenních plátů úzce souvisí s metabolismem lipidů. K progresy ICHS významným způsobem přispívá i přítomnost diabetes mellitus 2. typu a obesity.

Tuková tkáň je tvořena především z buněk tukové tkáně tkz. adipocytů, které obsahují ve své struktuře lipidové kapénky. Lipidové kapénky jsou tvořeny na svém povrchu vrstvou fosfolipidů a uvnitř kapénky jsou triacylglyceroly (TAG). Triacylglyceroly jsou známé jako zásobní zdroj energie. Další lipidy obsažené v adipocytech jsou v minoritním množství a nepřesahují 1 - 3 % z celkového množství lipidů.

Způsobem stanovení lipidů v tukové tkáni je pomocí necílené lipidomické analýzy pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detekcí pomocí hmotnostního spektrometru. Limitující při analýze byl vysoký obsah TAG v porovnání s minoritními lipidy. Z tohoto důvodu jsme vzorek rozdělili na dva alikvoty. První alikvot jsme měřili v původním složení a z druhého alikvotu jsme si oddělili pomocí tenkovrstvé chromatografie TAG. Tímto způsobem nám byla umožněna analýza navíc dalších 37 lipidových jednotek proti původním 169. Metodu jsme dále použili pro porovnání složení lipidů v podkožní tukové tkáni s epikardiální tukovou tkání. V další fázi jsme porovnali vliv onemocnění ICHS a DM2T na složení lipidů.

Podkožní tuková tkáň obsahovala signifikantně nižší množství některých fosfatidylcholinů a fosfalidylethanolaminů. Naopak obsahovala vyšší množství TAG. Domníváme se, že změna těchto lipidů je způsobena především menší velikostí lipidových částí v epikardiální tukové tkáni. Výsledky korespondují s předchozími pozorováními, že epikardiální tuková tkáň slouží především jako ochrana proti lipotoxicitě lipidů na tkáň myokardu.

Vliv ICHS a DM2T se projevoval na profilu lipidů často opačně. Výraznější změny byly pozorovány u epikardiální tukové tkáně. Zajímavé změny byly pozorovány v molekulách lipidů s mastnými kyselinami s lichým počtem uhlíků. Dále byl pozorován rozdíl v některých fosfolipidech a sfingolipidech. Výsledky potvrzují rozvíjející se subklinický zánět a pravděpodobnou mitochondriální disfunkci u adipocytu pacientů s ICHS.

MASTNÉ KYSELINY U NOVĚ DIAGNOSTIKOVANÉ CROHNOVY CHOROBY**FATTY ACIDS IN NEWLY DIAGNOSED PEDIATRIC CROHN'S DISEASE****M. Vecka^a, J. Schwartz^b, F. Stožický^b, R. Pomahačová^b, B. Staňková^a, E. Tvrzická^a, M. Kreslová^a, R. Zahálková^b, J. Sýkora^b***^aIV. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze, ^bPediatrická klinika LF UK v Plzni a FN Plzeň***Abstract**

The metabolism of fatty acid (FA) in Crohn disease (CD) have been insufficiently explored. Therefore, we sought to explore the plasma profiles of n-3 and n-6 polyunsaturated (PUFA) in newly diagnosed untreated active CD. We included 26 consecutive CD pediatric patients (<19 years) and 16 healthy controls (CON) into the study. The CD patients were characterized according to inflammatory markers, dietary histories, and the Pediatric Crohn Disease Activity Index (PCDAI). The profiles of plasma FAs in plasma lipid classes were analyzed by gas chromatography with FID detection.

Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein and fecal calprotectin (all $p < 0.001$) were significantly higher in CD vs. CON. Most changes were observed in plasma phospholipids (PL), such as higher content of n-3 and changes in n-6 long chain PUFA in CD group. The CD group had lower ratio of n-6/n-3 PUFA in PL ($p < 0.001$) and triacylglycerols ($p < 0.01$). Correlations of FAs content in plasma PL with disease activity scores of CD were also observed, positive for sum of MUFA as well as oleic acid (18:1n-9) (both $p < 0.01$).

Conclusions: The metabolism of PUFA is significantly altered even in treatment-naive newly diagnosed active pediatric CD, and content of major FAs in PL correlated with disease activity and inflammatory markers, thus contributing to the still unclear early disease pathogenesis.

Úvod

Mezi idiopatické střevní záněty (IBD) patří vedle Crohnovy choroby (CD) také ulcerativní kolitida (UC). Jsou to autoimunitní onemocnění s dosud neznámou etiologií, která postihují primárně gastrointestinální trakt. U přibližně čtvrtiny pacientů dojde k manifestaci onemocnění před dosažením 20. roku věku (Sýkora et al. 2018). Léčebné postupy jsou u Crohnovy choroby zaměřeny především na ukazatele aktivity zánětu. Důležitou roli při regulaci zánětlivé odpovědi hrají také působky odvozené od mastných kyselin (FA). Navíc byl zvýšený přísun živočišných tuků a vícenenasycených mastných kyselin třídy n-6 (PUFAn-6) v některých studiích spojován se zvýšenou prevalencí CD (Costea et al. 2014), PUFAn-3 oproti tomu mohou riziko vzniku CD snížit (Scoville et al. 2019). Profil mastných kyselin je u jedinců s CD v literatuře zmiňován pouze zřídka, u nově diagnostikované dětské populace data chybějí.

Pacienti a metodika

Do studie byly zahrnuty děti (<19 let) s nově diagnostikovanou CD (celkem 26), kontrolní skupinu (KON) tvořily děti sledované po menších chirurgických operacích, pravidelných preventivních prohlídkách nebo pro abdominální potíže nesouvisející s CD. Žádné z dětí ze skupiny KON nevykazovalo známky akutního zánětlivého onemocnění nebo chronické choroby a nepodstoupilo resekci střeva, dále nemělo pozitivní rodinnou anamnézu CD. Všichni účastníci studie pocházeli z prostředí s podobnými demografickými charakteristikami, vyplnili dietní dotazník; studie byla schválena etickou komisí a rodiče/zákonní zástupci

všech účastníků podepsali informovaný souhlas se studií. Vylučovací kritéria zahrnovala přidruženou organickou/metabolickou poruchu, předešlou diagnózu IBD, těžkou kolitidu s intenzivní léčbou, léčbu léky a suplementací PUFA.

Nutriční dotazník zaměřený na přísun energie, tuků, SFA, MUFA i PUFA byl analyzován pomocí software NutriPro (<http://Nutripro.cz>).

Diagnostika CD se opírala o revidovaná kritéria ESPGHAN (Levine et al. 2014) a pařížskou klasifikaci (Levine et al. 2011). Pro hodnocení aktivity CD byl použit index aktivity CD u dětí (PCDAI) (Hyams et al. 2005). Standardní biochemická vyšetření zahrnovala stanovení C-reaktivního proteinu, fekálního kalprotektinu a bylo též hodnocena erytrocytární sedimentace. Mastné kyseliny ve vzorcích plazmy byly stanoveny po extrakci lipidů (Folch et al. 1957) a rozdělení lipidových tříd pomocí TLC, převedeny na FAME a stanoveny pomocí plynové chromatografie s plamenoionizační detekcí (Vecka et al. 2002). Data jsou uváděna jako průměr ± směrodatná odchylka (SD). Analýzy byly provedeny v prostředí Statistica CZ ver.12 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

Výsledky a diskuze

V základních charakteristikách se skupina CD od kontrolní skupiny nelišila, parametry zánětu byly u skupiny CD výrazně zvýšené (všechna $p < 0,001$) (tabulka 1). Hodnocení nutričních lipidových parametrů neodhalilo rozdíly mezi oběma skupinami (tabulka 2).

Tabulka 1 Základní charakteristika sledovaných souborů

Parametr	Kontroly (n = 16)	CD (n = 26)
pohlaví (žena/muž)	7/9	12/14
věk (roky)	15 [14-17]	15 [13-16]
BMI (kg.m ⁻²)	17,9 [16,2-20,1]	17,8 [15,1-20,6]
fekální kalprotektin (mg/g)	100 [100-101]	1638 [730-1800]***
C-reaktivní protein (mg/l)	1 [1-1]	15 [5-45]***
ESR 1h (mm)	7 [3-9]	30 [24-48]***
ESR 2h (mm)	12 [9-16]	68 [51-100]***

*data jsou uváděna ve formátu medián [25.-75. percentil]; ESR – erytrocytární sedimentace, Mann-Whitney test: *** - $p < 0,001$*

Profil mastných kyselin byl analyzován ve třech majoritních třídách – fosfolipidech (PL), triacylglycerolech (TAG) a cholesteryl esterech (CE) (tabulka 3). Ve třídách PL a TAG jsme našli zvýšené zastoupení PUFAn-3 ve skupině CD, které bylo způsobeno vyššími podíly kyseliny dokosaheptaenové (DHA, 22:6n-3) i eikosapentaenové (EPA, 20:5n-3). Vícenenasycené mastné kyseliny třídy n-6 (PUFAn-6) vykazovaly komplikovanější změny – plazmatické PL u skupiny CD obsahovaly více kyseliny arachidonové (AA, 20:4n-6) a méně kyseliny linolové (LA, 18:2n-6), které jsme zaznamenali méně také ve třídě CE. Změny v obou třídách PUFA se odrazily v poměru PUFAn-6/PUFAn-3, který byl nižší u pacientů s CD v třídách PL ($p < 0,001$) i TG ($p < 0,01$). Změny v zastoupení mononenasycených mastných kyselin (MUFA) zahrnovaly hlavně kyselinu olejovou (18:1n-9), která byla méně zastoupena v PL u skupiny CD, a zvýšený obsah kyseliny cis-vakcenové (18:1n-7) v PL a CE (obě $p < 0,05$). Podíl nasycených masných kyselin (SFA), hlavně kyseliny palmitové a stearové, byl ve skupině CD nižší v porovnání s osobami kontrolní skupiny ve třídě PL ($p < 0,001$).

Tabulka 2 Obsah tuků v dietě

Parametr	Kontroly (n = 16)	CD (n = 26)
celkem energetický příjem (kJ)	7920,6 (726,6)	8351,7 (656,4)
celkem tuky (g) (En %)	58,5 (16,6) 28,8 (2,0)	61,8 (18,8) 27,3 (2,0)
celkem SFA (g) (En %)	21,1 (8,9) 9,9 (3,6)	25,1 (9,6) 11,5 (4,0)
celkem MUFA (g) (En %)	14,8 (8,1) 7,1 (2,8)	13,1 (7,4) 5,8 (2,1)
celkem PUFA (g) (En %)	5,1 (1,6) 2,4 (0,8)	6,7 (1,9) 2,1 (1,0)
celkem PUFA n-3 (g)	0,3 (0,2)	0,5 (0,3)
celkem PUFA n-6 (g)	1,4 (1,0)	1,7 (1,1)

*En% - procenta energetického příjmu; data jsou uváděna ve formátu průměr (SD) denního příjmu
SFA – nasycené mastné kyseliny, MUFA – mononenasycené mastné kyselina, PUFA – vícenenasycené mastné kyseliny*

Vyšší podíl PUFA n-3 (ALA i DHA) a nižší podíl PUFA n-6 byl popsán u dospělých (Esteve-Comas et al. 1992) i pro inaktivní formu CD (Esteve-Comas et al. 1993). U dětí literatura zmiňuje nižší zastoupení PUFA n-6 spolu s vyššími podíly ALA (Socha et al. 2005). Tyto výsledky nejsou ve shodě s našimi, ale u zmíněných studií byly prováděny analýzy již léčených pacientů. Vyšší podíl PUFA n-3 ve zkoumaných lipidových třídách u našich pacientů může být způsoben nižší metabolizací/utilizací PUFA n-3 v různé protizánětlivé působky, jako rezolvin, maresiny, případně protektiny (Serhan et al. 2014), a naopak směřováním metabolismu PUFA n-6 do tvorby prozánětlivých látek. Vyšší podíl AA/LA a nižší zastoupení kyseliny olejové byly pozorovány ve vzorcích střevní mukosy a faeces u pacientů s CD (Fernández-Banares et al. 1997, Jansson et al. 2009). Naši pacienti s CD měli mírnou až vysokou aktivitu nemoci. Negativní korelace mezi mírou aktivity nemoci a obsahem PUFA n-6, EPA ve třídě TAG jsou ve shodě s vyšším zastoupením těchto mastných kyselin ve skupině CD vůči kontrolní skupině a podporují mechanismus zvýšené poptávky po substrátech tvorby mediátorů během nemoci. Scoville a spol. pozorovali také inverzní vztah mezi obsahem LA (PUFA n-6) a aktivitou nemoci, ale pro obsah EPA uvádějí pozitivní korelaci (Scoville et al. 2019). Pouze malé změny u MUFA mohou odrážet pouze slabé vztahy mezi MUFA a aktivitou CD u dospělých s CD (Perreault et al. 2014). Parametry zánětu byly ve shodě s literaturou (Daniluk et al. 2019) u CD zvýšeny, ovšem bez výrazných vztahů mezi obsahem jednotlivých mastných kyselin v rámci skupiny CD (data neuvedena).

Výsledky této studie naznačují zhoršenou metabolizaci/utilizaci PUFA u nově diagnostikovaných dětských pacientů s CD. Obsah PUFA v plazmatických fosfolipidech koreluje s klinickým obrazem nemoci a je ve vztahu k parametrům zánětu. Nevyvážený podíl PUFA tříd n-6 a n-3 může souviset s patofyziologickými mechanismy CD, obzvláště zánětem.

Tabulka 3 Zastoupení mastných kyselin v lipidových třídách plazmy

Mastná kyselina ^a	fosfolipidy		triacylglyceroly		cholesteryl estery	
	kontrolní skupina	CD	kontrolní skupina	CD	kontrolní skupina	CD
14:0	0,3 [0,2-0,3]	0,2 [0,1-0,2]***	2,1 [1,5-2,4]	1,0 [0,7-1,5]**	0,6 [0,5-0,7]	0,4 [0,4-0,6]
16:0	31,6 [30,7-33,0]	29,5 [27,1-30,4]**	28,2 [27,0-29,1]	25,7 [24,1-27,5]	11,4 [10,6-11,8]	12,3 [10,9-13,6]
16:1n-9	0,1 [0,1-0,1]	0,1 [0,1-0,1]	0,8 [0,8-1,0]	0,6 [0,5-0,6]***	0,5 [0,4-0,5]	0,5 [0,4-0,5]
18:0	16,0 [14,8-17,5]	14,2 [13,6-15,0]*	3,1 [2,7-3,5]	3,3 [2,6-4,2]	0,9 [0,7-1,2]	0,7 [0,6-0,8]
18:1n-9	12,1 [11,6-13,5]	11,2 [10,5-11,9]*	41,3 [40,0-43,2]	42,9 [40,6-44,4]	21,1 [20,3-21,8]	22,8 [20,1-26,5]
18:1n-7	1,5 [1,3-1,7]	1,8 [1,7-2,0]*	2,3 [2,1-2,5]	2,6 [2,3-2,7]	0,8 [0,8-0,9]	1,5 [1,3-1,8]***
18:2n-6	24,0 [21,5-24,6]	21,2 [19,6-22,8]*	15,5 [14,0-17,0]	16,1 [13,4-18,0]	55,8 [53,1-56,6]	51,4 [49,3-54,1]**
18:3n-3	0,2 [0,1-0,3]	0,2 [0,1-0,3]	0,9 [0,8-0,9]	0,7 [0,5-0,9]	0,5 [0,5-0,8]	0,4 [0,3-0,6]
20:2n-6	1,1 [0,8-1,3]	0,3 [0,3-0,5]***	0,4 [0,4-0,5]	0,2 [0,1-0,2]***	0,1 [0,1-0,1]	0,1 [0,0-0,1]
20:3n-6	3,1 [2,9-3,4]	3,2 [2,7-3,7]	0,3 [0,3-0,3]	0,3 [0,2-0,3]	0,6 [0,6-0,7]	0,8 [0,7-1,1]***
20:4n-6	8,2 [6,8-8,6]	12,2 [10,5-13,3]***	0,5 [0,4-0,6]	1,5 [1,0-1,9]***	3,5 [3,0-4,9]	5,1 [3,1-7,7]
20:5n-3	0,3 [0,1-0,4]	0,6 [0,4-0,7]***	0,04 [0,03-0,05]	0,11 [0,07-0,17]***	0,13 [0,07-0,18]	0,10 [0,05-0,27]
22:4n-6	0,17 [0,14-0,19]	0,43 [0,33-0,50]***	0,04 [0,04-0,05]	0,18 [0,14-0,22]***	0,01 [0,01-0,02]	0,01 [0-0,02]
22:5n-6	0,09 [0,07-0,11]	0,32 [0,25-0,37]***	0,02 [0,01-0,02]	0,12 [0,08-0,17]***	0,01 [0-0,01]	0,01 [0-0,02]
22:5n-3	0,31 [0,22-0,36]	0,83 [0,73-1,00]***	0,04 [0,03-0,04]	0,27 [0,21-0,33]***	0,01 [0,01-0,03]	0,01 [0-0,04]
22:6n-3	0,7 [0,5-0,7]	2,8 [2,5-3,5]***	0,03 [0,02-0,03]	0,3 [0,2-0,4]***	0,06 [0,05-0,09]	0,02 [0-0,06]
Σsatur	48,6 [48,1-49,2]	43,4 [42,2-44,2]***	32,7 [31,6-34,7]	30,1 [28,0-32,0]	13,1 [12,3-13,3]	13,4 [11,9-15,1]
Σmono	14,7 [14,0-16,3]	13,7 [13,0-14,6]	48,6 [47,0-50,6]	48,7 [46,0-51,5]	24,8 [23,6-25,6]	27,5 [24,0-30,8]
Σn-6	35,9 [33,3-36,6]	38,4 [35,2-39,2]	17,2 [15,6-18,6]	18,7 [15,3-21,3]	61,2 [60,2-63,5]	57,0 [54,3-63,1]
Σn-3	1,3 [1,2-1,7]	4,5 [4,2-5,5]***	1,0 [0,9-1,1]	1,4 [1,1-1,8]***	0,9 [0,6-1,1]	0,7 [0,4-1,0]
Σn-6/Σn-3	25,5 [20,9-28,5]	8,4 [7,0-9,6]***	15,8 [14,3-22,4]	13,4 [10,6-15,1]**	71,5 [56,5-99,9]	94,2 [64,5-129,6]

CD – Crohnova choroba; Σ – suma, hodnoty jsou ve formátu průměr (25.-75.percentil) (mol%), t-test: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, označování řetězců mastných kyselin je ve formátu C:n-x, kde C – počet uhlíků v molekule, n – počet dvojných vazeb, x – pozice první dvojně vazby od methylového konce.

Práce byla podpořena granty PROGRES Q39, PROGRES Q25 and RVO-VFN64165

Literatura

Costea I., Mack DR., Lemaitre RN., et al. Interactions between the dietary polyunsaturated fatty acid ratio and genetic factors determine susceptibility to paediatric Crohn's disease. *Gastroenterology* 2014; 146: 929-931.

Daniluk U., Daniluk J., Krasnodebska M., et al. The combination of fecal calprotectin with ESR, CRP and albumin discriminates more accurately children with Crohn's disease. *Adv Med Sci* 2019; 64: 9-14.

Esteve-Comas M., Ramírez M., Fernández-Bañares F., et al. Plasma polyunsaturated fatty acid pattern in active inflammatory bowel disease. *Gut* 1992; 33: 1365-1369.

Esteve-Comas M., Nuñez MC., Fernández-Bañares F., et al. Abnormal plasma polyunsaturated fatty acid pattern in non-active inflammatory bowel disease. *Gut* 1993; 34: 1370-1373.

Fernández-Bañares F., Esteve –Comas M., Mané J., et al. Changes in mucosal fatty acid profile in inflammatory bowel disease and experimental inflammation. *Clinical Nutrition* 1997; 16: 177-183.

Folch J., Lees M., Sloan-Stanley GH., A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 1957; 226: 497-509.

Hyams J., Markowitz J., Otley A., et al. Evaluation of the pediatric Crohn disease activity index: a prospective multicenter experience. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 41: 416-421.

Jansson J., Willing B., Lucio M., et al. Metabolomics reveals metabolic biomarkers of Crohn's disease. *PLoS One* 2009; 4: e 63 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006386>

Levine A., Koletzko S., Turner D., et al. ESPGHAN revised Porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 795-806.

Levine A., Griffiths A., Markowitz J., et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: The Paris classification. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1314-1321.

Perreault M., Roke K., Badawi A., et al. Plasma Levels of 14:0, 16:0, 16:1n-7, and 20:3n-6 are Positively Associated, but 18:0 and 18:2n-6 are Inversely Associated with Markers of Inflammation in Young Healthy Adults. *Lipids* 2014; 49: 255-263.

Scoville EA., Allaman MM., Adams DW., et al. Serum polyunsaturated Fatty Acids Correlate with Serum Cytokines and Clinical Disease Activity in Crohn's Disease. *Sci Rep* 2019; 9: 2882.

Serhan CN. Systems approach to inflammation resolution: identification of novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. *J Thromb Haemost* 2009; Suppl 1: 44-48

Socha P., Ryzko J., Koletzko B., et al. Essential fatty acid depletion in children with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 573-577.

Sýkora J., Pomahačová R., Kreslová M., et al. Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 2741-2763.

Vecka M., Tvrzická E., Staňková B., Žák A., et al. Effect of column and software on gas chromatographic determination of fatty acids. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002; 770: 91-99.

OMEGA-3 MASTNÉ KYSELINY A KARDIOVASKULÁRNÍ ONEMOCNĚNÍ**OMEGA 3 FATTY ACIDS AND CARDIOVASCULAR DISEASE****M. Zeman, A. Žák, J. Macásek, B. Staňková, M. Vecka***IV. interní klinika, 1. LF UK a VFN v Praze, U Nemocnice 2, Praha 2, 128 01***Abstrakt**

Souvislost mezi množstvím a kvalitou tuku, požívaného ve stravě a vznikem různých chorobných stavů u člověka je známa již dlouhou dobu. Byla provedena řada experimentálních i klinických studií s cílem objasnit význam jednotlivých mastných kyselin pro lidské zdraví. V sedmdesátých létech minulého století pozorovali dánští výzkumníci Bang a Dyerberg u grónských Eskymáků ve srovnání s Dány nižší hladiny sérového cholesterolu a triglyceridů a současně nižší riziko infarktu myokardu, přesto, že jejich strava obsahovala méně ovoce a zeleniny a více nasycených tuků. Zjistili, že Eskymáci mají v lipidech násobně vyšší hladiny omega-3 mastných kyselin z ryb a mořských živočichů, tvořících podstatnou část jejich stravy. Tyto nálezy vedly k úsilí najít mechanismy příznivého ovlivnění rizik kardiovaskulárních chorob omega-3 mastnými kyselinami a znalostí využít v primární i sekundární prevenci těchto onemocnění. Přesto, že byla publikována v tomto smyslu již řada prací, nebylo ještě dosaženo úplného konsenzu. Nedávno byly publikovány výsledky studií REDUCE-IT a EVAPORATE, které by mohly přispět řešení problému. V práci jsou probrány kardioprotektivní mechanismy, kterými omega-3 mastné kyseliny kardiovaskulární riziko ovlivňují.

Abstract

The connection between both quantity and quality of ingested fat on one hand and human health, on other hand has been recognized many years ago. A number of clinical and experimental studies has been realized to find the significance of individual fatty acid classes in human health and disease. During the 1970s Danish researchers Bang and Dyerberg have observed low levels of plasma triglycerides jointly with very low incidence of ischemic heart disease and the complete absence of diabetes mellitus in Greenlandic Eskimos in comparison with Danish controls, though Eskimos consumed in their diet an excessive amounts of both animal protein and fat and little of the fruits and vegetables. The researchers have found that Eskimos had in their lipid classes much higher content of omega-3 fatty acids originated from fish and other seafood. These findings led to the efforts in understanding of mechanisms involved in favourable influence of omega-3 fatty acids on the cardiovascular risk. Though a number of clinical studies were carried out both in the primary and secondary prevention, the complete consensus about significance of omega-3 supplements use still is not reached. Recently published results of studies REDUCE-IT and EVAPORATE could contribute to shed light on solving his problem. Pleiotropic cardioprotective mechanisms of omega-3 fatty acids functioning are discussed in the work.

Úvod

Souvislost mezi množstvím tuků ve stravě i jejich kvalitativním složení a výskytem kardiovaskulárních onemocnění je známa již dlouhou dobu. Základy ke zkoumání těchto vztahů položil již v padesátých létech minulého století prof. Ancel Keys z minnesotské univerzity (Keys, 1957). Ve známé Studii sedmi zemí zjistil, že populace, které požívají velká množství nasycených tuků ve formě masa nebo mléčných produktů, mají větší úmrtnost na

koronární srdeční chorobu než populace, jejichž potrava obsahuje hlavně ryby, zeleninu, ovoce, ořechy a obiloviny. Byla formulována hypotéza, že nasycený tuk zvyšuje hladinu cholesterolu a důsledkem je zvýšený výskyt ICHS - „Diet-heart“ hypotéza (Sherwin, 1978). V průběhu dalších let byla provedena řada epidemiologických a klinických studií, které se snažily zjistit vliv jednotlivých tříd mastných kyselin na lidské zdraví s různými výsledky.

Největší pozornost je ve vztahu k riziku kardiovaskulárních onemocnění věnována vícenenasyceným mastným kyselinám řady omega-3 (omega-3 MK), které mají první dvojnou vazbu na třetím uhlíku, počítáno od metylového konce. Jedná se zejména o kyselinu alfa-linolenovou (18:3 n-3, ALA), přítomnou v olejích některých rostlin a kyselinu eikosapentaenovou (20:5 n-3, EPA) a dokosahexaenovou (22:6 n-3, DHA), které se nacházejí v tuku ryb. Již v 70. létech minulého století pozorovali dánští výzkumníci Bang a Dyerberg, že Eskymáci v Gronsku mají ve srovnání se stejně starými Dány nižší hladiny sérového cholesterolu a triglyceridů, přesto, že jejich strava obsahovala méně ovoce a zeleniny a více nasycených tuků. Eskymáci měli současně nižší riziko infarktu myokardu (Dyerberg, 1978). V lipidových třídách Eskymáků byly zjištěny násobně vyšší hladiny omega-3 MK, pocházející z ryb a mořských živočichů, kteří tvořili podstatnou část stravy Eskymáků. Tyto nálezy vedly k úsilí najít vztah vztahu mezi omega 3 MK a výskytem ICHS a využít získané poznatky v léčbě a prevenci ICHS i dalších kardiovaskulárních onemocnění. Přesto, že byla publikována již řada prací, sledujících význam podávání omega 3 MK s cílem příznivě ovlivnit kardiovaskulární riziko v primární či sekundární prevenci, nebylo ještě dosaženo úplného konsenzu a zůstává k objasnění řada kontraverzí.

Starší studie s omega-3 mastnými kyselinami

Kromhout et al. (1985) v epidemiologické studii našli, že úmrtnost na ICHS byla u osob, které ve stravě požívaly alespoň 30 g ryb denně (jedno až dvě rybí jídla týdně), více než o 50 % nižší ve srovnání s osobami, které ryby nejedly (Kromhout, 1985). Později byly prováděny studie, sledující vliv suplementů omega-3 nebo ryb, na kardiovaskulární onemocnění. Výsledky byly příznivé, většinou u osob v sekundární prevenci. Např. ve studii DART (Diet and Reinfarction Trial) byl u mužů po prodělaném infarktu myokardu, kteří jedli tučnou rybu 2 x týdně, pozorován za dva roky pokles celkové mortality o 29 % (Burr, 1989). Ve studii GISSI (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico)–Prevenzione bylo dokumentováno, že u mužů po IM vedlo podávání malé dávky omega 3 MK (1g/den) k významnému poklesu celkové mortality a náhlé smrti. Vliv na pokles náhlé smrti byl statisticky významný již po 4 měsících léčby a vliv na kardiovaskulární a koronární smrt byl významný za 6 – 8 měsíců trvání studie (Marchioli, 2002). V Japonsku byla provedena studie JELIS (Japan EPA lipid intervention study), kde přidání 1800 mg of EPA ke statinu u nemocných s hypercholesterolémií (celkový cholesterol > 6,5 mmol/l) vedlo v podskupině nemocných v sekundární prevenci k statisticky významnému poklesu hlavních koronárních příhod (MACE) o 19 % (p = 0,048), v podskupině primární prevence činil tento pokles 18 %, ale nedosáhl statistické významnosti (Yokoyama, 2007). V dalších letech byla provedena řada studií, jejichž výsledky účinnost PUFA n-3 v prevenci kardiovaskulárních onemocnění nepodporovaly. Např. studie OMEGA, ve které byl pacientům po IM podáván 1 g omega-3 acid ethyl esterů (460 mg EPA, 380 mg DHA) jako přídatek k léčbě, odpovídající současným guidelines, takže 81 % pacientů již bylo léčeno statinem. Po 1 roce sledování nepřinesla suplementace uvedenou dávkou PUFA n-3 významný benefit z hlediska náhlé srdeční smrti, celkové mortality a MACE (Rauch, 2010). Ve studii ORIGIN (The Outcome Reduction with an Initial Glargine Intervention) nevedla suplementace 1 g omega 3 MK denně k redukci kardiovaskulárních příhod u nemocných s vysokým rizikem (ORIGIN Trial Investigators, 2012). V jiné studii, prováděné praktickými lékaři v Itálii také nepřineslo

podávání 1 g omega 3 MK ve srovnání s olivovým olejem osobám s více rizikovými faktory významný pokles kardiovaskulárních příhod (*Roncaglioni, 2013*). Studie VITAL (randomizovaná, placebem kontrolovaná 2x2 faktoriál omega 3 MK 1 g/den a vitamin D3 (2000IU/den) měla za cíl zjistit, zda omega 3 MK a vitamin D3 jsou účinné v primární prevenci KVO a nádorů v populaci 25871 amerických mužů (≥ 50 roků) a žen (≥ 55 roků). Medián trvání léčby byl 5,3 roků. Suplementace PUFA n-3 nevedla ke statisticky významnému poklesu primárního sledovaného cíle (složeného ukazatele hlavních kardiovaskulárních příhod – IM, iktu, kardiovaskulární mortality) avšak byla spojena s významným poklesem celkových IM, perkutánních intervencí a fatálních IM (*Manson, 2020*). V jiné velké studii ASCEND (A Study of Cardiovascular Events in Diabetes), zařazeno 15480 diabetiků, kteří dostávali buď (840 mg EPA + DHA denně) nebo olivový olej v průměru 7,4 roků. 75 % osob v obou větvích bylo léčeno statiny. Primárním sledovaným cílem byla první vážná cévní příhoda a během 7,4 let nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi oběma skupinami. Podrobnější analýzy ovšem prokázaly významně méně úmrtí na cévní příhody a trend k poklesu rizika koronární smrti u osob suplementovaných omega 3 MK (*Bowman, 2018*)

Novější studie s omega-3 mastnými kyselinami

V nedávno zveřejněných výsledcích předčasně ukončené studie STRENGTH u pacientů s velmi vysokým kardiovaskulárním rizikem (prokázané aterosklerotické onemocnění, diabetes mellitus + další rizikový faktor, jako kouření cigaret, hypertenze, vysoké CRP), kteří dostávali statin a další obvyklou léčbu, nedosáhlo přidání 4 g omega 3 (EPA + DHA) ovšem ve formě karboxylové kyseliny ve srovnání s kukuřičným olejem, obsahujícím zejména PUFA a MFA, významného rozdílu ve výskytu MACE (*Nicholls, 2020*).

Významným milníkem ve studiu účinků PUFA n-3 na riziko kardiovaskulárních onemocnění bylo zveřejnění výsledků studie REDUCE-IT (Reduction of Cardiovascular Events with Icosapent Ethyl-Intervention Trial), ve které podávání vysoce purifikovaného icosapent ethylesteru (IPE) v denní dávce 4 g významně snížilo riziko kardiovaskulární smrti, infarktu myokardu, iktu, hospitalizace pro nestabilní anginu pectoris nebo koronární revaskularizaci u 8170 rizikových pacientů (měli kardiovaskulární onemocnění nebo diabetes mellitus) kteří již byli léčeni statinem (*Bhatt, 2019*). Průměrná hladina TG byla u těchto nemocných 2,44 mmol/l, průměrná hladina LDL-C 1,93 mmol/l. První ischemické příhody poklesly o 25 % ($P = 0.00000001$) a celkové (první a následné) o 31 % ($P = 0.000000004$) (*Bhatt, 2019*), přičemž byly pozorovány konzistentní benefity u řady předem specifikovaných podskupin, včetně primární a sekundární prevence. Předem specifikovaná podskupina 3146 pacientů randomizovaných v USA prokázala přinejmenším stejný prospěch z léčby jako celá populace, mortalita u osob randomizovaných k IPE klesla o 30 % ($P = 0.004$) (*Bhatt, 2020*). Z výsledků dlouhodobého sledování vyplývala možnost, že IPE by mohla zpomalovat rychlost vzestupu LDL-C s věkem, který je pravděpodobně způsoben postupným poklesem rychlosti clearance LDL z oběhu. Léčba IPE prokázala příznivé efekty nezávisle na výchozích hladinách TG, včetně asi 10 % pacientů s normálními hladinami TG. To ukazuje, že na významném efektu podávání EPA se podílí kromě snížení TG ještě další mechanismy. EPA má významné účinky na stabilizaci membrány, které mohou částečně vysvětlit pokles úmrtnosti z kardiovaskulárních příčin (o 20 %), pokles náhlé srdeční smrti (o 31 %) a srdeční zástavy (o 48 %). Ve srovnání s placebem byl ve skupině léčené IPE zjištěn významně vyšší výskyt nové fibrilace/flutteru síní (5,3 % vs. 3,9 %), frekvence závažných vedlejších účinků, vedoucích k ukončení účasti ve studii se však mezi sledovanými skupinami nelišila. Po dvouletém sledování v léčené skupině poklesla hladina CRP o 13,9 %, zatímco v placebové skupině stoupla o 32,2 %. Následné analýzy výsledků studie REDUCE-IT užitím vícečetných

statistických metod odhalily, že IPE významně snížil výskyt prvních, následných i celkových ischemických příhod (Bhatt, 2019). Další významnou studií, provedenou v USA byla studie EVAPORATE (Effect of Vascepa on Improving Coronary Atherosclerosis in People With High Triglycerides Taking Statin Therapy), ve které byl sledován vliv přidání 4 g IPE denně na aterosklerotické pláty u pacientů léčených statiny po dobu 18 měsíců. Byla použita metoda multidetektorové počítačové tomografie (MDCT). Šlo o nemocné s koronární aterosklerózou (jedna nebo více stenoz s $\geq 20\%$ zúžením), s hladinou TG 1,52 – 5,63 mmol/l a LDL-C 1,03 – 2,97 mmol/l, bylo mezi nimi 70 % diabetiků. Primárním sledovaným cílem bylo sledování tzv. LAP plátů (*Low Attenuation Plaque*), které obsahují nekrotickou tkáň a jsou vysoce rizikové z hlediska vzniku koronárních příhod. Objem LAP plátů klesl o 17 %, zatímco v placebové skupině se téměř zdvojnásobil ($P = 0.0061$), objem ostatních plátů se ve skupině s EPA také regredoval, zatímco v placebové skupině došlo k progresi ($P < 0.01$). Je zajímavé, že na konci sledování nebyl mezi intervenovanou a placebovou skupinou rozdíl v hladině TG a LDL-C byl ve skupině s EPA dokonce vyšší (Budoff, 2020). Nálezy studií REDUCE-IT a EVAPORATE kontrastují s výsledky předchozích studií, ve kterých se nepodařilo prokázat kardiovaskulární prospěch z podávání kombinací EPA/DHA nebo dietních suplementů, které mohly ovšem obsahovat oxidované MK a nasycený tuk (Mason a Sherratt, 2017). Byly vzneseny námitky, že pozitivní výsledky studie REDUCE-IT by mohly být částečně ovlivněny tím, že minerální olej, sloužící jako placebo, by mohl zvyšovat hladinu markerů zánětu, aterogenních lipoproteinů, nebo i interferovat se vstřebáváním léků (Kastelein a Stroes, 2019). Nedávno byla ovšem publikována práce, která důkladně analyzovala vlivy minerálního oleje jako placeba a bylo zjištěno, že minerální olej je biologicky inertní a nemá žádné účinky na hladiny lipidů či ukazatele zánětu, pokud není užíván ve vysokých dávkách jako laxativum (Olshansky, 2020).

Mechanismy účinku omega-3 mastných kyselin na kardiovaskulární onemocnění

Protizáněťové a antioxidační působení

Záněť a oxidační stres jsou významnými faktory účastnící se v rozvoji aterosklerózy a jejích komplikací. Je třeba zdůraznit, že zvýšená tvorba volných kyslíkových a dusíkových radikálů, oxidační stres a záněť jsou vzájemně úzce propojeny. Poškození tkáně oxidačním stresem vede k aktivaci záněťové odpovědi, která může opět indukovat oxidační stres (Hulsmans a Holvoet, 2010). Oxidační stres aktivuje transkripční faktory, jako jsou AP-1 (*activator protein-1*) a jaderný faktor kappa B (NF- κ B) (Janssen-Heininger, 2008). To vede k následné akumulaci makrofágů a leukocytů v poškozeném místě (Yu, 2015) a tvorbě kyseliny arachidonové, chemokinů a prozáněťových cytokinů, jako ainterleukin (IL)-1 β , IL-6 a tumor necrotizační faktor (TNF)- α (Duque a Descoteaux, 2014). Oxidační stres tak spouští záněťovou odpověď, která pak zesiluje intenzitu oxidačního stresu (Hulsmans a Holvoet, 2010). Omega 3 MK snižují hladiny markerů zánětu, jako jsou např. oxidované částice LDL (ox-LDL), lipoproteinová lipáza A2 asociovaná s lipoproteiny (LpPLA2) i hs-CRP (Brinton, 2017). Jak EPA tak DHA inhibovaly v experimentálním modelu v makrofázích aktivaci inflamazomu NLRP3, následnou aktivaci kaspázy-1 a sekreci IL-1 β . Na těchto účincích se podílely GPR120 (G protein-coupled receptor 120) a GPR40 (Yan, 2013). Allaire et al. srovnávali účinky EPA a DHA na ukazatele zánětu u osob s abdominální obesitou a zjistili v případě DHA statisticky významný pokles plasmatického IL-6, IL-18, CRP, a TNF- α ve srovnání s kukuřičným olejem jako placebem. V případě EPA došlo k významnému poklesu jen u IL-6 (Allaire, 2016). Jak EPA tak DHA zvyšovaly expresi protizánětlivě působícího genu PPARA (Innes a Calder, 2018). EPA a DHA jsou prekurzory protizáněťových lipidových mediátorů (*specialized pro-resolving mediators, SPMs*), resolvinů, protektinů, maresinů (Serhan, 2014). V posledních letech byly publikovány důkazy o přímém kardioprotektivním působení těchto mediátorů. Resolviny E (RvE) jsou syntezovány z EPA

přes přeměnu 18-hydroxyeicosapentaenové kyseliny působením aspirinem-acetylované COX2 nebo CYP450 monooxygenázy. RvE1 inhibuje příliv leukocytů do místa zánětu, suprimuje tvorbu cytokinů a podporuje clearance zánětlivých buněk a debris (Serhan, 2014). V experimentu u krys podávání RvE1 vedlo k zmenšení velikosti infarktu myokardu (Keyes, 2010). U člověka je DHA přeměňována působením 15-lipoxygenázy (15-LOX) na protektiny, resolviny D a maresiny (Serhan, 2014). Resolvin RvD1 zvyšoval tvorbu SPMs ve slezině a indukoval v myokardu konverzi makrofágů na protizánětlivý fenotyp M2, čímž bránil rozvoji myokardiální fibrózy (Kain, 2015). Ve studii OMEGA-REMODEL (Omega-3 Acid Ethyl Esters on Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction) bylo podávání vysokých dávek PUFA n-3 (4 g denně po dobu 6 týdnů) pacientům s akutním IM spojeno s redukcí remodelace levé komory srdeční, myokardiální fibrózy a hladin sérových zánětlivých biomarkerů (Heydari, 2016).

Omega 3 MK působí proti oxidačnímu stresu. Supplementace omega 3 MK vedla k významnému poklesu hladiny malondialdehydu, zvýšení celkové antioxidační kapacity a aktivity glutathion-peroxidázy (Heshmati, 2019). EPA, na rozdíl od DHA inhibuje oxidaci lipoproteinů B (LDL, VLDL, malých denzních LDL) (Mason, 2016). Podávání EPA vedlo u pacientů po IM k úpravě působení lipoproteinu HDL, včetně jeho antioxidační a protizánětlivé funkce (Mason, 2018). V experimentu na lidských endoteliích částice HDL s inkorporovanou EPA inhibovala cytokinem stimulovanou expresi VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) a zvyšovala tvorbu resolvinu E3 (Tanaka, 2018). Vzhledem k odlišné prostorové struktuře je EPA do HDL inkorporována lépe než DHA, a proto působení EPA proti oxidaci HDL je výraznější (Sherratt a Mason, 2018).

Úprava endoteliální dysfunkce

Endotelie tvoří jednak výstelku vnitřní stěny cév a současně mají funkci endokrinního orgánu, který sekretuje řadu působků, sloužících udržování homeostázy cévní stěny. Za fyziologických podmínek endotelie zajišťují normální cévní tonus, působí antitromboticky a exprimují jen minimální množství mediátorů zánětu. Pojem endoteliální dysfunkce zahrnuje všechny maladaptivní změny ve funkčním fenotypu endoteliálních buněk, které jsou spojeny s rozvojem aterosklerózy podmíněných kardiovaskulárních onemocnění (Gimbrone Jr a García-Cardena 2016). Cévní stěna je propustnější, vzniká nerovnováha mezi vazodilatačními a vazokonstrikčními a také mezi protrombotickými a antitrombotickými působky a jsou exprimovány cytoadhezivní molekuly, podporující rozvoj aterosklerotických lézí. Endoteliální dysfunkce je charakterizována zejména poklesem dostupnosti vazodilatačních látek, zejména oxidu dusnatého (NO) a/nebo vzestupem endotelem tvořených vazokonstrikčních působků např. (Lerman, 1992). Podrobnější informace o patofyziologii endoteliální dysfunkce a rozvoji aterosklerotické léze viz citace (Ross, 199; Gimbrone Jr a García-Cardena, 2016). Vzhledem ke vztahu mezi endoteliální dysfunkcí a aterosklerózou není překvapující, že rizikové faktory endoteliální dysfunkce patří mezi rizikové faktory aterosklerózy a jejích komplikací (dyslipidémie, arteriální hypertenze, kouření cigaret, diabetes mellitus a další). V řadě experimentálních a klinických studií byly zjištěny příznivé účinky omega 3 MK na různé markery endoteliální dysfunkce. Pro klinické účely je jako zlatý standard užíváno vyšetření tokem indukované vazodilatace (flow-mediated dilation, FMD), kterou podávání omega 3 MK upravuje (Siasos, 2013). Byla popsána řada mechanismů působení PUFA n-3 při úpravě endoteliální dysfunkce: zvýšení dostupnosti NO, snížení exprese adhezivních molekul jako VCAM, ICAM, snížená exprese TNF α , PAI-1, tkáňového faktoru či regulace receptoru pro ox-LDL (pro přehled viz Golanski, 2021).

Antitrombotické a antikoagulační působení

Účinky omega 3 MK na agregaci destiček byly popsány již Dyerbergem a spol. (1978), kteří našli u grónských Eskymáků vyšší náchylnost ke krvácení a současně vyšší obsah EPA a snížený obsah AA ve fosfolipidech membrán (*Dyerberg, 1978*). AA v membránách působí jako prekurzor protromboticky a vasokonstrikčně působících prostaglandinů druhé řady a tromboxanu A₂ (TXA₂) po postupném působení fosfolipázy A₂, cyklooxygenázy-1 a tromboxansyntázy. EPA kompetuje s AA o tyto enzymy a je prekurzorem méně protrombotických a vasodilatačně působících eikosanoidů. Pokles agregace krevních destiček po podávání PUFA n-3 byl popsán v řadě malých studií (*Phang, 2013*), přesné mechanismy však dosud nejsou známy. Zdá se, že EPA a DHA snižují schopnost destiček katalyzovat tvorbu trombinu in vitro (*Larson, 2013*). Adili et al. zjistili u lidských destiček a na myším modelu arteriálního trombu, že vedle oslabení destičkami stimulované tvorby trombinu DHA/EPA také zmenšují objem trombu snížením počtu destiček na periferii trombu, aniž by byl zmenšen jejich počet v jádru trombu (*Adili, 2019*). Yamaguchi et al. nedávno popsali, že DHA a 12-LOX deriváty DHA (11-HDHA a 14-HDHA) inhibují kolagenem indukovanou agregaci destiček aktivací proteinkinázy A (*Yamaguchi, 2021*).

Ovlivnění ateromových plátů

Experimentální a klinické studie ukázaly, že EPA vedle příznivého ovlivnění endoteliální funkce, stabilizace membrán a protizánětového působení také příznivě ovlivňuje vlastnosti ateromových plátů z hlediska náchylnosti k tromboze (*Borrow, 2016; Sherratt a Mason, 2018 b; Nishio, 2014*). Ve studii CHERRY (Combination Therapy of Eicosapentaenoic Acid and Pitavastatin for Coronary Plaque Regression Evaluated by Integrated Backscatter Intravascular Ultrasonography), provedené v Japonsku u pacientů s ICHS přidání EPA ke statinu významně snižovala objem koronárních ateromových plátů hodnocenou IVUS (*Watanabe, 2017*). Obdobné výsledky přinesla výše zmíněná studie EVAPORATE (*Budoff, 2020*).

Antiarytmický efekt

Již ve studii GISSI-Prevenzione byl prokázán významný pokles celkové mortality a kardiovaskulární smrti již po relativně krátké době (1 rok) podávání (*Marchioli, 2002*), což poukázalo na pravděpodobný antiarytmický efekt omega 3 MK. Významnou funkcí omega 3 MK je stabilizace fluidity buněčné membrány, která umožňuje optimální funkci iontových kanálů a receptorů pro různé fyziologicky aktivní látky. Předpokládá se, že mechanismus, kterým omega 3 MK působí snížení rizika náhlé smrti, způsobené maligní arytmií, spočívá v inhibici sodíkových kanálů v sarkolemě, která stabilizuje elektrickou aktivitu a prodlužuje relativní refrakterní dobu kardiomyocytů (*Tribulová, 2017*). Studie, zkoumající význam podávání omega 3 MK u pacientů s defibrilátory implantovanými pro komorové tachykardie a metaanalýzy těchto studií ovšem nepřinesly jasné závěry (*Brouwer, 2009*). Byly také provedeny studie, sledující možné působení omega 3 MK proti riziku fibrilace síní rovněž s nejednoznačnými výsledky (*Mariani, 2013*). Navíc, v uvedených studiích REDUCE-IT a STRENGTH podávání omega 3 MK 3 bylo spojeno se zvýšeným výskytem fibrilace síní (*Bhatt, 2019; Nicholls, 2020*). Vztah podávání omega 3 MK k výskytu srdečních arytmií není zcela jasný a bude zřejmě třeba ještě provést velké intervenční prospektivní studie, které by pomohly vliv podávání omega 3 MK na výskyt srdečních arytmií objasnit.

Hypotriglyceridemické působení

Hypertriglyceridémie je považována za nezávislý rizikový faktor kardiovaskulárních onemocnění (*Austin, 2000; Sarwar, 2007*). Diskutována je otázka, zda snižování hladiny TG v plasmě koreluje s poklesem kardiovaskulární morbidity a mortality. Je prokázáno, že

zvýšená hladina lipoproteinů bohatých na TG (TGRLP), jako jsou remnantní částice VLDL nebo chylomikronů, je spojena se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních onemocnění i s celkovou mortalitou (Nordestgaard, 2016). Hladina těchto aterogenních lipoproteinů hraje významnou roli v tzv. reziduálním kardiovaskulárním riziku (Fruchart, 2014). Výsledky některých studií, jako studie REDUCE-IT či EVAPORATE (Bhatt, 2019; Budoff, 2020) ukázaly, že podávání vhodné formulace a dávky omega 3 MK může přispívat k významnému příznivému ovlivnění kardiovaskulárních onemocnění i u osob, léčených statiny. Tento efekt omega-3 MK je mimo jiné způsoben i jejich komplexním hypotriglyceridemickým působením. V játrech omega-3 MK několika mechanismy snižují syntézu TG a sekreci VLDL a na periférii zvyšují lipolýzu v TGRLP. Omega-3 MK jsou agonisty jaderných receptorů FXR a PPAR α (jejichž aktivace vede k poklesu tvorby apolipoproteinu C-III - inhibitoru lipoproteinové lipázy, resp. ke zvýšení peroxisomální a mitochondriální beta-oxidace mastných kyselin (Davidson 2006). Důsledkem je snížená dostupnost MK pro syntézu TG a zvýšená periferní clearance TGRLP. PUFA n-3 v játrech inhibují klíčový enzym pro syntézu TG diacylglycerol-acyltransferázu (DGAT) a podporují proteolytickou degradaci apolipoproteinu B (Pan, 2004). Snižují také expresi SREBP-1c s následným poklesem exprese lipogenních enzymů ACC (acetyl-koenzym A karboxyláza) a FAS (*fatty acid synthase*). V tukové tkáni inhibují hormon-senzitivní lipázu (HSL) s následným omezením toku volných MK do jater k syntéze TG (Zhao a Cheng, 2014). Celkově tedy omega-3 MK snižují syntézu TG a VLDL a sekreci VLDL z jater a zvyšují katabolismus VLDL a dalších TGRLP. Hypotriglyceridemický efekt je závislý na dávce a na výchozí hladině TG (Davidson, 2006). AHA (American Heart Association) ve svém doporučení z r. 2019 uvádí, že preskripce omega-3 MK (EPA + DHA nebo jen EPA) v dávce 4 g/ den je účinnou a bezpečnou volbou pro léčbu HTG v monoterapii nebo jako přídatek k jiným hypolipidemikům (Skulas-Ray, 2019).

Faktory ovlivňující výsledky podávání omega-3 MK v prevenci kardiovaskulárních onemocnění

Vliv bazálního kardiovaskulárního rizika na výsledky studií s PUFA n-3

Větší účinnost podávání omega-3 MK byla pozorována ve studiích s osobami v sekundární než v primární prevenci. V metaanalýze Alexandra et al. byl efekt podávání omega-3 MK větší u osob se zvýšeným TG nebo LDL-C (Alexander, 2017). Ve studii REDUCE-IT byl pozorován významný pokles ischemických příhod (fatálních i nefatálních) u pacientů léčených statinem, u kterých byly TG nalačno 1,52 – 5,64 mmol/l. To může mít velký klinický význam pro ovlivnění reziduálního rizika, jak naznačují nálezy studií s užitím kombinace statinu s inhibitorem PCSK9, dosahující výrazně poklesy LDL-C. Např. ve studii FOURIER, bylo po 36 měsících léčby s mediánem LDL-C 0,8 mmol/l kardiovaskulární riziko u diabetiků stále vysoké (výskyt MACE u 14,4 %) (Sabatine, 2017), což ukazuje na možný význam případného užití omega-3 MK do kombináční léčby u osob s vysokým rizikem.

Vliv dávky omega-3 MK

Účinnost omega-3 MK v prevenci kardiovaskulárních příhod je významně ovlivněna užitou dávkou, zřejmě je třeba dávky vyšší, než byla ve většině studií podávána, zejména v primární prevenci. Nízké dávky PUFA n-3 (0,65 g/den) k významnému poklesu hladiny plasmatických lipidů, ani fibrinogenu, faktoru VII, či srážlivosti krve nevedly (Lervang, 1993). Ve studii VITAL (Vitamin D and Omega-3 Trial) podávání 1 g PUFA n-3 denně v primární prevenci nevedlo k významnému poklesu MACE (Manson, 2020). Podobně ve studii

ASCEND (A Study of Cardiovascular Events in Diabetes) u diabetiků bez manifestovaného

kardiovaskulárního onemocnění nepůsobilo podávání 1 g omega-3 MK denně během sedmiletého sledování k poklesu výskytu závažných cévních příhod (Bowman, 2018). Uplatnění jednotlivých příznivých účinků omega-3 MK vyžaduje zřejmě jejich různou dávku. Vyšší dávky jsou nutné k dosažení efektu na proces zánětu, na agregaci destiček a na metabolismus lipoproteinů bohatých na TG (Toth, 2016). V naší práci podávání 3,6 g EPA/DHA denně pacientům s diabetickou dyslipidémií, již léčených kombinací statin-fibrát, vedlo k dalšímu snížení hladiny TG, snížení hladiny homocysteinu a snížení mikroalbuminurie (Zeman, 2006). V jiné studii podávání etylesterů EPA a DHA v dávce 3 g denně nemocným s aterogenní dyslipidémií, vedlo k významnému poklesu TG, VLDL, a podílu malých denzních LDL. (Vecka, 2012). Jak bylo popsáno výše, k významnému ovlivnění kardiovaskulárního rizika u nemocných, již léčených statiny, nebo i inhibitory PCSK9, zřejmě vede podávání samotné, vysoce purifikované EPA ve formě etylesteru v dávce 4 g/denně (Bhatt, 2019; Budoff, 2020).

Rozdíly v působení EPA a DHA

V pracích, porovnávajících účinky podávání DHA a EPA na kardiometabolické rizikové faktory bylo zjištěno, že DHA významně snižuje TG, zvyšuje velikost LDL částic, LDL-C a HDL-C (Mori, 2000; Egert, 2009; Allaire, 2016), koncentrace apolipoproteinu B ovlivňují stejně (Allaire, 2016). DHA byla účinnější v ovlivnění zánětových markerů (Allaire, 2016). Je zajímavé, že účinky samotné DHA na ovlivnění kardiovaskulárního rizika nebyly zatím v randomizovaných studiích zkoumány. Léčba EPA, na rozdíl od DHA přispívala k regeneraci dysfunkčních HDL-částic. Významně zvyšovala aktivitu antioxidantního enzymu paraoxonázy-1 a částice HDL obohacené EPA významně inhibovaly cytokiny indukovanou expresi VCAM-1 a zlepšovaly v makrofázích eflux cholesterolu (Tanaka, 2018). EPA tak pomáhají měnit „dysfunkční HDL-částice“ na „funkční“. Nishio et al. srovnávali efekt 1800 mg EPA přidané ke statinu (rosuvastatin) se samotným statinem, jeho dávka byla adjustována k dosažení LDL-C < 1,8 mmol/l na charakteristiky ateromových plátů u nemocných před perkutánní koronární intervencí a 9 měsíců po ní. U skupiny s EPA došlo k významnému zesílení fibrózní čepičky plátu, poklesu akumulace makrofágů, poklesu poměru EPA/DHA a hladiny pentraxinu-3 (Nishio, 2014). Výsledky dalších studií s ovlivněním ateromového plátu EPA byly uvedeny výše. Je zajímavé, jak malé rozdíly mezi EPA a DHA (dva uhlíky, jedna dvojná vazba) jsou provázány tak rozdílnými klinickými důsledky. Význam má zřejmě odlišná fyzikálně-chemická charakteristika molekul EPA a DHA, která vede k jejich zásadně odlišnému působení v biologické membráně (Mason, 2016).

Závěr

Farmakologické užití omega-3 MK významně zlepšuje kardiovaskulární prognózu, přičemž největší efekt je pozorován u pacientů v sekundární prevenci, v případě podávání vyšší dávky nejlépe samotné vysoce purifikované EPA ve formě etylesteru.

Práce byla podpořena výzkumnými projekty RVO VFN64165/2012 (MZ ČR) a PROGRES Q25 (1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy).

Literatura

Adili R., Voigt EM., Bormann JL., et al. In vivo modeling of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid-mediated inhibition of both platelet function and accumulation in arterial thrombi. *Platelets* 2019; 30(2): 271-279.

- Alexander DD., Miller PE., Van Elswyk ME., et al.** A metaanalysis of randomized controlled trials and prospective cohort studies of eicosapentaenoic and docosahexaenoic long-chain omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk, *Mayo Clin Proc* 2017; 92(1): 15-29.
- Allaire J., Couture P., Leclerc M., et al.** A randomized, crossover, head-to-head comparison of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid supplementation to reduce inflammation markers in men and women: the Comparing EPA to DHA (ComparED) Study. *Am J Clin Nutr* 2016; 104(2): 280-287.
- Austin MA., McKnight B., Edwards KL., et al.** Cardiovascular disease mortality in familial forms of hypertriglyceridemia: A 20-year prospective study. *Circulation* 2000; 101(24): 2777-2782.
- Bhatt DL., Steg PG., Miller M., et al.** REDUCE-IT Investigators. Effects of Icosapent Ethyl on Total Ischemic Events: From REDUCE-IT. *J Am Coll Cardiol* 2019; 73(22): 2791-2802.
- Bhatt DL., Miller M., Brinton EA., et al.** REDUCE-IT USA: results from the 3,146 patients randomized in the United States. *Circulation* 2020; 141(5): 367-375.
- Borow KM., Nelson JR., Mason RP.** Biologic plausibility, cellular effects, and molecular mechanisms of eicosapentaenoic acid (EPA) in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2015; 242(1): 357-366.
- Bowman L., Mafham M., Wallendszus K., et al.** Effects of n-3 fatty acid supplements in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2018; 379(16): 1540-1550.
- Bowman L., Mafham M., Stevens W.** ASCEND Study Collaborative Group. ASCEND: A Study of Cardiovascular Events in Diabetes: Characteristics of a randomized trial of aspirin and of omega-3 fatty acid supplementation in 15,480 people with diabetes. *Am Heart J* 2018; 198: 135-144.
- Brinton EA., Ballantyne CM., Guyton JR., et al.** Lipid Effects of Icosapent Ethyl in Women with Diabetes Mellitus and Persistent High Triglycerides on Statin Treatment: ANCHOR Trial Subanalysis. *J Womens Health (Larchmt)* 2018; 27(9): 1170-1176.
- Brouwer IA., Raitt MH., Dullemeijer C., et al.** Effect of fish oil on ventricular tachyarrhythmia in three studies in patients with implantable cardioverter defibrillators. *Eur Heart J* 2009; 30(7): 820-826.
- Budoff MJ., Bhatt DL., Kinninger A., et al.** Effect of icosapent ethyl on progression of coronary atherosclerosis in patients with elevated triglycerides on statin therapy: final results of the EVAPORATE trial. *Eur Heart J* 2020; 41(40): 3925-3932.
- Burr ML., Fehily AM., Gilbert JF., et al.** Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989; 2(8666): 757-761.
- Davidson MH.** Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol* 2006; 98(4A): 27i-33i.
- Duque GA., Descoteaux A.** Macrophage cytokines: Involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol* 2014; 5: 491.
- Dyerberg J., Bang HO., Stoffersen E., et al.** Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet* 1978; 2(8081): 117-119.
- Egert S., Kannenberg F., Somoza V., et al.** Dietary alpha-linolenic acid, EPA, and DHA have differential effects on LDL fatty acid composition but similar effects on serum lipid profiles in normolipidemic humans. *J Nutr* 2009; 139(5): 861-868.
- Fruchart JC., Davignon J., Hermans MP., et al.** Residual macrovascular risk in 2013: what have we learned? *Cardiovasc Diabetol* 2014; 13: 26.

- Gimbrone MA. Jr., García-Cardeña G.** Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res* 2016; 118(4): 620-636.
- Golanski J., Szymanska P., Rozalski M.** Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Metabolites on Haemostasis-Current Perspectives in Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci* 2021; 22(5): 2394.
- Heshmati J., Morvaridzadeh M., Maroufizadeh S., et al.** Omega-3 fatty acids supplementation and oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Pharmacol Res* 2019; 149: 104462.
- Heydari B., Abdullah S., Pottala JV., et al.** Effect of Omega-3 Acid Ethyl Esters on Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction: The OMEGA-REMODEL Randomized Clinical Trial. *Circulation* 2016; 134(5): 378-391.
- Hulsmans M.; Holvoet P.** The vicious circle between oxidative stress and inflammation in atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2010; 14(1-2): 70-78.
- Innes JK., Calder PC.** The Differential Effects of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Cardiometabolic Risk Factors: A Systematic Review. *Int J Mol Sci* 2018; 19(2): 532.
- Janssen-Heininger YMW., Mossman BT., Heintz NH., et al.** Redox-based regulation of signal transduction: Principles, pitfalls, and promises. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(1): 1-17.
- Kain V., Ingle KA., Colas RA., et al.** Resolvin D1 activates the inflammation resolving response at splenic and ventricular site following myocardial infarction leading to improved ventricular function. *J Mol Cell Cardiol* 2015; 84: 24-35.
- Kastelein JJP., Stroes ESG.** FISHing for the miracle of eicosapentaenoic acid. *N Engl J Med* 2019; 380(1): 89-90.
- Keyes KT., Ye Y., Lin Y., et al.** Resolvin E1 protects the rat heart against reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299(1): H153-H164.
- Keys A.** Diet and the epidemiology of coronary heart disease. *JAMA* 1957; 164(17): 1912-9.
- Kromhout D., Bosschieter EB., de Lezenne Coulander C.** The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med* 1985; 312(19): 1205-1209.
- Larson MK., Tormoen GW., Weaver LJ., et al.** Exogenous modification of platelet membranes with the omega-3 fatty acids EPA and DHA reduces platelet procoagulant activity and thrombus formation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2013; 304(3): C273-C279.
- Lerman A., Sandok EK., Hildebrand FL. Jr., Burnett JC. Jr.** Inhibition of endothelium-derived relaxing factor enhances endothelin-mediated vasoconstriction. *Circulation* 1992; 85(5): 1894-1898.
- Lervang HH., Schmidt EB., Moller J., et al.** The effect of low-dose supplementation with N-3 polyunsaturated fatty-acids on some risk markers of coronary heart-disease. *Scand J Clin Lab Inv* 1993; 53(4): 417-423.
- Manson JE., Bassuk SS., Cook NR., et al.** Vitamin D, Marine n-3 Fatty Acids, and Primary Prevention of Cardiovascular Disease: Current Evidence. *Circ Res* 2020; 126(1): 112-128.
- Marchioli R., Barzi F., Bomba E., et al.** GISSI-Prevenzione Investigators. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. *Circulation* 2002; 105(16): 1897-903.

- Mariani J., Doval HC., Nul D., et al.** N-3 polyunsaturated fatty acids to prevent atrial fibrillation: updated systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Heart Assoc* 2013; 2(1): e005033.
- Mason RP., Sherratt SC., Jacob RF.** Eicosapentaenoic acid inhibits oxidation of ApoB-containing lipoprotein particles of different size in vitro when administered alone or in combination with atorvastatin active metabolite compared with other triglyceride-lowering agents. *J Cardiovasc Pharmacol* 2016; 68(1): 33-40.
- Mason RP., Jacob RF., Shrivastava S., et al.** Eicosapentaenoic acid reduces membrane fluidity, inhibits cholesterol domain formation, and normalizes bilayer width in atherosclerotic-like model membranes. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1858(12): 3131-3140.
- Mason RP., Sherratt SC.** Omega-3 fatty acid fish oil dietary supplements contain saturated fats and oxidized lipids that may interfere with their intended biological benefits. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 483(1): 425-429.
- Mason RP., Dawoud H., Jacob RF., et al.** Eicosapentaenoic acid improves endothelial function and nitric oxide bioavailability in a manner that is enhanced in combination with a statin. *Biomed Pharmacother* 2018; 103: 1231-1237.
- Mori TA., Burke V., Puddey IB., et al.** Purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids have differential effects on serum lipids and lipoproteins, LDL particle size, glucose, and insulin in mildly hyperlipidemic men. *J Clin Nutr* 2000; 71(5): 1085-1094.
- Nicholls SJ., Lincoff AM., Garcia M., et al.** Effect of High-Dose Omega-3 Fatty Acids vs Corn Oil on Major Adverse Cardiovascular Events in Patients at High Cardiovascular Risk: The STRENGTH Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2020; 324(22): 2268-2280.
- Nishio R., Shinke T., Otake H., et al.** Stabilizing effect of combined eicosapentaenoic acid and statin therapy on coronary thin-cap fibroatheroma. *Atherosclerosis* 2014; 234(1): 114-119.
- Olshansky B., Chung MK., Budoff MJ., et al.** Mineral oil: safety and use as placebo in REDUCE-IT and other clinical studies. *Eur Heart J Suppl* 2020; 22(Suppl J): J34-J48.
- Origin Trial Investigators, Bosch J., Gerstein HC., et al.** n-3 fatty acids and cardiovascular outcomes in patients with dysglycemia. *N Engl J Med* 2012; 367(4): 309-318.
- Pan M., Cederbaum AI., Zhang YL., et al.** Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. *J Clin Invest* 2004; 113(9): 1277-1287.
- Phang M., Lincz LF., Garg ML.** Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid supplementations reduce platelet aggregation and hemostatic markers differentially in men and women. *J Nutr* 2013; 143(4): 457-463.
- Rauch B., Schiele R., Schneider S., et al.** OMEGA, a randomized, placebo-controlled trial to test the effect of highly purified omega-3 fatty acids on top of modern guideline-adjusted therapy after myocardial infarction. *Circulation* 2010; 122(21): 2152-2159.
- Roncaglioni MC., Tombesi M., Avanzini F., et al.** n-3 Fatty acids in patients with multiple cardiovascular risk factors. *N Engl J Med* 2013; 368(19): 1800-1808.
- Ross R.** Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2): 115-126.
- Sabatine MS., Giugliano RP., Keech AC., et al.** Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2017; 376(18): 1713-1722.
- Sarwar N., Danesh J., Eiriksdottir G., et al.** Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation* 2007; 115(4): 450e8.
- Serhan C.** Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* 2014; 510(7503): 92-101.

- Sherratt SCR., Mason RP.** Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid have distinct membrane locations and lipid interactions as determined by x-ray diffraction. *Chem Phys Lipids* 2018; 212: 73-79.
- Sherratt SCR., Mason RP.** Eicosapentaenoic acid inhibits oxidation of high density lipoprotein particles in a manner distinct from docosahexaenoic acid. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 496(2): 335-338.
- Sherwin R.** Controlled trials of the diet-heart hypothesis: some comments on the experimental unit. *Am J Epidemiol* 1978; 108(2): 92-99.
- Siasos G., Tousoulis D., Oikonomou E., et al.** Effects of Omega-3 fatty acids on endothelial function, arterial wall properties, inflammatory and fibrinolytic status in smokers: a cross over study. *Int J Cardiol* 2013; 166(2): 340-346.
- Skulas-Ray AC., Wilson PWF., Harris WS., et al.** American Heart Association Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; and Council on Clinical Cardiology. Omega-3 Fatty Acids for the Management of Hypertriglyceridemia: A Science Advisory From the American Heart Association. *Circulation* 2019; 140(12): e673-e691.
- Tanaka N., Irino Y., Shinohara M., et al.** Eicosapentaenoic acid-enriched high-density lipoproteins exhibit anti-atherogenic properties. *Circ J* 2018; 82(2): 596-601.
- Toth PP.** Triglyceride-rich lipoproteins as a causal factor for cardiovascular disease. *Vasc Health Risk Manag* 2016; 12: 171-183.
- Tribulova N., Bacova BS., Benova TE., et al.** Omega-3 Index and Anti-Arrhythmic Potential of Omega-3 PUFAs. *Nutrients* 2017; 9(11): 1191.
- Vecka M., Dušejovská M., Staňková B., et al.** N-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of atherogenic dyslipidemia. *Neuroendocrinol Lett* 2012; 33(Suppl.2): 87-92.
- Watanabe T., Ando K., Daidoji H., et al.** CHERRY study investigators. A randomized controlled trial of eicosapentaenoic acid in patients with coronary heart disease on statins. *J Cardiol* 2017; 70(6): 537-544.
- Yamaguchi A., Stanger L., Freedman CJ., et al.** DHA 12-LOX-derived oxylipins regulate platelet activation and thrombus formation through a PKA-dependent signaling pathway. *J Thromb Haemost* 2021; 19(3): 839-851.
- Yan Y., Jiang W., Spinetti T., et al.** Omega-3 fatty acids prevent inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Immunity* 2013; 38(6): 1154-1163.
- Yokoyama M., Origasa H., Matsuzaki M., et al.** Japan EPA lipid intervention study (JELIS) Investigators. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet* 2007; 369(9567): 1090-1098. Erratum in: *Lancet* 2007; 370(9583): 220.
- Yu XH., Zheng XL., Tang CK.** Nuclear Factor- κ B Activation as a Pathological Mechanism of Lipid Metabolism and Atherosclerosis. *Adv Clin Chem* 2015; 70: 1-30.
- Zeman M., Žák A., Vecka M., et al.** N-3 fatty acid supplementation decreases plasma homocysteine in diabetic dyslipidemia treated with statin-fibrate combination. *J Nutr Biochem* 2006; 17(6): 379-384.
- Zhao M., Chen X.** Eicosapentaenoic acid promotes thermogenic and fatty acid storage capacity in mouse subcutaneous adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 450(4): 1446-1451.

PATOGENEZE A KLINICKÝ VÝZNAM HYPOLIPIDEMIÍ**PATHOGENESIS AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF HYPOLIPIDEMIAS****Aleš Žák, Adolf Slabý, Miroslav Zeman, Marek Vecka, Barbora Staňková***IV. interní klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze***Abstrakt**

Hypolipidémie (hypocholesterolémie, hypotriglyceridémie) je biochemický příznak charakterizovaný poklesem LDL-cholesterolu ($\leq 1,30$ mmol/l) a/nebo triglyceridů ($\leq 0,50$ mmol/l), který není zapříčiněn specifickou hypolipidemickou léčbou. Příčinou primární, resp. familiární hypobetalipoproteinémie (HBL) jsou mutace genů *MTTP*, *APOB* a *PCSK9*. Těžké formy familiární hypocholesterolémie se vyskytují u tří onemocnění s podobným klinickým obrazem (homozygotů familiární hypobetalipoproteinémie, abetalipoproteinémie, choroby z retence chylomikronů). Familiární kombinovaná hypolipidémie (FCHL) je podmíněna mutací (se ztrátou funkce) genu pro *ANGPTL3/4*. Čistá familiární hypotriglyceridémie byla popsána u familiárního deficitu apoCIII. Naproti tomu sekundární, získané hypocholesterolémie a hypotriglyceridémie jsou častější a vyskytují se u řady chorob – kritických stavů, akutních a chronických onemocnění jaterního parenchymu, těžké malnutrice, malasimilačního syndromu, tyreotoxikózy, terminálního selhání ledvin, solidních nádorů i hematologických malignit. Hypolipidémie dále provází akutní i chronické infekce i neuropsychiatrická onemocnění (jako jsou deprese a suicidiální tendence). Hypolipidémie je důležitým příznakem, protože může být projevem zatím nediagnostikovaného závažného onemocnění (i), u kritických stavů a chronických onemocnění jater hypolipidémie koreluje s prognózou onemocnění (ii), hypocholesterolémie zvyšuje riziko některých onemocnění (intracerebrální krvácení, vznik DM2T, osteoporotické fraktury u DM, suicidia, depresivních poruch) (iii).

Abstract

Hypolipidemia (hypocholesterolemia, hypotriglyceridemia) is a biochemical symptom characterized by a decrease in LDL-cholesterol (≤ 1.30 mmol/L) and/or triglycerides (≤ 0.50 mmol/L), which is not caused by specific hypolipidemic treatment. The causes of the primary, resp. familial hypobetalipoproteinemia (HBL) are mutations in the *MTTP*, *APOB* and *PCSK9* genes. Severe forms of familial hypocholesterolemias occur in three diseases with a similar clinical picture (homozygous familial hypobetalipoproteinemia, abetalipoproteinemia, chylomicron retention disease). Familial combined hypolipidemia (FCHL) is caused by a mutation (with a loss of function) in the *ANGPTL3/4* gene. Pure familial hypotriglyceridemia has been reported in familial apoCIII deficiency. In contrast, secondary, acquired hypocholesterolemia and hypotriglyceridemia are more common and occur in a number of diseases - critical physical illness, acute and chronic hepatic parenchymal disease, severe malnutrition, malassimilation syndromes, thyrotoxicosis, end stage renal disease, solid tumors and hematological malignancies. Hypolipidemia is also accompanied by acute and chronic infections as well as neuropsychiatric diseases (such as depression, and suicidal tendency). Hypolipidemia is an important symptom because it can be a manifestation of as yet undiagnosed serious disease (i), in critical illness and chronic liver disease hypolipidemia correlates with the prognosis of disease (ii); hypocholesterolemia increases the risk of some diseases (intracerebral hemorrhage, DM2T, osteoporotic fractures in DM, suicide, depressive disorders) (iii).

Definice a klasifikace

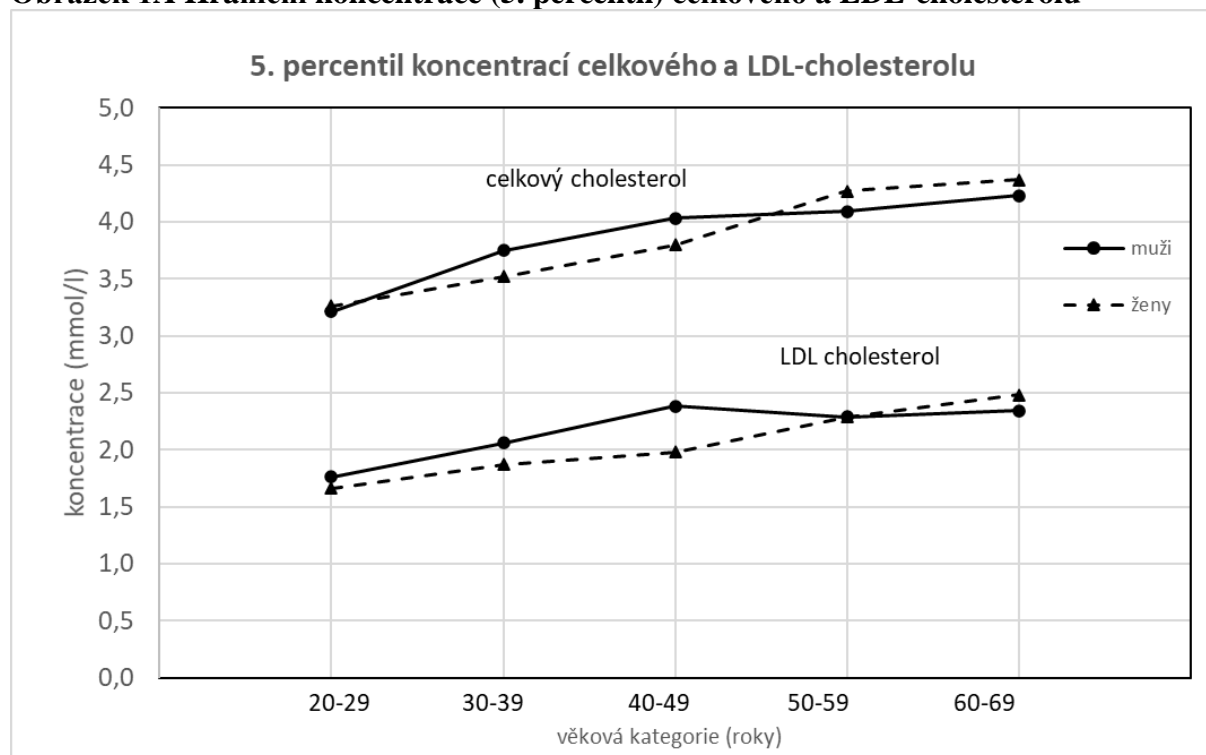
Hypolipidémie jako laboratorní příznak je definována poklesem koncentrace plazmatických lipidů, a to celkového cholesterolu (TC, total cholesterol), cholesterolu v lipoproteinu o nízké hustotě (LDL-C) a/nebo triglyceridů (TG) a apolipoproteinu B100 (apoB100), pod 5. percentil koncentrací zdravých osob daného věku a pohlaví. V užším slova smyslu se termínem hypolipidémie označují snížené koncentrace plazmatických lipidů, které nejsou důsledkem specifické hypolipidemické léčby. Obrázky 1A/1B ukazují 5. percentil plazmatických lipidů a apo B100 v populaci USA indoevropského původu. Jiní autoři uvádějí hraniční hodnoty pro hypolipidémii podstatně nižší (tabulka 1).

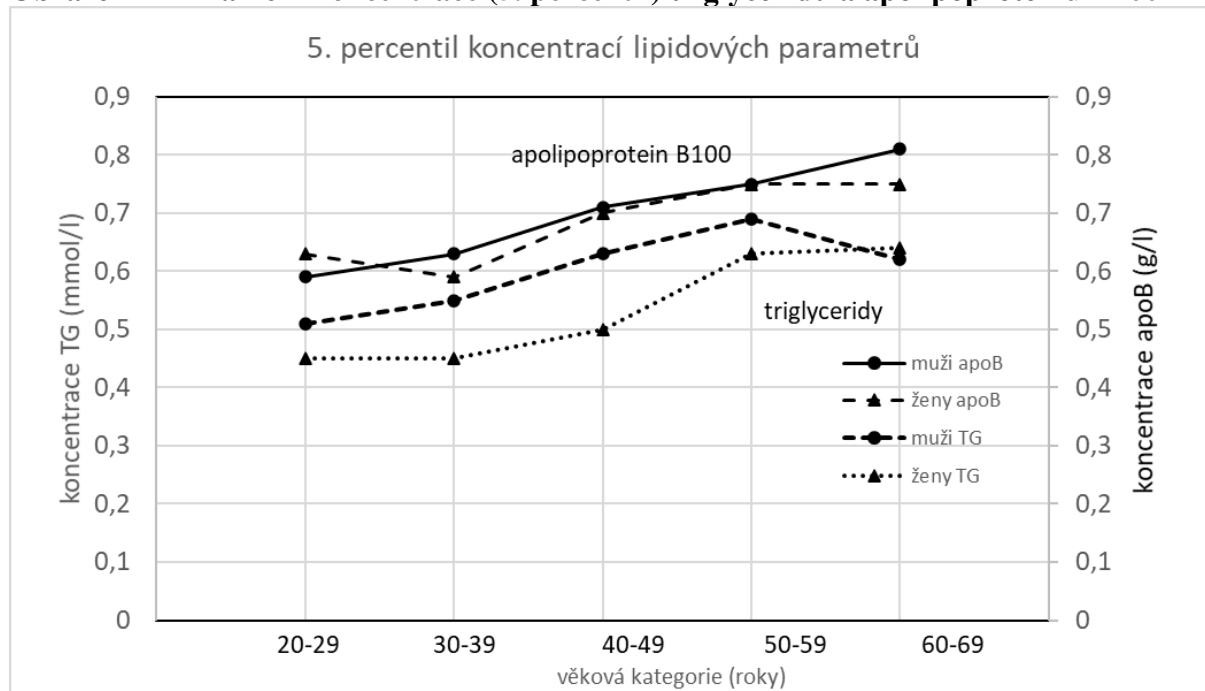
Tabulka 1 Hraniční koncentrace celkového-, LDL-cholesterolu, triglyceridů a apoB100

lipidový ukazatel	1	2
Celkový cholesterol	2,58	2,90
LDL-cholesterol	1,03	1,20
Triglyceridy	0,78	0,45
Apolipoprotein B	data NA	0,50

Poznámky a zkratky: koncentrace lipidů jsou vyjádřeny v mmol/l, apolipoproteinu B100 v g/l; NA – není k dispozici; ^{1/}volně podle Boemeke et al. 2018; ^{2/} ÚKBLD VFN v Praze (zdroj 2).

Obrázek 1A Hraniční koncentrace (5. percentil) celkového a LDL-cholesterolu



Obrázek 1B Hraniční koncentrace (5. percentil) triglyceridů a apolipoproteinu B100

Z klinického a klinicko-biochemického hlediska lze hypolipidémie třídit na hypocholesterolémie (při snížení TC, resp. LDL-C), hypotriglyceridémie (při snížení TG) a smíšené hypolipidémie (při současném snížení TC i TG). Snížení koncentrací LDL-C i TG bývá provázeno poklesem koncentrace apolipoproteinu apoB100, který je strukturální komponentou hlavních lipoproteinů transportujících cholesterol, tj. LDL, a lipoproteinů, jejichž základ tvoří TG, tj. VLDL (VLDL, very low density lipoprotein). Z etiologického hlediska se rozeznávají hypolipidémie vrozené (geneticky podmíněné) a získané. Přehled geneticky podmíněných hypolipidemických syndromů ukazuje tabulka 2. V tabulce 3 jsou uvedeny chorobné stavy podmiňující získaný deficit LDL-C a TG. Uvádí se, že vrozené hypocholesterolémie jsou spojeny s poklesem apoB100 pod 5. percentil, souběžně s poklesem LDL-C. U získaných hypolipidemických syndromů mohou být koncentrace apoB100 vyšší a pohybovat se mezi 5. a 25. percentilem.

Patofyziologie

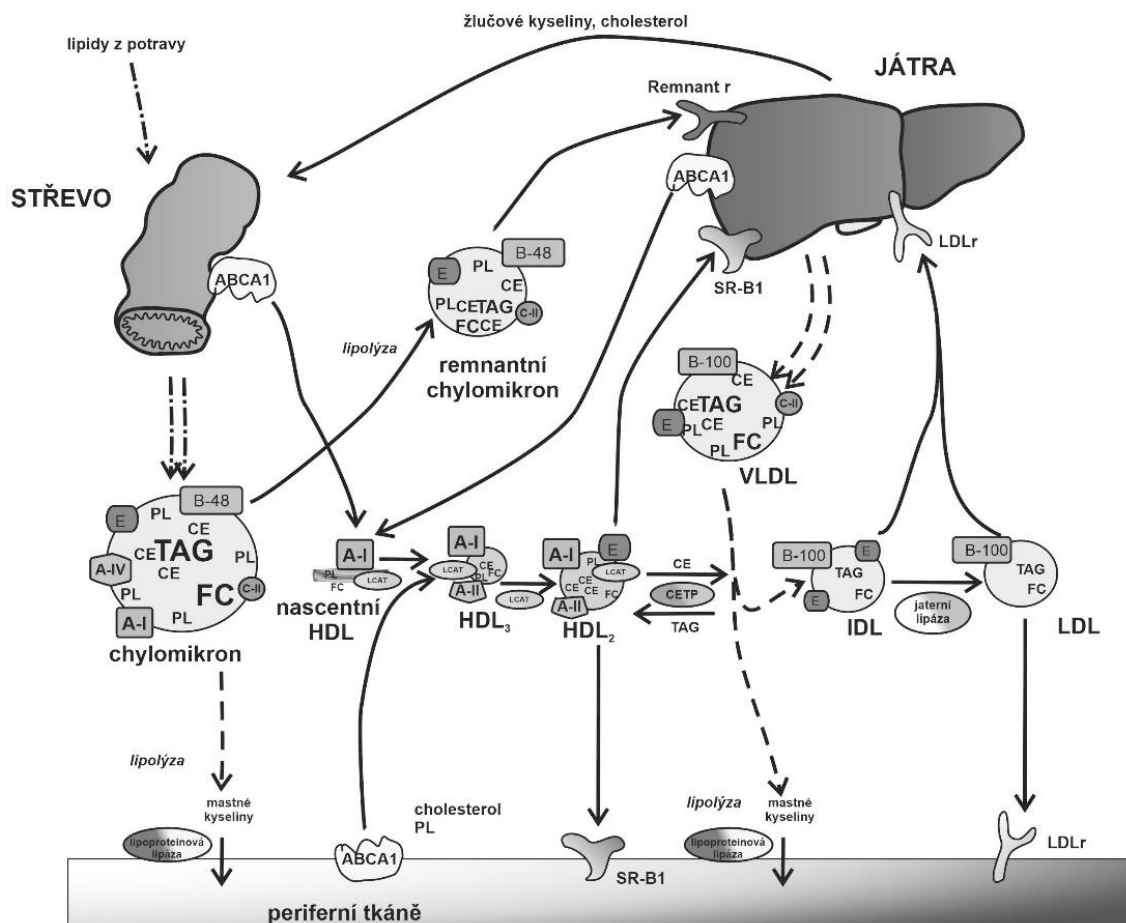
Obecné poznámky

U zdravých lačnicích osob jsou TC a TG nerovnoměrně distribuovány v LP třídách plazmy. Chylomikrony (CM) transportují méně než 5 % TC, VLDL obsahuje 13 - 15 % TC, LDL transportuje zhruba 70 % TC, a zbytek (15 - 17 %) je obsažen v lipoproteinu o vysoké hustotě (HDL, high density lipoprotein). Stopy TG jsou součástí CM (< 5 %), VLDL přenášejí zhruba 55 - 60 % TG, ve třídě LDL a IDL (intermediate density lipoprotein) jsou TG obsaženy v 25 - 30 %, částice HDL transportují zhruba 11 % celkových plazmatických TG.

Plazmatická koncentrace LDL-C je výsledkem dynamické rovnováhy mezi syntézou LDL z VLDL a jejich katabolismem. Koncentrace TG závisí na syntéze TG játry, jejich vstřebávání enterocyty a sekrecí do plazmy prostřednictvím VLDL (resp. CM) na straně jedné, a katabolismem VLDL a LDL na straně druhé. Detailní přehled metabolismu lipoproteinů bohatých na TG (VLDL a CM), přeměny LDL i reverzního transportu cholesterolu (tj. transportu cholesterolu z periferních tkání do jater) podávají specializované monografie.

Zjednodušeně lze konstatovat, že k poklesu koncentrace LDL-C (resp. apoB100) a TG dojde jednak při snížení nebo zpomalení jejich syntézy a sekrece do plazmy, jednak při urychlení jejich katabolismu, a rovněž kombinací obou mechanismů. Stručný nástin metabolismu lipoproteinů je uveden na obrázku 2.

Obrázek 2 Nástin metabolické přeměny lipoproteinů



Komentář: Enterocyty secernují lipidy (převážně exogenní TG a exogenní cholesterol) ve formě CM. Působením lipoproteinové lipázy (LPL) i endoteliální lipázy (EL) a za spoluúčasti řady kofaktorů – tj. apoCII, apoCIII, apoAV, angiopoetinu podobných proteinů typu 3 a 4 (Angptl, Angiopoetin-like protein) jsou TG chylomikronů hydrolyzovány, zmenšuje se jejich objem, z HDL přijímají apoE, ztrácí apoCII a apoCIII a prostřednictvím apoE se váže na specifické jaterní receptory, kterými jsou protein podobný LDL-receptoru (LRP, LDL-receptor related protein) a proteoglykany typu heparan sulfátu. Endogenně syntetizované TG jsou z jater secernovány ve formě VLDL. Působením LPL, za spoluúčasti řady kofaktorů jsou hydrolyzovány TG ve VLDL, který je přeměněn na lipoprotein o intermediární hustotě (IDL, intermediate density lipoprotein). Částice IDL se dalším působením LPL, jaterní lipázy (HL, hepatic lipase), acyltransferázy lecitin: cholesterolu (LCAT, lecithin: cholesterol acyltransferase), transferových proteinů pro estery cholesterolu (CETP, cholesteryl ester transfer protein) dále mění; snižuje se obsah TG, obohacuje se o estery cholesterolu (CE) a konečným produktem je částice LDL. Částice IDL jsou katabolizovány v játrech po vazbě na LRP a vazbě na LDL-receptory (LDL-R). Katabolismus LDL probíhá ze 75 % vazbou na jaterní LDL-R a zbývající eliminace LDL (cca 25 %), probíhá v extrahepatálních tkáních, převážně vazbou na zametací, „scavenger“, receptory. Navíc, játra i periferní tkáň jsou vybaveny receptory pro HDL, tzv. scavenger receptory typu B1 (SR B1).

Tabulka 2 Familární hypolipidemické syndromy

Choroba/syndrom	Gen/dědičnost/produkt	Biochemický fenotyp	Klinický obraz
Abetalipoproteinémie (ABL)	<i>MTTP</i> / AR/ <i>MTTP</i>	Chybění LDL, VLDL, CM, velmi nízké koncentrace vitaminů E, A, D, K; TG < 0,34 mmol/l; TC < 0,78 mmol/l; LDL-C a apoB – nelze detekovat	Variabilní: neprospívání, průjmy, malabsorpce; steatorea, progresivní neurologické a oční postižení; jaterní steatóza, deficit vitaminů rozpustných v tucích
Choroba z retence chylomikronů (CMRD)	<i>SAR1B</i> / AR/ <i>SAR1B</i>	Chybění CM, koncentrace LDL-C a apoB100 < 50. percentil referenčních hodnot TG – v normálních mezích	Variabilní: neprospívání, průjmy, steatoroe, progresivní neurologické abnormality; abdominální distenze
Familiární hypobetalipoproteinémie (FHBL) – typ I	<i>APOB</i> /AD/ zkrácené formy apoB	Heterozygoti – LDL-C 1,3 – 0,52 mmol/l; apoB100 <0,5 g/l (< 5. percentil); Homozygoti – jako ABL	Heterozygoti – asymptomatictí, vyšší výskyt NAFLD, elevace transamináz; u apoB < 48 – malabsorpce tuků; Homozygoti (složení heterozygoti) – stejný klinický obraz jako ABL
Familiární hypobetalipoproteinémie (FHBL) – typ II	<i>PCSK9</i> /AD/ <i>PCSK9</i>	Heterozygoti – 30-70% koncentrace LDL-C a apoB referenčních hodnot (tj. mírná až střední redukce LDL-C i apoB); Homozygoti – LDL-C cca 0,39 mmol/l	Není specifický, normální zdravotní vývoj, významně nižší riziko ASCVD
Familiární kombinovaná hypolipidémie (FCHL) LOF mutace <i>ANGPTL3</i>	<i>ANGPTL3</i> /AR/ <i>ANGPTL3</i>	Pokles koncentrace apoB i apoA lipoproteinů; panhypolipidémie, pokles LDL-C, HDL-C i TG.	Chybí specifický klinický fenotyp, resp. vazba na komorbidity; významně nižší riziko ASCVD
Familiární deficit apoCIII	<i>APOCIII</i> /AD/ApoCIII	Pokles lačných i postprandiálních TG o 30 – 60 %, vyšší koncentrace HDL-C	Nižší riziko ASCVD

Zkratky: ABL – abetalipoproteinémie; CMRD – chylomicron retention disease; FHBL – familiární hypobetalipoproteinémie, FCHL – familiární kombinovaná hypolipidémie; TC – celkový cholesterol; TG – triglyceridy, LOF – mutace se ztrátou funkce (loss of function); *MTTP* – mikrosomální triglyceridový transferový protein; CM – chylomikrony, VLDL – lipoprotein o velmi nízké hustotě; LDL- lipoprotein o nízké hustotě; *PCSK9* – gen pro pro-proteinovou konvertázu subtilisin kexin typu 9; *ANGPL3/4* – gen pro angiotensin podobný protein typu 3, NA – není k dispozici; AR – autosomálně recesivně; AD – autosomálně dominantně; NAFLD – nealkoholová steatóza jater; ASCVD – aterosklerotické kardiovaskulární choroby; *SAR1B* – transkript *SAR1B*, (volně podle Hooper a Burnett, 2014; Shapiro et al., 2018).

Tabulka 3 Získané hypolipidemické syndromy

- Agresivní hypolipidemická léčba
- Kritické stavy
 - akutní infarkt myokardu
 - těžké (poly)trauma
 - infekční i neinfekční SIRS
 - šokové stavy, popáleniny
- Onemocnění jaterního parenchymu
- Jaterní cirhóza
 - akutní steatóza jater těhotných
 - jaterní venostáza u srdečního selhání
- Striktní veganská dieta
- Těžká malnutrice
 - proteino-energetická malnutrice
 - mentální anorexie (s BMI < 13 kg/m²)
 - malnutrice s excesivně vyjádřenou zánětlivou odpovědí (viz kritické stavy)
- Malasimilační syndrom
 - maldigestce (chronická pankreatitida, atd.)
 - malabsorpce (primární a sekundární malabsorpční syndromy - celiakální sprue, syndrom krátkého střeva, syndrom bakteriálního přerůstání, atd.)
 - postižení terminálního ilea
 - Crohnova nemoc a Whippleova nemoc
 - stavy po resekci terminálního ilea
- Endokrinní a dědičné metabolické choroby
 - tyreotoxikóza
 - lysosomální stádivé choroby
 - Gaucherova nemoc typu 1
 - Niemannova Pickova nemoc typu C
- Terminální selhání ledvin (ESRD, end stage renal disease)
- Hematologická onemocnění
 - chronické anémie
- Nádorová onemocnění
 - solidní nádory
 - karcinomy plic, kolorekta, prostaty a ledvin; karcinomy urogenitálního traktu
 - maligní melanom
 - hematologické malignity/nádory krvetvorní tkáně
 - akutní leukémie (myeloidní a lymfoblastická)
 - myeloproliferativní novotvary (chronická myeloidní leukémie a další)
 - paraproteinémie (plasmocytom, MGUS – monoklonální gamapatie neurčeného významu)
- Akutní a chronické infekce
 - akutní infekce
 - komunitní pneumonie a infekce dolních dýchacích cest
 - brucelóza a leptospiróza
 - infekce virem Epsteinova a Baarova a infekce cytomegalovirem
 - viscerální leishmanióza
 - chronické infekce
 - tuberkulóza
 - virová hepatitida B a virová hepatitida C
 - infekce virem lidské imunodeficiency (HIV)
 - giardiáza
- Neuro-psychiatrická onemocnění
 - deprese, agresivní a suicidální chování;
 - generalizovaná úzkostná porucha a smíšená úzkostně-depresivní porucha
- Usilovné cvičení spojené s kalorickou restrikcí

U lidí je vylučování cholesterolu do žluče a jeho přeměna na žlučové kyseliny (BA, bile acids) jediným významným způsobem eliminace cholesterolu z organismu. Denně je vylučováno zhruba 1000 mg cholesterolu a 250 - 600 mg BA. Biliární cholesterol i BA pocházejí pouze menším dílem (z 10 - 30 %) z cholesterolu syntetizovaného *de novo*, větší část vzniká z cholesterolu transportovaného lipoproteiny. Významným zdrojem cholesterolu vyloučeného do žluče jsou estery cholesterolu (CE) obsažené v HDL, zatímco cholesterol určený pro syntézu BA pochází převážně z LDL.

Vrozené hypolipidemické syndromy

V **tabulce 2** jsou uvedeny nejčastější geneticky podmíněné hypolipidemické syndromy. Příčinou primární hypocholesterolemie, resp. hypobetalipoproteinémie (HBL) jsou mutace genů *MTTP*, *APOB*, *PCSK9* a *SAR1B*, které byly zjištěny zhruba u poloviny nemocných s primární HBL. Dosud neidentifikované geny, které mohou zapříčinit fenotyp familiární hypobetalipoproteinémie (FHBL), mají vazbu na lokusy chromosomu 3p21.1-22 a 13q. Další nedávnou objevenou mutací vedoucí k FHBL je mutace se ztrátou funkce (LOF, loss of function) v genu *IDOL* (inducible degrader of *LDLR*), jehož bílkovinný produkt IDOL je posttranskripčním regulátorem degradace LDL-receptoru (LDL-R). Těžké formy familiární hypocholesterolemie se vyskytují u tří onemocnění s podobným klinickým obrazem i léčbou. Jde o familiární hypobetalipoproteinémii (homozygoti, resp. složení heterozygoti), abetalipoproteinémii a chorobu z retence chylomikronů.

Familiární hypobetalipoproteinémie typ I (FHBL) je hereditární onemocnění s autosomálně kodominantním přenosem, zapříčiněné mutacemi v genu *APOB*. Je charakterizována poklesem apoB pod 5. percentil koncentrací pro daný věk a pohlaví a koncentracemi LDL-C v pásmu 0,52-1,30 mmol/l. Bylo popsáno celkem 60 mutací zkrácených (truncated) forem apoB v pásmu apoB2 až apoB89, které byly identifikovány jako příčina FHBL. Zkrácení označené číslicí značí procentuální délku nativní molekuly apoB100, tzn. apoB67 označuje 67 % délky amino-terminálního konce apoB100. U heterozygotů se nevyskytují koncentrace apoB 50%, ale 24%. VLDL obsahující zkrácené formy apoB jsou nejen zpomalně secerňovány, ale také urychleně katabolizovány. FHBL na podkladě mutace *APOB* je nejčastější příčinou familiárních hypocholesterolemických syndromů.

Familiární hypobetalipoproteinémie typ II vzniká v důsledku mutace se ztrátou funkce genu *PCSK9*. Onemocnění má mendelovskou autosomálně dominantní dědičnost. *PCSK9* (pro-proteinová konvertáza subtilisin kexin typu 9) zprostředkuje zvýšenou degradaci receptoru LDL-R. Ztráta funkce *PCSK9* je spojena se zvýšeným počtem aktivních LDL-R, s urychlením katabolismu LDL a nižšími koncentracemi LDL-C. Heterozygoti mají mírně až středně snížené plazmatické koncentrace LDL-C a apoB (na 30 - 70 % koncentrací u zdravých osob), zatímco u homozygotů jsou koncentrace LDL-C sníženy až k hodnotám 0,40 mmol/l.

Abetalipoproteinémie (ABL, syndrom Bassenův–Kornzweigův) je autosomálně recesivní onemocnění podmíněné mutací genu *MTTP*, který řídí syntézu mikrosomálního triglyceridového transferového proteinu (MTTP, microsomal triglyceride transfer protein). MTTP je bílkovina endoplazmatického retikula nezbytná pro tvorbu CM a VLDL. Gen pro *MTTP* je kódován na chromosomu 4q22-24. MTTP je nezbytný pro transfer neutrálních lipidů (tj. TG a esterů cholesterolu) na specifické bílkoviny (apoB100/apoB48) při sestavování částic CM a VLDL.

Choroba z retence chylomikronů (CMRD, chylomicron retention disease, Andersonova choroba) je onemocnění podmíněné mutací genu *SAR1B*, který řídí syntézu proteinu *SAR1B* odpovědného za transport CM z endoplazmatického retikula do Golgiho aparátu. *SAR1B* je

kódován na 5. chromosomu (5q31.1). Onemocnění se projevuje akumulací pre-chylomikrovných vezikul v cytoplazmě enterocytů. Dědičnost je autosomálně recesivní s velmi vzácným výskytem.

Familiární kombinovaná hypolipidémie (FCHL) je podmíněna mutací se ztrátou funkce genu pro angiopoetin like protein typu 3/4 (*ANGPTL3/4*). Jde o autosomálně recesivní onemocnění. Deficit *ANGPTL3* zvyšuje aktivitu endoteliální lipázy (EL) a lipoproteinové lipázy (LPL) a akceleruje katabolismus VLDL a HDL s následným poklesem koncentrace VLDL, LDL-C a HDL-C. Gen *ANGPTL3/4* je kódován na chromosomu 1 (1p31.1-p22.3). Homozygoti (a složení heterozygoti) mají pokles všech lipoproteinů obsahujících apoB (tj. VLDL, IDL, LDL) a částice HDL obsahují pouze apoAI.

Deficit apolipoproteinu C-III je onemocnění spojené s poklesem koncentrace TG. ApoCIII je přítomen ve všech LP třídách ve variabilních koncentracích. ApoCIII inhibuje LPL a současně se váže na LDL-R a LRP (LDL-R related protein), čímž zpomaluje jak hydrolyzu TG ve VLDL a CM, tak katabolismus VLDL a remnantních CM játry. Výsledný stav vede k vzestupu TG a cholesterolu ve VLDL. Mutace *APOCIII* se ztrátou funkce se projevují poklesem koncentrace apoC-III, dezinhibicí LPL a urychleným katabolismem VLDL (resp. CM) s následným snížením koncentrace lačných a postprandiálních TG. Mutace má za následek pokles plazmatické koncentrace apoCIII o 50 % a pokles lačných i postprandiálních TG zhruba na 30 % normálních hodnot. Nositelé mutace mají zvýšené koncentrace HDL-C, pokles LDL-C a méně vyjádřenou subklinickou aterosklerózu. U nemocných s hereditární systémovou amyloidózou byla popsána varianta apoC-III asociovaná s nízkými koncentracemi TG a příznivým kardioprotektivním lipoproteinovým profilem.

Vrozené hypolipidemické syndromy mohou být asociovány s mutacemi apolipoproteinů, kofaktorů LPL nebo i receptorů zúčastněných při vychytávání a katabolismu lipoproteinových částic. Na výsledné hypolipidémii se v řadě případů uplatňuje nejen urychlený katabolismus, ale i snížená sekrece VLDL, resp. CM z jater a střeva.

Získané hypolipidémie

Získané hypolipidémie jsou heterogenní skupinou chorobných stavů. Nízká koncentrace plazmatických lipidů může být důsledkem základního onemocnění nebo intenzivní hypolipidemické léčby; často může upozornit na dosud klinicky inaparentní onemocnění (tabulka 3). Bez ohledu na příčinu, nízké (< 1,04 mmol/l) a velmi nízké (< 0,55 mmol/l) koncentrace LDL-C představují zvýšené riziko některých chorob a chorobných stavů (tabulka 4).

Hypocholesterolémie a hypotriglyceridémie jsou v současné době častým laboratorním nálezem, což souvisí s velkým počtem vyšetření plazmatických lipidů prováděných v rámci prevence aterosklerotických kardiovaskulárních onemocnění a při kontrolách účinnosti hypolipidemické léčby. Jednou z příčin hypocholesterolémie (resp. kombinované hypolipidémie) je intenzivní léčba statiny, často v kombinaci s ezetimibem, monoklonálními protilátkami proproteinové konvertázy subtilisin-kexin typu 9 nebo s fibráty.

Doporučení Evropské kardiologické společnosti a Evropské společnosti pro aterosklerózu z roku 2019 uvádějí jako cílové koncentrace LDL-C pro kategorii s vysokým rizikem kardiovaskulárních komplikací 1,80 mmol/l, s velmi vysokým rizikem 1,40 mmol/l a s extrémně vysokým rizikem 1,0 mmol/l. Při extrémně nízkých koncentracích LDL-C, tj. < 0,65 mmol/l při dvou a více měřeních, se doporučuje hypolipidemickou léčbu přerušit nebo redukovat.

Tabulka 4 Rizika hypolipidémie

Hypocholesterolemie

- zvýšená mortalita běžné populace a hospitalizovaných osob
- zvýšení rizika intracerebrálního krvácení
- riziko agresivního chování, sebevražd a depresivní poruchy
- zvýšené riziko osteoporotických fraktur u léčených diabetiků
- vyšší riziko vzniku DM 2. typu
- vyšší riziko vzniku a rozvoje zhoubných nádorů
- vyšší riziko nepříznivého průběhu akutní a chronické infekce
- selhání nadledvin
 - o kriticky nemocní: zvýšené riziko endotoxémie, sepse a multiorgánového selhání
 - o selhání nadledvin
 - o horší prognóza těžkých infekcí

Hypotriglyceridémie

- horší prognóza nemocných s mozkovou cévní příhodou (non-kardio-embolizačního původu)
- horší prognóza hospitalizovaných seniorů

Nízké koncentrace jsou potenciálně spojeny s řadou rizik, především s rozvojem myopatie, diabetu 2. typu a hemoragické mozkové příhody. Pokud se u nemocných, kteří dlouhodobě vykazovali optimální hladinu LDL-C a TG, zjistí při kontrolním vyšetření nízké (po případě extrémně nízké) koncentrace LDL-C a TG, je nezbytné pomyslet na přítomnost asociovaných patologických stavů (tabulka 3).

Akutní a chronická jaterní onemocnění. Játra jsou centrálním orgánem metabolismu lipoproteinů; regulují rovnováhu mezi příjmem exogenních lipidů i volných mastných kyselin (FFA, free fatty acid) uvolněných z tukové tkáně, syntézou lipidů *de novo*, β -oxidací mastných kyselin a exportem lipidů z jater ve formě VLDL. Navíc v játrech probíhá syntéza většiny apolipoproteinů a enzymů zúčastněných v přeměně lipoproteinů (jaterní lipáza, LCAT a další). Játra jsou také vybavena specifickými receptory LDL-R a LRP, které jsou odpovědné za vychytávání částic LDL, IDL a remnantních CM. Pokles koncentrace LDL-C v plasmě a následný úbytek cholesterolu v játrech má za následek nižší oxidaci cholesterolu na žlučové kyseliny, což může zhoršit malabsorpci tuků. **Cirhóza jater** je zpravidla spojena se sníženými koncentracemi všech lipoproteinů, přičemž hladiny TC se snižují v průměru o 20 - 30 %, HDL-C o 8 - 46 %, LDL-C o 18 - 41 % a TG o 11 - 56 %. Pokles koncentrace plasmatického TC se týká všech LP tříd, charakteristickým rysem je snížení frakce cholesteryl esterů. Získaná hypotriglyceridémie byla popsána u **akutní steatózy jater těhotných** (AFLP, acute fatty liver of pregnancy). AFLP představuje spolu s preeklampií a syndromem HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count) vzácné a závažné onemocnění vyskytující se v 3. trimestru gravidity. Jedním z biochemických markerů odlišujících syndrom HELLP a AFLP je významnější pokles koncentrace TC a TG u AFLP. Ve srovnání s HELLP syndromem, koncentrace TC (resp. TG) dosahují 30 % (resp. 40 %) koncentrací u HELLP syndromu. Z laboratorních ukazatelů se AFLP, ve srovnání s HELLP syndromem, odlišovala dále hypoglykemií, elevací aktivit transamináz a sníženou aktivitou antitrombinu III.

Hypotriglyceridémie, spolu s hypoglykemií, se vyskytuje u **srdečního selhání a venostatické hepatopatie**. Předpokládanými patofyziologickými mechanismy jsou porucha degradace inzulinu v játrech a jeho přechod do systémové cirkulace s inhibicí lipolýzy tukové tkáně a sníženým uvolňováním FFA z tukové tkáně do jater a systémové cirkulace. Jaterní venostáza

zpomaluje glykogenolýzu, glukoneogenezu i syntézu TG a jejich transport ve formě VLDL do systémové cirkulace. Venostáza navíc potlačuje transport živin z tenkého střeva do jater.

Dietní vlivy. Od šedesátých let minulého století je známo, že koncentrace TC a LDL-C jsou významně ovlivněny složením stravy. Striktní veganská dieta, tj. odmítání veškerých potravin živočišného původu (maso, mléko, mléčné výrobky, vejce) je spojena s hypocholesterolémií. Důsledky těchto diet mohou mít různé formy (např. tea and toast syndrom u seniorů). Odmítání živočišných tuků bohatých na nasycené mastné kyseliny spolu se zdroji exogenního cholesterolu vede k hypocholesterolémii s poklesem jeho koncentrace ve všech lipoproteinových třídách. Naopak kalorická restrikce spojená s usilovným cvičením může vyvolat hypotriglyceridémii, v důsledku poklesu sekrece VLDL a jejich urychlené clearance. Na snížené tvorbě VLDL se podílí omezený přítok FFA z tukové tkáně, při zvýšené citlivosti na inzulin navozené cvičením.

Kritické stavy. Bez ohledu na vyvolávající příčinu jsou kritické stavy spojeny s dyslipidémií, která je charakterizována zvýšenou koncentrací TG (resp. VLDL) a sníženou koncentrací cholesterolu v lipoproteinových třídách LDL a HDL. Tyto změny byly pozorovány po (poly)traumatech, velkých chirurgických operacích, popáleninách, závažném krvácení a těžkých systémových infekcích (virových i bakteriálních). U kritických stavů pokles koncentrace LDL-C i HDL-C nastupuje prakticky okamžitě, zpravidla do tří dnů dosahuje nejnižších hladin (cca 50 % koncentrací zjišťovaných po zotavení). K normalizaci koncentrace LDL-C i HDL-C dochází v průměru za 28 dní. Na vzniku hypocholesterolémie se podílí účinek prozánětlivých mediátorů, porucha syntézy cholesterolu, diluční účinek při ztrátách krve a retenci tekutin i porucha absorpce lipidů ve střevě. Časná hypometabolická fáze kritického stavu je důsledkem celkového selhání energeticko-dynamického metabolismu buňky, zhoršeného transportu kyslíku a živin a tvorby energetických substrátů. Základními buněčnými mechanismy jsou pokles oxidativní fosforylace a tvorby ATP, změna mitochondriální permeability a ztráta membránového potenciálu, spolu se změnami toku iontů přes buněčnou membránu.

Hypometabolická fáze kritického stavu přechází do fáze hypermetabolické, která má charakteristické metabolické a endokrinní rysy. Přetrvává zvýšená sekrece a koncentrace stresových hormonů (katecholaminů, kortizolu, glukagonu), oxidace glukózy probíhá pouze k pyruvátu. Jako hlavní energetický substrát využívá organismus aminokyseliny, a to jak v periferních tkáních, tak v játrech (glukoneogeneze). Ve srovnání se zdravými osobami se snižuje absorpce lipidů ve střevě zhruba na 50 %. Současně dochází ke zvýšené lipolýze tukové tkáně, zaplavení jater FFA, stoupá koncentrace plazmatických TG a VLDL a klesá koncentrace LDL-C a HDL-C. Na poklesu koncentrace cholesterolu ve třídách LDL a HDL se podílí snížená aktivita jaterní lipázy a lecitin:cholesterolacyltransferázy (LCAT). Pokles HDL-C souvisí také s vyšší koncentrací sérové fosfolipázy A2 (sPLA2), down-regulací kazetového transportéru ABCA1 i snížením syntézy apoB a apoAI působením prozánětlivých cytokinů (TNF α , IL-1 β a IL-6). Nezanedbatelným faktorem hypocholesterolémie může být i vysoká energetická náročnost syntézy cholesterolu. Na syntézu jedné molekuly cholesterolu je potřeba 18 molekul ATP a 26 molekul NADPH (ekvivalent 58 - 82 molekul ATP). Zvýšení koncentrace TG v plazmě (resp. VLDL) je umocněno deficitem karnitinu, popisovaným u kriticky nemocných. Karnitin je kofaktorem karnitin-palmitoyl transferázy 1 (CPT-1), enzymu odpovědného za přenos mastných kyselin do mitochondrií a jejich β -oxidaci. Hypoxémie a vasokonstrikce vedou k hromadění laktátu a rozvoji metabolické acidózy, jejímž důsledkem je inhibice acetyl-CoA karboxylázy (post-translačním mechanismem), nahromadění malonyl-CoA a inhibice CPT-1, což negativně ovlivňuje transport acyl-CoA do mitochondrií a β -oxidaci mastných kyselin.

Malnutrice (podvýživa) je charakterizována snížením tělesných energetických zásob a zhoršením biologických funkcí (svalová slabost, kognitivní deficit a porucha imunitní obranyschopnosti). Z etiopatogenetického hlediska se malnutrice rozděluje na tři podtypy: (1) prosté hladovění (marantický typ malnutrice), bez zánětlivé reakce organismu (např. mentální anorexie); (2) malnutrice akutních stavů nebo poranění s intenzivní zánětlivou odpovědí (seps, popáleniny, polytrauma, fulminantní akutní pankreatitida); (3) malnutrice u chronických onemocnění, se zánětlivou reakcí mírné až střední intenzity (orgánová nedostatečnost, nádorové onemocnění nebo sarkopenická obezita). *Marantický typ malnutrice* se vyznačuje normální nebo mírně zvýšenou koncentrací TC, LDL-C a TG. Předpokládá se, že teprve pokles indexu tělesné hmotnosti (BMI) pod 13 kg/m² je spojen s hypocholesterolémií. Naopak úplná nebo částečná remise je spojena se vzestupem TC a LDL-C. Klasické lipidologické učebnice zařazují mentální anorexii mezi choroby, u kterých se vyvíjí sekundární hypercholesterolemie. Hypolipidémie při *malnutrici akutních stavů* s intenzivní zánětlivou odpovědí je etiopatogeneticky shodná s hypolipidémií u kritických stavů. *Malnutrice chronických onemocnění* s přítomností zánětlivé reakce mírné až střední intenzity byla dříve označována jako proteino-energetická malnutrice. Nedostatečný příjem potravy během hladovění spolu s vyčerpáním organismu může zapříčinit hypocholesterolemii. Vzniká deficit kosterního svalstva a/nebo tukové tkáně, laboratorní obraz je charakterizován poklesem koncentrace viscerálních proteinů (albumin, prealbumin, transferin), vzestupem CRP a dyslipidémií. Ta je zpravidla charakterizována deficitem LDL-C. Koncentrace TG může být snižena (v důsledku alterace enzymatických systémů a jaterních receptorů), normální nebo zvýšená (v důsledku akumulace IDL). U proteino-energetické malnutrice se uplatňuje více vlivů současně, vedle nedostatku energetických substrátů i obecně negativní vliv zánětu. V průběhu zánětu koncentrace cholesterolu pozitivně koreluje s koncentracemi albuminu, prealbuminu a cholinesterázy a negativně s CRP a dalšími reaktanty akutní fáze.

Malasimilační syndrom. Malasimilace je patologický stav, při kterém tenké střevo není schopno využít potraviny pro výživu organismu. Z patofyziologického hlediska lze rozlišit dvě podskupiny malasimilace, a to poruchu trávení – maldigesci a poruchu vstřebávání v užším slova smyslu – malabsorpci. Mezi běžné příčiny malasimilace spojené s hypolipidémií se řadí céliakie, chronická pankreatitida, jaterní cirhóza a biliární obstrukce; dále zánětlivé onemocnění tenkého střeva (Crohnova nemoc). K méně častým příčinám malasimilace patří tropická sprue, parazitární onemocnění (*Giardia intestinalis*), syndrom bakteriálního přerůstání, stavy po resekci žaludku (achylický syndrom), střeva (syndrom krátkého střeva), nebo slinivky břišní. Městnavé srdeční selhání i městnání v portální oblasti přispívají k malabsorpci zásahem do transportní fáze asimilace živin. Hypolipidémie (pokles TC, LDL-C, HDL-C i TG) není u malasimilace specifickým ani vedoucím laboratorním příznakem. Specifickou příčinu hypocholesterolemie představují onemocnění spojená s postižením terminálního ilea, jako je Crohnova nemoc či stavy po resekci terminálního ilea. Terminální ileum je místem aktivní resorpce žlučových kyselin (BA). Zánětlivá poškození terminálního ilea nebo jeho chirurgické odstranění jsou spojena s malabsorpcí žlučových kyselin (BA), maldigescí a karenčními stavy (deficit vitamínu B₁₂). Přerušování enterohepatální cirkulace BA a jejich snížený návrat do jater dezinhibuje klíčové enzymy syntézy BA, především CYP7A1 (7 α -cholesterol hydroxyláza) a CYP27 (27 α -cholesterol hydroxyláza), čímž se zvýší oxidace cholesterolu na BA; pokles intracelulární koncentrace cholesterolu zvýší počet i aktivitu jaterních LDL-R se zvýšeným katabolismem LDL a poklesem koncentrace LDL-C. Ke zvýšení dekonjugace BA a dehydroxylace primárních BA na sekundární dochází též v rámci syndromu bakteriálního přerůstání, v důsledku změny střevního mikrobiomu. Zmenšení *poolu* BA je provázáno zvýšeným zastoupením sekundárních BA, které mají nižší schopnost solubilizovat žlučové lipidy i lipidy v trávenině, s následnou malasimilací tuků a vyššími

ztrátami žlučových kyselin a cholesterolu stolicí. Následně se zvyšuje syntéza BA z cholesterolu s případnou hypocholesterolémií.

Chronické onemocnění ledvin. Chronické onemocnění ledvin ve stádiu terminálního selhání vykazuje charakteristický lipidový profil. Zvyšuje se hladina VLDL a IDL částic a remnantních CM. Vzestup koncentrací TG je spojen s poklesem koncentrací HDL-C; částice HDL-C jsou obohaceny TG. Zhruba u poloviny nemocných se zjišťují snížené koncentrace LDL-C. Přepokládá se blokáda konverze IDL na LDL. Koncentrace apo C-II mají klesající trend, koncentrace apoC-III naopak stoupají. Zvýšené plazmatické koncentrace lipoproteinu Lp(a) u pacientů v hemodialyzačním programu korelují s parametry chronického zánětu (hs-CRP, IL6). Na hypertriglyceridémii se podílí inzulinová rezistence, subklinický zánět, blokáda konverze IDL na LDL a pokles poměru apoC-II/apoC-III. U pacientů s terminálním selháním ledvin se popisuje cholesterolový paradox: kardiovaskulární mortalita u nich negativně koreluje s plazmatickou koncentrací LDL-C, zatímco u běžné populace je tato závislost opačná.

Infekční onemocnění. Dyslipidémie u akutních infekčních onemocnění je charakterizována poklesem koncentrace TC, LDL-C i HDL-C, zvýšením koncentrace TG a snížením koncentrace apoAI i apoB100. Patogeneze hypocholesterolémie je komplexní. U dětí bylo zjištěno, že vzestup hs-CRP o 1 mg/l byl spojen s poklesem HDL-C o 0,0018 mmol/l, poklesem LDL-C o 0,002 mmol/l a vzestupem TG o 0,006 mmol/l. Koncentrace a počet částic HDL se při infekčním onemocnění snižují řadou mechanismů – poklesem produkce apoAI, sníženou aktivitou LCAT, zvýšením obsahu TG a SAA v HDL i zvýšením aktivit sérové fosfolipázy A1. Obohacení částic HDL o TG pak vede ke zvýšenému katabolismu HDL a poklesu koncentrace HDL-C. HDL jsou významnou složkou přirozené imunity, váží lipopolysacharid (LPS) a kyselinu lipoteichoovou (LTA), podílejí se na jejich clearanci a zabraňují aktivaci endotelu a makrofágů. Lipoproteiny bohaté na TG (CM a VLDL) hrají roli v pochodech přirozené imunity; detoxikují LPS a zabraňují cytokinové bouři indukované LPS. Pokles LDL-C je důsledkem snížené syntézy apolipoproteinů a zvýšeného vychytávání částic LDL specifickými receptory. Na tkáňových kulturách lidského hepatomu (linie HepG2) bylo zjištěno, že prozánětlivé cytokiny (TNF- α a interleukin-1 β , IL-1 β) up-regulují LDL-R a snižují syntézu apolipoproteinů. Na vzniku hypertriglyceridémie se podílí zvýšená aktivita hormonálně senzitivní lipázy (HSL), vzestup koncentrací FFA a urychlení toku FFA do jater. Současně TNF- α , IL-1 a IL-6 stimulují syntézu mastných kyselin *de novo*, potlačují aktivitu LPL a omezují katabolismus VLDL a CM.

Virová onemocnění. Infekce **virem HIV** (human immunodeficiency virus) vyvolávající syndrom získané imunodeficience AIDS je asociována s poruchou lipidového metabolismu i s alterací lipidogramu, a to jak u neléčených pacientů, tak u nemocných léčených kombinací anti-retrovirovou terapií. U neléčených dochází k poklesu TC, LDL-C i HDL-C a k vzestupu koncentrace TG. Tyto změny nejsou plně objasněny. Obviňuje se zvýšená exprese proteinu Nef, který down-reguluje ABCA-1 kazetový transportér, a tím snižuje hladiny cholesterolu v HDL. Navíc HIV protein inhibuje receptory PPAR- γ , tím dezinhibuje hormonálně senzitivní lipázu, zvyšuje lipolýzu a tok FFA do jater s následnou steatózou a zvýšenou tvorbou částic VLDL. Naopak kombinovaná anti-retrovirová léčba navozuje změny podobné aterogenní dyslipidémii, která je typická pro metabolický syndrom.

Infekce **virem hepatitidy B** (HBV) je spojena s poklesem koncentrací LDL-C a HDL-C a se zvýšením hladin TG. Patofyziologické mechanismy hypolipidémie nejsou plně známy, příčinou může být jaterní nedostatečnost. Na druhé straně HBV může ovlivňovat expresi genů zúčastněných v metabolické přeměně LP. HBV oslabuje expresi apoAI, z čehož rezultuje pokles hladin HDL-C, i apoAV, což se může podílet na zvýšení koncentrace TG v důsledku

zpomalení lipolýzy TG obsažených ve VLDL a CM. Změna sekrece VLDL je spojována také s působením HBV antigenu X (HBx protein), který mění strukturu glykoproteinu vázaného na apoB a down-reguluje MTTP s následnou akumulací TG v játrech a poklesem sekrece VLDL. Na snížení koncentrací LDL-C se může podílet i zpomalení konverze částic IDL na LDL.

Infekce *virem hepatitidy C* (HCV) je asociována s poklesem TC, LDL-C, HDL-C i apoB100. HCV inhibuje MTTP, který má významnou funkci v sestavení (assembly) lipoproteinů VLDL a CM, s následným snížením sekrece CM a VLDL. U osob s virovou hepatitidou C byla zjištěna hypocholesterolemie i hypotriglyceridémie, přičemž koncentrace TG signifikantně korelovaly s délkou infekce i s koncentracemi TC. Laboratorně se může infekce HCV manifestovat jako smíšená hypobetalipoproteinémie. V plasmě je virus přenašen v komplexech s lipoproteiny za vzniku lipo-virových částice (HCV-LVP, HCV lipo-viral particles). Vstup částice do hepatocytu je zprostředkován specifickými receptory (LDL-R, SR-B1 a NPC1L1). Virus pak využívá lipoproteinový metabolismus hostitele k řadě pochodů, jako vstup viru do hepatocytu, jeho syntéza, replikace i sekrece viru z jater do krve.

Parazitární onemocnění. Slizniční parazité, jako např. entaméby, giardie a trichomonády, nemají mitochondrie, ale mají Golgiho komplex a některé další buněčné organely typické pro vyšší eukaryota. Postrádají schopnost syntézy cholesterolu a některých komplexních lipidů.

Giardiáza je infekční onemocnění způsobené prvokem *Giardia intestinalis*. Chronická forma giardiázy je spojena s malabsorpcí a steatoreou. Na vzniku hypocholesterolemie se podílí malabsorpcí tuků a zvýšený energetický výdej. Dalším mechanismem je využívání intraluminálního cholesterolu jako stavební komponenty parazita a jako energetického substrátu.

Viscerální leishmaniáza je onemocnění způsobené parazitem *Leishmania donovani*. Vyznačuje se rekurujícími horečkami, schváceností, kachektizací a nočním pocením. Klinický obraz zahrnuje anémii, trombocytopenii a hepatosplenomegalii. Pacienti mívají nápadnou hypolipidémii – těžkou hypocholesterolemii s poklesem TC, LDL-C, HDL-C, apoA-I a mírně zvýšenou hladinu TG. Výrazný pokles LDL-C a HDL-C v endemické oblasti spolu s klinickými příznaky je suspektní z uvedeného onemocnění.

U **amebiázy** s jaterními abscesy (*Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*) byl popsán alterovaný lipidový metabolismus. 50 % pacientů mělo hypocholesterolemii (TC pod 2,59 mmol/l) a nízké koncentrace TC, které korelovaly se závažností onemocnění. U nosičů cyst byl nižší poměr TC/LDL-C než u osob s jaterními abscesy. Vztahy mezi buněčným cyklem parazitů a množstvím lipidů v okolním prostředí jsou oboustranné. Nedostatek lipidů/cholesterolu v okolním prostředí/mediu způsobuje encystaci parazita. Naopak cholesterol pomáhá parazitům zůstat ve formě trofozoitu. Podobné změny lipidů/lipoproteinů byly popsány u dětí postižených **tropickou malárií** (*Plasmodium falciparum*).

Akutní bakteriální infekce. U pacientů s těžkou sepsí dochází k poklesu plazmatických koncentrací TC, LDL-C, HDL-C a TG, apoB100 a apoA-I. Pacienti, kteří zemřeli, měli nižší plazmatické koncentrace lipidů ve srovnání s přeživšími. Podobné změny byly popsány u pacientů s akutní infekcí dýchacího traktu. Nemocní s komunitní **bronchopneumonií** měli nižší koncentrace ve srovnání s akutní infekcí dolních dýchacích cest (akutní bronchitida, exacerbace obstrukční choroby plicní). Podobné změny byly popsány u **brucelózy** a **leptospirózy**, rovněž u akutní infekce **virem Epstein a Barrové** (EBV) a **akutní cytomegalovirové** (CMV) infekce. Patogeneticky se uplatňují mechanismy hypolipidémie popsané u kritických stavů.

Tuberkulóza. *Mycobacterium tuberculosis* stejně jako řada parazitů postrádá schopnost syntézy cholesterolu a rovněž jí chybějí mitochondrie k syntéze makroergních fosfátových sloučenin. *Mycobacterium tuberculosis* využívá oxidační degradace cholesterolu řadou enzymů (řízených skupinou genů označovaných jako mce4) k β -oxidaci postranního řetězce

cholesterolu, k odštěpení kruhu A i B cholesterolu a k oxidační degradaci kruhů C a D. Sériovou reakcí vzniká acetyl-CoA, propionyl-CoA, sukcinyl-CoA a pyruvát jako vlastní energetické substráty. Dalšími energetickými substráty jsou mastné kyseliny hojně zastoupené v infikované tkáni, přičemž využití mastných kyselin i cholesterolu je úzce propojeno. Některé z produktů metabolické degradace cholesterolu mají souvislost s virulencí patogenu. Bylo zjištěno, že nemocní léčení hypolipidemiky (statiny, ezetimib) reagují příznivěji na antituberkulózní léčbu a mají nižší prevalenci reaktivace onemocnění.

Hematologická onemocnění. Hypocholesterolemie u **anémií** je známá od poloviny sedmdesátých let minulého století. Byla popsána u různých typů anémie, včetně talasémie, srpkovité anémie, deficitu glukozo-6-fosfát dehydrogenázy, sferocytózy, aplastické anémie i myelodysplastického syndromu. V patogenezi se uplatňují různé mechanismy: diluce plazmy, zvýšené požadavky na cholesterol potřebný k syntéze buněčných membrán u hyperplazie erytroidní řady, aktivace makrofágů a LDL-R prozánětlivými cytokiny, zvýšené vychytávání cholesterolu retikuloendoteliálním systémem a chronická jaterní léze v důsledku sekundárního přetížení železem. U chronických anémií se zvýšenou erythropoetickou aktivitou byla prokázána negativní korelace koncentrace TC se solubilním transferinovým receptorem (STR), který za předpokladu nepřítomnosti deficitu železa reflektuje erythropoetickou aktivitu kostní dřeně. Zvýšená proliferace erytroidních buněk kostní dřeně je spojena se zvýšenými požadavky na dodávku cholesterolu.

Nádorová onemocnění. Nádory krvetvorné tkáně (hematologické malignity) i solidní nádory jsou často spojeny s poklesem koncentrace plasmatických lipidů.

U **monoklonálních gamapatií** (mnohočetný myelom, monoklonální gamapatie neurčeného významu) mohou být koncentrace LDL-C, VLDL a TG snižené, normální nebo zvýšené. Paraprotein se váže na VLDL a komplex paraprotein s VLDL je urychleně vychytáván v retikuloendoteliálním systému s následným poklesem TG. Protože VLDL jsou prekurzorem LDL, při poklesu koncentrace VLDL se snižují také koncentrace LDL, resp. LDL-C. U mnohočetného myelomu nezávisí pokles koncentrace LDL-C na typu paraproteinu (IgA, IgM, IgG), ale na pokročilosti nádorového onemocnění.

Leukémie a myeloproliferativní novotvary. Hypocholesterolemie je typická pro akutní myeloidní leukémii, trichocelulární leukémii i myelodysplastický syndrom; někdy se vyskytuje též u non-Hodgkinských lymfomů a chronické lymfocytární leukémie. Patogeneze hypocholesterolemie je u těchto stavů komplexní, podobně jako u chronických anémií. Vysvětluje se zvýšenými požadavky na cholesterol při proliferaci nádorových buněk. Byla popsána negativní korelace mezi hladinou cholesterolu v plazmě a aktivitou LDL-R, resp. LDL-R podobných receptorů v leukemických buňkách. Rovněž u akutní myeloidní leukémie byla popsána negativní korelace mezi koncentrací LDL-C a vychytáváním LDL leukemickými buňkami v kostní dřeni a v játrech. Navíc prozánětlivý stav vede k up-regulaci receptorů LDL-R v játrech i v retikuloendoteliálním systému.

Solidní nádory. U nemocných s bronchogenním karcinomem, s karcinomem jícnu, žaludku, kolorekta, prsu, urogenitálního traktu i s kožním melanomem byly popsány snížené koncentrace LDL-C a HDL-C a mírně zvýšené koncentrace TG. Vysvětlení poklesu HDL-C a LDL-C je komplexní, jednak spotřeba cholesterolu nádorovými buňkami, jednak malnutrice. V důsledku deplece LDL-C vážně oxidace cholesterolu na žlučové kyseliny a snižuje se absorpce cholesterolu ve střevě. Konzistentním nálezem u nádorových onemocnění je pokles HDL-C a apoA-I. Recentní rozsáhlá metaanalýza prokázala na téměř 25 tisících pacientů s karcinomem (plic, ledvin, prsu, hepatocelulárním), že vyšší plasmatické koncentrace TC a HDL-C jsou asociovány s delším přežitím.

Thyreotoxikóza. Smíšená hypolipidémie, zahrnující pokles plasmatické koncentrace TC, snížení cholesterolu ve VLDL i LDL a pokles koncentrace TG, byla popsána u thyreo-

toxikózy. Patofyziologickým mechanismem je zvýšená oxidace LDL-C na žlučové kyseliny, vyšší exprese receptorů LDL-R a zrychlený katabolismus LDL játry. Urychluje se přeměna VLDL na IDL a LDL v důsledku zvýšené aktivity jaterní lipázy. Rovněž plazmatické koncentrace HDL-C jsou sníženy. Byly zjištěny významné korelace mezi hodnotami TSH a koncentrací plazmatických lipidů (TC, LDL-C, TG).

Vrozená metabolická onemocnění. Hypcholesterolemie se vyskytuje u některých lyzomálních strádavých onemocnění, jako je **Gaucherova nemoc 1. typu** (autosomálně recesivní onemocnění způsobené poruchou aktivity β -glukocerebrosidázy) a **Niemannova-Pickova nemoc typu C** (autosomálně recesivní onemocnění charakterizované poruchou nitrobuněčného transportu cholesterolu). Pokles koncentrace LDL-C a HDL-C je nespecifický a diagnostika uvedených chorob se opírá o klinický obraz (resp. podezření na strádavé onemocnění), zvýšení aktivity plazmatické chitotriosidázy a sekvenaci příslušných genů.

Neuropsychiatrická onemocnění. Od osmdesátých let minulého století je zkoumán vztah plazmatických koncentrací cholesterolu k neuropsychiatrickým poruchám, např. sebevražednosti, násilnému chování a depresím. Názory odborníků nejsou konzistentní. Rozsáhlá meta-analýza 32 studií, která hodnotila koncentraci LDL-C jako kontinuální veličinu, zjistila významně nižší koncentrace LDL-C u depresivní poruchy; naopak, při hodnocení LDL-C jako kategoričké veličiny bylo zjištěno, že pacienti s vyšší hladinou LDL-C mají větší pravděpodobnost deprese. Autoři vysvětlují souvislost mezi koncentracemi LDL-C a depresí křivkou ve tvaru „U“, kdy jak vysoké, tak nízké koncentrace LDL-C jsou asociovány s rizikem depresivní poruchy. Předpokládají, že nízké koncentrace LDL-C mohou upozornit na klinickou manifestaci deprese, zatímco vyšší LDL-C jsou spojeny s dlouhotrvající depresí, vzestupem hmotnosti a vývojem metabolicky nezdravé obezity. Protikladné výsledky přinesly kohortní studie sledující vztahy mezi příznaky deprese, jejich intenzitou a koncentracemi LDL-C. V řadě epidemiologických studií byla nalezena asociace nízké koncentrace LDL-C s rizikem sebevražd. Asociace nízké hladiny cholesterolu s depresivní poruchou, násilím a sebevražedností se vysvětluje změnou mikroviskozity buněčné membrány a s ní spojenou poruchou serotonergní transmise. Nedávná analýza francouzských autorů prokázala u pacientů psychiatrického centra zhruba čtyřikrát vyšší prevalenci primární hypobetalipoproteinémie (LDL-C < 1,29 mmol/l) než v nepsychiatrické kontrolní skupině. U pacientů s primární HBL byla nalezena vyšší frekvence schizofrenie, agresivního chování, autismu a poruch pozornosti s hyperaktivitou (ADHD). Recentní práce na velkém souboru depresivních pacientů prokázala asociaci mezi poklesem koncentrace desmosterolu a symptomy deprese. Syntéza cholesterolu v neuronech probíhá přes 7-dehydrocholesterol (7-DHC), zatímco v buňkách glie se cholesterol syntetizuje z lanosterolu přes desmosterol. Autoři usuzují, že poměr koncentrace 7-DHC/desmosterol by mohl ukazovat na metabolicko-genetickou dispozici k depresivní poruše.

Výskyt hypolipidemií

Celková prevalence hypolipidemií v běžné populaci není známa. Přispívá k tomu řada faktorů; koncentrace lipidů se běžně nevyšetřují, definiční kritéria pro diagnostiku hypolipidémie se liší mezi jednotlivými pracovními skupinami. Přesnější informace o výskytu vrozených hypolipidemických syndromů byly získány z molekulárně genetických studií.

Francouzská studie HYPOPSY (Hypobetalipoproteinemia in Psychiatric Patients) zjistila výskyt primární hypobetalipoproteinémie u 0,6 % běžné populace. Šlo o kontrolní skupinu psychiatricky neléčené populace z registru Francouzské zdravotní pojišťovny v okolí Nantes. Definičním kritériem byla koncentrace LDL-C < 1,30 mmol/l a vyloučení chorob a chorobných stavů asociovaných s hypolipidemií.

Molekulárně genetické studie udávají výskyt familiární hypobetalipoproteinémie (FHBL) typu I (mutace *APOB*) u 0,1 - 0,3 % populace. Frekvence FHBL typu II (mutace *PCSK9*) je významně ovlivněna etnickými faktory; u Afro-Američanů se vyskytovala až v 2,5 %, zatímco u Američanů indoevropského původu v < 0,1 % (Dallas Heart Study). Výskyt klinicky závažných hypocholesterolemických syndromů, tj. homozygotů (resp. složených heterozygotů) FHC na podkladě mutace *APOB*, abetalipoproteinémie (ABL) a choroby z retence chylomikronů (CMRD) se odhaduje na 1:10⁶. Celkem bylo dosud popsáno asi 120 případů ABL a 47 případů CMRD. Mutace se ztrátou funkce *APOCIII* byla zjištěna u 5 % populace Amišů v okrese Lancaster (Pensylvánie, USA). Jde o uzavřenou geneticky homogenní populaci. Prevalence FCHL, která je způsobena deficitem *ANGPTL3*, se podílí zhruba 10 % z celkového počtu primárních hypobetalipoproteinémií, tj. stavů charakterizovaných poklesem LDL-C, TG i HDL-C.

U získaných hypolipidemií přesné údaje o výskytu hypocholesterolemie a hypotriglyceridemie chybějí. Přesnější data jsou k dispozici pouze u chronických jaterních onemocnění a některých kritických stavů. U chronických jaterních onemocnění byl zjištěn výskyt izolované hypotriglyceridemie (TG < 0,78 mmol/l) v 1 - 2 %, izolované hypocholesterolemie (LDL-C < 1,03 mmol/l) v 35 % a smíšené hypocholesterolemie (tj. pokles LDL-C i TG) v 37 %. U kritických stavů se hypocholesterolemie (LDL-C < 1,30 mmol/l) vyskytovala v 30 - 70 % v závislosti na příčině kritického stavu, jeho tíži (skóre APACHE), době do přijetí na jednotku intenzivní péče, předchozí léčbě, komorbiditách i komplikacích. U onemocnění infekčních, onkologických a u poruch nutriční údaje o výskytu hypolipidemie chybějí. Klinické studie zmiňují pouze koncentrace lipidů u nemocných s rozdílnou prognózou daného onemocnění.

Klinický obraz

U všech těžkých forem geneticky podmíněných hypocholesterolémii jsou klinické projevy obdobné. Do skupiny těžkých geneticky podmíněných hypocholesterolémii patří homozygoti (nebo smíšení heterozygoti) familiární hypobetalipoproteinémie (FHBL) typu I, jedinci s abetalipoproteinémií (ABL) a s chorobou z retence chylomikronů (CMRD). Uvedená onemocnění se zpravidla manifestují již u kojenců a projevují se neprospíváním, průjmy, malabsorpčí tuků a v tuku rozpustných vitaminů (především vitaminu E), akantocytózou erytrocytů, rychle progredujícím očním a neurologickým poškozením, které se projevuje atypickou pigmentovou degenerací sítnice, ztrátou šlacho-okosticových reflexů a spinocerebelární ataxií. Klinický obraz doplňuje distenze břicha. U heterozygotů FHBL typu I závisí klinický obraz na délce apoB; pokud je zkrácení menší než u apoB48, nemocní mají mírné známky malabsorpce tuků. Společnou známkou je zvýšený obsah tuku v játrech (více než trojnásobný) a rozvoj nealkoholové steatózy jater s možným přechodem k steatohepatitidě, jaterní cirhóze a hepatocelulárnímu karcinomu. Jedinci tohoto typu jsou většinou asymptomatictí a náhodným nálezem, který upozorní na možnou FHBL, je kombinace hypocholesterolemie a elevace jaterních testů. Jedinci s FHBL typu II mají normální somatický a psychický vývoj a jejich klinický obraz není specifický; mají nižší riziko aterosklerotických kardiovaskulárních chorob. U familiární kombinované hypolipidemie (mutace se ztrátou funkce *ANGPTL3*) chybí charakteristický klinický fenotyp i vazba na komorbiditu, nemocní mají nižší kardiovaskulární riziko. U familiárního deficitu apoCIII nebyla popsána asociace se specifickými komorbiditami, nositelé mutace mají normální tělesný a duševní vývoj. Také u nositelů této mutace bylo zjištěno nižší kardiovaskulární riziko, posuzované na základě výsledků CT vyšetření kalciového skóre koronárních arterií.

U získaných hypolipidemických stavů není klinický obraz specifický. Převládají klinické projevy základního onemocnění: příznaky kritického stavu, malasimilace (plynatost, břišní dyskomfort, průjmy, bolesti břicha, karence vitaminů), malnutrice (ztráta hmotnosti, ztráta tukové tkáně i sarkopenie s různě intenzivním zánětem, kareční syndromy), infekční choroby, chronického onemocnění jater, terminálního selhání ledvin, nádoru či neuro-psychiatrického onemocnění. Při postižení terminálního ilea dochází k cholereickým průjmům a karenci vitamínu B₁₂.

Diagnóza a diferenciální diagnóza

Diagnóza primárních a sekundárních hypolipidemií se opírá o anamnézu, včetně anamnézy farmakologické, o klinický obraz, resp. podezření na určitý patologický stav, a o metody laboratorní, zobrazovací nebo instrumentální. Vrozené hypolipidemické syndromy s výjimkou těžkých hypocholesterolémii (tj. ABL, CMRD a homozygotní konstituce FHBL) probíhají řadu let asymptomaticky a mohou se projevit náhodně hypolipidemií, elevací aktivit jaterních testů či nálezem jaterní steatózy.

U těžkých vrozených hypolipidemických syndromů je nezbytná časná diagnostika a léčba, aby se zabránilo devastujícímu, progresivnímu neurologickému a očnímu postižení. Heterozygoty FHBL je nutné sledovat z hlediska rizika rozvoje NAFLD, NASH, jaterní cirhózy a hepatocelulárního karcinomu.

Biochemický fenotyp u získaných hypolipidemických stavů je vcelku uniformní a lze jej charakterizovat poklesem koncentrace TC, LDL-C i HDL-C pod 5. percentil pro daný věk a pohlaví, nebo pod kritickou dolní koncentrací referenční meze. U většiny symptomatických hypolipidemií se zvyšují současně koncentrace plasmatických TG. Diagnostika získaných hypolipidemických stavů probíhá *per exclusionem*. Opírá se o anamnestické údaje, včetně dlouhodobé farmakologické léčby. Je nutno prokázat sekundární formy hypolipidémie u chronického onemocnění jater, terminálního selhání ledvin, hypertyreózy a onkologických onemocnění. Vždy je třeba pátrat po příznacích malnutrice, malabsorpce, deficitu vitaminů rozpustných v tucích, nealkoholové steatóze jater, specifických neurologických a očních příznacích.

Lipidogram u vrozených hypolipidemických syndromů charakterizují specifické abnormality. Pro ABL svědčí absence plasmatických CM, VLD a LDL, koncentrace LDL-C i apoB nejsou detekovatelné. U CMRD chybí CM v plasmě nalačno i po tukové zátěži, koncentrace LDL-C i apoB jsou pod mediánem referenčních hodnot a koncentrace lačných TG jsou v mezích normy. U FHBL typu I se koncentrace LDL-C pohybují mezi 0,55 - 1,30 mmol/l a koncentrace apoB jsou < 0,5 g/l. U FHBL typu II se koncentrace LDL-C pohybují v pásmu 30 - 70 % referenčních hodnot a nemocní mají zpravidla normální koncentrace HDL-C i apoAI. U FCHL biochemický obraz charakterizuje panhypolipidémie, tj. pokles koncentrace apoAI i apoB i všech lipoproteinů s obsahem těchto apolipoproteinů. Jsou významně snižené koncentrace TC, TG, LDL-C i HDL-C. U familiárního deficitu apoCIII je možno zachytit redukci lačných i postprandiálních TG o 30 - 60 % a vyšší koncentrace HDL-C i apoAI. Biochemickým fenotypem odlišujícím FHBL (v důsledku mutace *APOB* či *PCSK9*) od FCHL (v důsledku mutace *ANGPTL3*) jsou koncentrace HDL-C a apoAI, které jsou nízké u FCHL a zpravidla v mezích normy u FHBL. U FHBL typu I lze prokázat v plazmě zkrácené formy apoB (B30-B89) elektroforézou v gradientu polyakrylamidu (SDS-PAGE) v kombinaci s technikou Western blot.

Důležitým laboratorním znakem je akantocytóza erytrocytů (bez anémie). Dále mohou být pozitivní testy zaměřené na steatoroe, průjmy a malabsorpci tuků. Nezbytné je doplnění funkčních jaterních testů, ultrazvukové vyšetření jater (elastografie), analýza vitaminů rozpustných v tucích, neurologické a oční vyšetření. U stavů spojených se zvýšenými ztrátami

žlučových kyselin (porucha resorpce, zvýšená střevní dekonjugace a dehydroxylace) se zvyšuje oxidace cholesterolu. Tu potvrzují zvýšené koncentrace metabolitu C4 (7 α -hydroxycholest-3-en-4-on). Lze měřit i syntézu cholesterolu *de novo* pomocí koncentrace prekurzorů cholesterolu (latosterol, lanosterol, desmosterol) a koncentrace fytosterolů (β -sitosterol, campesterol, brassicasterol, stigmasterol), které jsou ukazatelem resorpce exogenního cholesterolu.

U těžkých geneticky podmíněných hypocholesterolémii jsou častým nálezem snížené až nedetekovatelné koncentrace vitamínu E i dalších vitamínů rozpustných v tucích (A, D a K). Diagnóza CMRD, ABL a homozygotů (resp. složených heterozygotů) FHBL je podpořena chyběním sekrece CM po tukovém tolerančním testu, nálezem světlé duodenální sliznice při gastroskopii a elektronoptickým průkazem lipidových kapének v enterocytech. V současné době je samozřejmostí potvrzení choroby molekulárně genetickým vyšetřením a průkaz mutací sekvenováním genů (*APOB*, *MTTP*, *PCSK9*, *ANGPTL3* či *SAR1B*).

Léčba

Léčba symptomatické hypocholesterolémie je totožná s léčbou základního onemocnění. Vzestup koncentrace TC, LDL-C a HDL-C je zpravidla známkou zotavení a uzdravení. Hypocholesterolémie indukovaná hypolipidemickou léčbou, pokud překročí kritickou koncentraci (tj. hranici nízkých a extrémně nízkých koncentrací), by měla vést k zamyšlení nad potřebou vysazení hypolipidemik nebo redukce jejich dávkování. U FHBL typu I je nutno sledovat nemocné z hlediska rozvoje možných komplikací nealkoholové steatózy, především jaterní cirhózy a hepatocelulárního karcinomu.

U těžkých geneticky podmíněných hypocholesterolémii (tj. CMRD, ABL a homozygotů FHBL) je nezbytná časná léčba k prevenci progredujícího očního a neurologického poškození, které je dáváno do souvislosti s karencí vitamínu E. Doporučuje se podávání vitamínů rozpustných v tucích, především vitamínu E, restrikce dietních tuků, podávání MCT olejů (obsahujících mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem) a suplementace oleji bohatými na vícenenasycené mastné kyseliny řady n-3 i n-6.

Práce byla podpořena výzkumnými projekty RVO VFN64165/2012 (MZ ČR) a PROGRES Q25 (1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy)

Literatura

Aizawa Y., Seki N., Nagano T., Abe H. Chronic hepatitis virus infection and lipoprotein metabolism. *World J Gastroenterol* 2015; 21(36): 10299-10313.

Almani MIK., Kazmi A., Haider I., et al. Correlation of duration of hepatitis C infection with triglycerides and total cholesterol. *J Islamabad Med Dent College* 2016; 5(4): 168-171.

Bansal D., Bhatti HS., Seghal R. Role of cholesterol in parasitic infections. *Lipids Health Dis* 2005; 4: 10.

Bellou E., Siopi A., Galani M., et al. Acute effects of exercise and caloric restriction on triglyceride metabolism in women. *Med Sci Sports Exerc* 2013; 45(3): 455-461.

Boemeke L., Bassani L., Marroni CA., Gottschall CBA. Lipid profile in cirrhotic patients and its relation to clinical outcome. *Arq Bras Cir Dig.* 2015; 28(2): 132-135.

Cariou B., Challet-Bouju G., Bernard C., et al. Prevalence of hypobetalipoproteinemia and related psychiatric characteristics in a psychiatric population: results from the retrospective *HYPOPSY* Study. *Lipids Health Dis* 2018; 17(1): 249.

- Cenik B., Cenik C., Snyder MP., Brown ES.** Plasma sterols and depressive symptom severity in a population-based cohort. *PloS One* 2017; 12(9): e0184382.
- Colin A., Reggers J., Castronovo V., Ansseau M.** Lipids, depression and suicide. *Encephale* 2003; 29(1): 49-58.
- Corbet C., Feron O.** Emerging roles of lipid metabolism in cancer progression. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2017; 20(4): 254-260.
- Crook MA.** Hypoglycemia, hypotriglyceridemia and starvation associated with cardiogenic shock. *Nutrition* 2014; 30(9): 1093-1094.
- De Fost M., Langeveld M., Franssen R., et al.** Low HDL cholesterol levels in type I Gaucher disease do not lead to an increased risk of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2009; 204(1): 267-272.
- Dubé MP., Cadden JJ.** Lipid metabolism in treated HIV infection. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25(3): 429-442.
- Dušejská M., Staňková B., Vecka M., et al.** Lipid Metabolism in Patients with End-Stage Renal Disease: A Five-Year Follow-up Study. *Curr Vasc Pharmacol* 2018; 16(3): 298-305.
- Dušejská M., Vecka M., Rychlík I., et al.** Etiologie a management dyslipidemie u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. *Vnitř Lék* 2020; 66(5): 275-281.
- Ferreira H., Ramos RN., Quan CF., et al.** Chylomicron retention disease: a description of a new mutation in a very rare disease. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 2018; 21(2): 134-140.
- Filippas-Ntekouan S., Liberopoulos E., Elisaf M.** Lipid testing in infectious disease: possible role in diagnosis. *Infection* 2017; 45(5): 575-588.
- Fiorenza AM., Branchi A., Sommariva D.** Serum lipoprotein profile in patients with cancer. A comparison with non-cancer subjects. *Int J Clin Lab Res* 2000; 30(3): 141-145.
- Garver WS., Jelinek D., Meaney FJ., et al.** The National Niemann-Pick Type C1 Disease Database: correlation of lipid profiles, mutations, and biochemical phenotypes. *J Lipid Res* 2010; 51(2): 406-415.
- Green P., Theilla M., Singer P.** Lipid metabolism in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2016; 19(2): 111-115.
- Hassan M.** ANGPTL3: A novel modulator of lipid metabolism. *Glob Cardiol Sci Pract* 2017; 2017(1): e201706.
- Hooper AJ., Burnett JR.** Update on primary hypobetalipoproteinemia. *Curr Atheroscler Rep* 2014; 16(7): 423.
- Jain M., Jain A., Yerragonda N., et al.** The triglyceride paradox in stroke survivors: A prospective study. *Neurosci J* 2013; 2013: 870608.
- Kalužna M., Trzeciak I., Ziemnicka K., et al.** Endocrine and metabolic disorders in patients with Gaucher disease type 1: a review. *Orphanet J Rare Dis* 2019; 14(1): 275.
- Loria P., Marchesini G., Nascimbeni F., et al.** Cardiovascular risk, lipidemic phenotype and steatosis. A comparative analysis of cirrhotic and non-cirrhotic liver disease due to varying etiology. *Atherosclerosis* 2014; 232(1): 99-109.
- Mach F., Baigent C., Catapano AL., et al.** 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2020; 41(1): 111-188.
- Muntoni S., Atzori L., Mereu R., et al.** Serum lipoproteins and cancer. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19(3): 218-225.

Nejedlý B. Možnosti výživy nemocných. Účelová publikace Ministerstva zdravotnictví a sociálních věcí, Praha 1989.

Olsson AG., Angelin B., Assmann G., et al. Can LDL cholesterol be too low? Possible risks of extremely low levels. *J Intern Med* 2017; 281(6): 543-553.

Parekh A., Smeeth D., Milner Y., et al. The role of lipid biomarkers in major depression. *Healthcare (Basel)* 2017; 5(1): E5.

Perez-Matos MC., Sandhu B., Bonder A., et al. Lipoprotein metabolism in liver diseases. *Curr Opin Lipidol* 2019; 30(1): 30-36.

Persons JE., Fiedorowicz JG. Depression and serum low-density lipoprotein: A systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord* 2016; 206: 55-67.

Pollin TL., Damcott CM., Shen H., et al. A null mutation in human APOC₃ confers a favorable plasma lipid profile and apparent cardioprotection. *Science* 2008; 322(5908): 1702-1705.

Pownall HJ., Gotto AM. Jr. Human plasma lipoprotein metabolism. In: Ballantyne Clinical Lipodology. A companion to Braunwald's Heart Disease. Philadelphia: Saunders Elsevier 2009, 11-25.

Privitera G., Spadaro L., Marchisello S., et al. Abnormalities of lipoprotein levels in liver cirrhosis: Clinical relevance. *Dig Dis Sci* 2018; 63(1): 16-26.

Ramasamy I. Update on the Molecular biology of dyslipidemias. *Clin Chim Acta* 2016; 454: 143-185.

Remaley AT., Dayspring TD., Warnick GR. Lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and other cardiovascular risk factors. In: Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. Rifal N., Horvath AR., Witwr CT. (Eds.). St. Louis, Missouri: Elsevier 2018, 539-603.

Ryu WS., Lee SH., Kim CK., et al. Effects of low serum triglyceride on stroke mortality: a prospective follow-up study. *Atherosclerosis* 2010; 212(1): 299-304.

Shalev H., Kapelushnik J., Moser A., et al. Hypocholesterolemia in chronic anemias with increased erythropoietic activity. *Am J Hematol* 2007; 82(3): 199-202.

Shashi A., Sharma N. Alteration in lipid metabolism in patients of thyroid hyperfunction. *Int J Bas Appl Med Sci* 2015; 5(1): 75-85.

Soran H., Ho JH., Durrington PN. Acquired low cholesterol: diagnosis and relevance to safety of low LDL therapeutic targets. *Curr Opin Lipidol* 2018; 29(4): 318-326.

Sundaram M., Zhong S., Bou Khalil M., et al. Functional analysis of the missense APOC₃ mutation Ala23Thr associated with human hypotriglyceridemia. *J Lipid Res* 2010; 51(6): 1524-1534.

Valleix S., Verona G., Jourde-Chiche N., et al. D25V apolipoprotein C-III variant causes dominant hereditary systemic amyloidosis and confers cardiovascular protective lipoprotein profile. *Nat Commun* 2016; 7: 10353.

Vevera J. Cholesterol, násilí a sebevražednost – příběh plný omylů. *Čas Lék čes* 2006; 145(2): 118-122.

Vigil-De Gracia P. Acute fatty liver and HELLP syndrome: two distinct pregnancy disorders. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 73(3): 215-220.

Vitols S., Angelin B., Ericsson S., et al. Uptake of low density lipoproteins by human leukemic cells *in vivo*: relation to plasma lipoprotein levels and possible relevance for selective chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87(7): 2598-2602.

Welty FK. Hypobetalipoproteinemia and abetalipoproteinemia. *Curr Opin Lipidol* 2014; 25(3): 161-168.

Westermann MP. Hypocholesterolaemia and anaemia. *Br J Haematol* 1975; 31(1): 87-94.

Wilburn KM., Fieweger RA., Vanderven BC. Cholesterol and fatty acids grease the wheels of *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis. *Pathog Dis* 2018; 76(2): fty021.

Yavasoglu I., Trombologlu M., Kadikoylu G., et al. Cholesterol levels in patients with multiple myeloma. *Ann Hematol* 2008; 87(3): 223-228.

Zhou P., Li B., Liu B., et al. Prognostic role of serum total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in cancer survivors. *Clin Chim Acta* 2018; 477: 94-104.

Žák A., Vecka M., Tvrzická E., et al. Composition of plasma fatty acids and non-cholesterol sterols in anorexia nervosa. *Physiol Res* 2005; 54(4): 443-451.

Žák A. Poruchy metabolismu lipidů a lipoproteinů. In: Zima T. *Laboratorní diagnostika*. 3. dopl. a přepr. vyd. Praha: Galén 2013, 169-207.

FARMAKOTERAPIE DYSLIPIDEMIÍ – PŘEHLED NOVÝCH POZNATKŮ**PHARMACOTHERAPY OF DYSLIPIDEMIAS - AN OVERVIEW OF NEW FINDINGS****A.Žák, M. Zeman, M. Vecka, J. Macášek, A. Slabý***IV. interní klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze***Abstrakt**

Cílem farmakoterapie dyslipidemií (DLP) je snížení rizika aterosklerotických kardiovaskulárních (KV) onemocnění a především KV a celkové mortality. Účelem farmakoterapie DLP je dosažení žádoucích koncentrací LDL-C, která činí u pacientů s velmi vysokým rizikem 1,40 mmol/l a u vysokého rizika 1,80 mmol/l. Střední (resp. nízké) riziko KVO vyžaduje koncentrace LDL-C 2,60 (resp. 3,00) mmol/l. Je podán přehled konvenčních hypocholesterolemických farmak (statiny, ezetimib, sekvestranty žlučových kyselin) i nových léků, které blokují aktivitu PCSK9 (monoklonální protilátky, specifické antisense oligonukleotidy, malé interferující molekuly RNA), preparátů blokujících MTTP a kyselinu bempedovou. Mezi konvenční farmaka s hypotriglyceridemickým účinkem se řadí statiny, fibráty, niacin a omega-3 mastné kyselin (EPA). Mezi nová farmaka s hypotriglyceridemickým účinkem patří *pradigastat* (inhibitor střevní diacylglycerolové transferázy). U familiárního deficitu lipoproteinové lipázy je možností genová terapie aplikací lidské hyperfunkční mutací *LPL* genu (*alipogen tiparvovek*.) Tuto skupinu doplňují selektivní modulátory PPAR α receptorů (*pemafibrát*), specifické antisense oligonukleotidy vážící se na APOC3 mRNA (*volanosersen*), *ANGPTL3* mRNA, dále malé interferující RNA proti *ANGPTL3* a *APOC3*. Klinické mají také monoklonální protilátky proti *ANGPTL3* (*evinacumab*).

Abstract

The goal of pharmacotherapy of dyslipidemias (DLP) is to reduce the risk of atherosclerotic cardiovascular diseases (CVD), and cardiovascular and overall mortality. The purpose of DLP pharmacotherapy is to achieve the desired LDL-C concentrations i.e. 1.40 mmol/L for patients at very high-risk, 1.80 mmol/L for patients at high-risk. The individuals at moderate (respectively low) risk desired levels of LDL-C are 2.60 and 3.00 mmol/L. An overview of conventional hypocholesterolemic drugs (statins, ezetimibe, bile acid sequestrants) as well as new drugs that block PCSK9 activity (monoclonal antibodies, specific antisense oligonucleotides, small interfering RNA molecules), inhibitor of microsomal triglyceride transfer protein and *bempedic acid* (inhibitor ATP: citrate lyase) are reviewed. Conventional drugs with hypotriglyceridemic activity include statins, fibrates, niacin and omega-3 fatty acids (EPA). New drugs with hypotriglyceridemic effects include *pradigastat* (an intestinal diacylglycerol transferase inhibitor). In familial lipoprotein lipase deficiency, gene therapy is possible by application of human hyperfunctional mutations of the LPL gene (*alipogen tiparvovek*). This group is complemented by selective modulators of PPAR α receptors (*pemafibrate*), specific antisense oligonucleotides that bind to APOC3 mRNA (*volanosersen*), and *ANGPTL3* mRNA, as well as small interfering RNA against *ANGPTL3* and *APOC3*. Moreover,

pronounced hypotriglyceridemic effect reveals monoclonal antibodies against ANGPTL3 (*evinacumab*).

Úvod

Cílem farmakoterapie dyslipidemií (DLP) je snížení rizika aterosklerotických kardiovaskulárních onemocnění a především kardiovaskulární (KV) a celkové mortality.

Přes široké klinické použití konvenčních hypolipidemik a významné pokroky ve vývoji nových farmak modifikujících koncentrace plasmatických lipidů a lipoproteinů (LP), zůstává základem léčby DLP úprava životosprávy sestávající z pravidelné fyzické aktivity, ukončení kouření a dietních opatření. Je nutné zdůraznit, že úprava životosprávy může, při dodržování doporučených opatření snížit především koncentrace triglyceridů (až o 50 %), zatímco pokles celkového cholesterolu (TC) a LDL-cholesterolu (LDL-C) je méně výrazný a dosahuje maximálně 10 – 15 %. V závislosti na celkovém kardiovaskulárním (KV) riziku, aktuálních koncentracích lipidů, apolipoproteinů (apo) a komorbiditách je indikována specifická farmakologická léčba.

Primárním léčebným cílem farmakoterapie DLP, bez ohledu na typ LP poruchy, je dosažení žádoucí koncentrace LDL-C, která zohledňuje individuální KV riziko. Mezi sekundární cíle hypolipidemické léčby patří dosažení žádoucích koncentrací non-HDL-cholesterolu (non-HDL-C), triglyceridů (TG), apolipoproteinu (apo) B100, cholesterolu v remnantních částicích (R-C) a lipoproteinu (a) [Lp (a)].

Bylo prokázáno, že každé snížení LDL-C o 1 mmol/l je spojeno přibližně s 22 % snížením rizika KV morbidity a mortality. Pokles non-HDL-C o 1 mmol/l je spojen se snížením rizika KV chorob o 21 % a pokles TG o 1 mmol/l snižuje riziko KV chorob o 16 %. U nemocných s hypertriglyceridemií (metabolickým syndromem, DM 2. typu) je přesnější užití koncentrace non-HDL-C, jejichž hodnoty jsou oproti LDL-C vyšší o 0,80 mmol/l. Bez ohledu na kategorii rizika, žádoucí hodnoty TG jsou < 1,7 mmol/l a hladiny HDL-C nad 1,0 mmol/l u mužů, resp. nad 1,20 mmol/l u žen. Koncentrace TG nalačno jsou surogátním markerem hladin lipoproteinů bohatých na TG (TRP, triglyceride rich lipoproteins), jejichž přesnějším ukazatelem je koncentrace cholesterolu v remnantních lipoproteinech (R-C). Hraniční koncentrace R-C je menší než 0,8 (resp. 0,9) mmol/l nalačno (resp. postprandiálně). Koncentrace apoB100 mají být nižší než 1,0 g/l u osob vysokým a pod 0,8 g/l s velmi vysokým rizikem. Koncentrace Lp(a) pod 0,18 g/l (32 nmol/l) nezvyšují KV riziko.

Důležitou součástí léčebné strategie u DLP smíšené etiologie a sekundárních DLP je také ovlivnění příčin hypertriglyceridémie (HTG). Ta je zaměřena na kontrolu hyperglykémie (resp. insulinové rezistence) u DM nebo prediabetických stavů, substituční léčbu u hypotyreózy (i subklinické), zvažování nezbytnosti podávání léků, které zvyšují koncentrace TG (kortikosteroidy, estrogeny, tamoxifen, thiazidová diuretika, β -blokátory, isoretinoidy, antipsychotika 2. generace).

Výše 10letého rizika úmrtí na KVO se odhaduje na základě systému SCORE (Systematic Risk Evaluation), který byl vyvinut po zpracování výsledků velkých evropských prospektivních studií (www.escardio.com). Tento systém předpovídá vznik fatálního KVO během deseti let na základě pohlaví, věku, kouření cigaret, systolického TK a koncentrace TC, nebo poměru TC/HDL-C. Skupina s velmi vysokým rizikem (kalkulované SCORE > 10 %) zahrnuje osoby s prokázaným KVO, prodělaným infarktem myokardu, akutním koronárním syndromem, koronární či jinou revaskularizací, ne-embolizační MCP či ischemickou chorobou dolních končetin. Dále DM2T, DM1T s orgánovým poškozením (např. mikroalbuminurií), chronické onemocnění ledvin (CKD > 3. stupně; GF < 60 ml/min/1,73m²). Ve skupině s vysokým rizikem (SCORE \geq 5% a < 10 %) jsou osoby s jedním významným

rizikovým faktorem (jako je DLP nebo těžká hypertenze). Ve skupině se středním rizikem jsou osoby, jejichž SCORE činí $\geq 1\%$ až $< 5\%$. Toto riziko dále modifikuje rodinná anamnéza předčasného KVO, abdominální obezita, nízká fyzická aktivita, pokles HDL-C, HTG, vyšší koncentrace hs-CRP, Lp(a), fibrinogenu, apoB100 a homocysteinu. Kategorie s nízkým rizikem zahrnuje osoby s rizikem fatálního KVO $< 1\%$.

Podle ESC/EAS 2019 u pacientů s velmi vysokým rizikem v sekundární prevenci (i), primární prevenci (ii) nebo u osob s familiární hypercholesterolémií jsou cílové koncentrace LDL-C pod 1,40 mmol/l a pokles LDL-C musí být větší než 50 % ve srovnání s před léčebnými hodnotami. U pacientů v sekundární prevenci, kteří byli léčeni intenzivní statinovou léčbou po dobu 2 let a došlo u nich recidivě kardiovaskulární příhody, by se měly zvážet koncentrace LDL-C pod 1 mmol/l. U pacientů s vysokým rizikem KVO se vyžadují cílové koncentrace LDL-C 1,80 mmol/l a pokles LDL-C během léčby vyšší než 50 %. U osob se středním rizikem KVO se zvážují cílové koncentrace LDL-C 2.60 mmol/l a u osob nízkým rizikem pod 3,0 mmol/l.

V následujícím textu budou v přehledu uvedena jak konvenční tak nová hypolipidemika s rozdělením na farmakoterapii hypercholesterolémie, hypertriglyceridémie a zvýšených koncentrací Lp(a).

Konvenční farmakoterapie hypercholesterolémie

Statiny jsou nejvíce předpisovanou skupinou hypolipidemik ovlivňujících jak zvýšené koncentrace LDL-C tak i TG. Z široké palety statinů je v ČR dostupný simvastatin, fluvastatin, atorvastatin a rosuvastatin. Jedná se o heterogenní skupinu sloučenin, které kompetitivně inhibují 3-hydroxy-3-metylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reduktázu. Snížení intracelulární koncentrace cholesterolu v játrech zvyšuje expresi LDL receptoru (LDLR), která ústí ve zvýšené vychytávání LDL a dalších LP obsahujících apoB (IDL, malé VLDL). Statiny jsou indikovány u všech typů DLP se zvýšenými koncentracemi LDL-C (LDL-C $\geq 3,40$ mmol/l), tj. u izolované hypercholesterolémie a smíšené hyperlipidémie. U smíšené hyperlipidémie je předpokladem vhodnosti statinu jako léku první volby koncentrace TG $< 5,20$ mmol/l. Statiny se liší farmakokinetikou (absorpce, lipofilie, biologická dostupnost a poločas, vazba na bílkoviny, jaterní biotransformace cestou cytochromu P450). Mezi nežádoucí účinky patří myopatie (u 5 – 10 % léčěných), elevace jaterních testů ($< 2\%$) a zvýšené riziko DM (5 - 10 %). Prospěch z léčby statiny na globální KV riziko je zhruba devětkrát vyšší než KV riziko asociované s DM. Cílem léčby statiny je dosažení cílové koncentrace LDL-C, podle kategorie rizika, a pokles LDL-C vyšší než 50 % při podávání maximálně tolerovatelné dávky. Hypolipidemická účinnost statinů, hodnocená procentuálním poklesem LDL-C závisí na typu statinu (rosuvastatin $>$ atorvastatin $>$ simvastatin $>$ fluvastatin) a dávce. Vysoce intenzivní léčba statiny (denní dávka atorvastatinu 40 – 80 mg, nebo rosuvastatinu 20 - 40 mg) je spojena s poklesem LDL-C až o 50 %. Současně se snižují koncentrace TG (viz dále) a mírně se zvyšuje HDL-C (5 - 10 %).

Sekvestranty žlučových kyselin Mezi sekvestranty žlučových kyselin (BAS, bile acid sequestrants, pryskyřice) se řadí cholestyramin, colestipol a colesevelam, látky na bási polymerů, které ve střevě ireverzibilně vážou žlučové kyseliny a přerušují jejich enterohepatální cirkulaci. Následně se zvyšuje exprese LDLR a urychluje katabolismus LDL a oxidace cholesterolu na žlučové kyseliny. BAS jsou účinnými léky snižujícími nejen TC a LDL-C, ale i KV mortalitu i morbiditu (studie LRC-CPPT). Cholestyramin v maximální dávce 24 g/den, colestipol v dávce 20 g/den a colesevelamu v dávce 4,5 g snižují LDL-C o 18 – 25 %. Mezi nežádoucí účinky BAS patří GI symptomy (dyspepsie, zácpa, flatulence), poruchy absorpce vitaminů rozpustných v tucích a indukce HTG, což omezuje podávání BAS

u smíšených DLP a HTG. Jejich indikace se omezuje na těhotné a kojící ženy, děti s těžkou hypercholesterolémií a nemocné s kontraindikací (resp. nesnášenlivostí) statinů. Nežádoucí účinky ze strany GIT pak významně omezují dlouhodobou adherenci na léčbu BAS.

Ezetimib Je inhibitorem střevní resorpce cholesterolu na podkladě interakce s NPC1L1 proteinem (Niemann-Pick C1-like protein 1). NPC1L1 je exprimován v kartáčové lemu enterocyty a žlučovém pólu hepatocytu. Lék se podává 1krát denně v dávce 10 mg. V monoterapii ezetimib snižuje LDL-C o 10 – 15 %. Kombinační léčba ezetimibu se statiny snižuje LDL-C o dalších 16 – 25 % a zlepšuje prognózu nemocných s ischemickou chorobou srdeční (studie IMPROVE-IT, SHARP). Ezetimib je indikován spolu se statinem, pokud samotným statinem v maximální tolerovatelné dávce nebylo dosaženo cílových hodnot LDL-C. Ezetimib zlepšuje citlivost na inzulin a snižuje saturaci žluči cholesterolem. Prakticky nemá nežádoucí účinky.

Inhibitory PCSK9 Proprotein-konvertáza subtilisin-kexin 9 (PCSK9) je bílkovina s krátkým biologickým poločasem, která je z plasmy eliminována vazbou na LDLR. Vazba PCSK9 na LDLR znemožní uvolnění LDL z komplexu a ten je degradován v lyzozomu. Přirozeně se vyskytuje mutace se ztrátou funkce, která se popisuje jako familiární hypobetalipoproteinémie II. typu. Lidské monoklonální protilátky proti PCSK9 (*alirocumab*, *evolocumab*) vazbou na PCSK9 brání interakci PCSK9 s receptorem LDLR a zvyšují expresi LDLR. Oba přípravky se podávají subkutánně, jednou za 2 – 4 týdny; *alirocumab* 75 – 150 mg/2 týdny (resp. 300 mg/4 týdny) a *evolocumab* 140 mg/2 týdny (resp. 420 mg/4 týdny). Pokles morbidity (nefatální infarkt myokardu, mozkové cévní příhody) po inhibitech PCSK9 byl popsán ve studiích FOURIER A ODDYSSEY OUTCOMES.

Inhibitory PCSK9 velmi významně snižují plazmatické koncentrace LDL-C (o 40 - 70 %), TG (o 17 - 20 %) i lipoproteinu Lp(a) o 20 - 30. Indikací k podávání inhibitorů PCSK9 je přídatná léčba u pacientů s FH, případně s jinou formou klinicky závažné hypercholesterolémie, u nichž maximálně (vysoce) intenzivní léčbou statinem v kombinaci s ezetimibem nebylo dosaženo cílových hodnot LDL-C nebo jeho pokles byl menší než 50 %. Další indikací PCSK9 je intolerance statinů případně kontraindikace jejich podávání. Frekvence nežádoucích účinků (chřipkové obtíže, příznaky podobné nachlazení, nauzea, bolesti zad, artralgie a reakce v místě aplikace) není významná.

Nová farmaka s hypocholesterolemickým účinkem

Kyselina bempedová Kyselina bempedová je inhibitorem ATP-citrát lyázy (ACLY), enzymu, který štěpí citrát na acetyl-CoA a oxalacetát. Snížením dostupnosti acetyl-CoA, inhibuje syntézu cholesterolu proximálně od působení HMG-CoA reductázy. Vzhledem k tomu, že ACLY je převážně exprimována v játrech, tak nedochází prakticky k projevům myopatií. Kyselina bempedová (BemA) se podává v dávce 40 – 120 mg denně. V monoterapii snižuje koncentrace LDL-Co 18 – 26 %, v kombinaci s ezetimibem dojde k dalšímu poklesu až na 48 %. Nedostatek cholesterolu v játrech působí přes aktivaci SREBP2x „up-regulaci“ jaterních LDLR a zvýšenou/urychlenou clearance LDL. Vzhledem k tomu, že ACLY je spolu s AMPK (AMP aktivovaná proteinová kináza) ústředním senzorem energetického příjmu a inhibice ACLY, snížením dostupnosti acetyl-CoA snižuje také syntézu TG, uvažuje se o jejím léčebném využití u stavů jako je metabolický syndrom, DM2T a nealkoholová choroba jater (NAFLD). Mezi přirozeně se vyskytující inhibitory ACLY patří *curcumin*, *resveratrol*, kyselina hydroxycitronová a některé polyfenoly (*cinamon*).

Mipomersen Je injekční antisense oligonukleotid (ASO) 2. generace, který inhibuje apoB mRNA. *Mipomersen* blokuje translaci a syntézu apoB s následnou sníženou sekrecí VLDL z jater a poklesem koncentrace LDL. Po aplikaci dochází k poklesu koncentrací LDL-C až o 60

% a koncentrací TG až o 36 %. Jako nežádoucí účinky byly popsány chřipkové příznaky (flu-like) a zvýšená akumulace lipidů v játrech. Je registrován v USA a používán v terapii homozygotů familiární hypercholesterolémie.

Lomitapid Je inhibitorem mikrozomálního transferového proteinu TG (microsomal triacylglycerol transfer protein, MTTP), který je nezbytný pro sestavení částic chylomikronů a VLDL. Snížením syntézy chylomikronů a VLDL, které mateřské LP, ze kterých vznikají částice IDL a LDL se snižují koncentrace LDL-C i TG. Mechanismus účinku nevyžaduje zapojení LDLR, a proto je vhodný i pro těžké formy (LDLR negativní) familiární hypercholesterolémie. Podává se v dávce 5 – 60 mg denně. *Lomitapid* (Juxtapid, Aegerion Pharmaceuticals) byl schválen pro léčbu homozygotní familiární hypercholesterolémie. Po podání maximální dávky *lomitapidu* se snižují koncentrace TG (o 60 %) i LDL-C (o 50 %). Je slabým inhibitorem CYP3A4 a po jeho podávání jsou možné lékové interakce s inhibitory P450 3A4 (atorvastatin, klaritromycin, ketokonazol).

Inclisiran *Inclisiran* působí pokles koncentrace LDL-C zásahem do produkce PCSK9 pomocí siRNA (small interfering RNA), která inhibuje translaci syntézy PCSK9. Pokles koncentrace LDL-C dosahuje až 60 %. Výhodou je subkutánní podání a trvání hypocholesterolemického působení až po dobu 4 měsíců.

Inhibitory ASBT Inhibitory ASBT (apical sodium-dependent bile acid transporter, *synonymum* IBAT, ileal bile acid transporter) potlačují reabsorpci žlučových kyselin v terminálním ileu. Mechanismem působení se podobají sekvestrantům žlučových kyselin. Intenzivně se zkoušejí jeho inhibitory (deriváty benzodiazepinu, benzamidu, naftolu a steroidů). IBAT může být terapeutickým cílem u řady onemocnění, kromě hyperlipidémie také u NAFLD, jaterní encefalopatie, idiopatických střevních zánětů, cholestatického pruritu a chronické idiopatické zácpy.

Konvenční farmakoterapie hypertriglyceridémie

K lékům snižujícím TG patří statiny, fibráty, kyselina nikotinová a PUFA n-3 ve farmakologické dávce (> 4 g/den). Z hlediska účinnosti, hodnocené poklesem koncentrace je můžeme seřadit následovně: fibráty > niacin = etylestery omega-3 více nenasycených mastných kyselin > statiny > ezetimib.

Statiny 3. generace (*atorvastatin*) a mikrostatiny (*rosuvastatin*, *pitavastatin*) mají v maximální dávce středně silný účinek na snížení TG (o 10 – 25 %). Statiny nejsou účinné pro léčbu hypertriglyceridémie při hladinách TG > 5,20 mmol/l. Ovlivnění hladin TG se přisuzuje zvýšenému vychytávání „malých VLDL“, částic IDL a remnantních chylomikronů LDL receptory. Hypertriglyceridémie vyšší nad 5,20 mmol/l je podmíněna přítomností „velkých VLDL“, které již nemohou být vychytávány pomocí LDLR.

Fibráty Jsou lékem první volby u nemocných s TG > 5,20 mmol/l. Snižují koncentrace TG o 30 – 50 %, zvyšují koncentrace HDL-C a mají variabilní účinek na hladinu LDL-C. Jsou agonisté nukleárních receptorů PPAR α . Modulují expresi četných genů, které řídí lipidový a glycidový metabolismus. Jejich hypolipidemický účinek je důsledkem urychleného katabolismu TRL (v důsledku aktivace LPL a snížené exprese apoC-III) v kombinaci s potlačením syntézy TG. Podávání fibrátů příznivě ovlivňuje lačnou i postprandiální HTG, zvyšuje HDL-C a snižuje zastoupení malých denzních LDL (sd-LDL) až o 50 %. V primárně a sekundárně preventivních studiích (HHS, VA-HIT, BIP, FIELD) měly největší prospěch z podávání fibrátů osoby s HTG, poklesem HDL-C a poměrem LDL-C/HDL-C > 5,0, včetně nemocných s aterogenní dyslipidémií. V ČR je dostupný ciprofibrát a fenofibrát. Ukazuje se, že podávání fibrátů oddaluje u DLP vývoj IGT a vznik DM2 a v tomto ohledu má podobný

účinek při kombinaci léčby se statiny. Fenofibrát snižuje mikroalbuminurii u DM2T a brání rozvoji diabetické retinopatie. Mezi nežádoucí účinky fibrátů se řadí dyspepsie (< 5 %), zarudnutí kůže (< 2 %), myopatie, zvl. u nemocných s CKD (< 5,5 %) a cholelitiáza (zvýšením litogenity žluče). Z laboratorních ukazatelů je s léčbou fibráty spojena elevace kreatininu a homocysteinu. V klinické praxi jsou fibráty indikovány u osob s HTG (TG \geq 5,20 mmol/l), poklesem HDL-C, obezitou (nadváhou) s abdominální distribucí tukové tkáně a inzulinorezistencí. Kombinaci léčby se statinem je indikována při trvající elevaci TG a non-HDL-C.

Niacin je účinné hypolipidemikum (snižující TG, LDL-C, Lp(a) a zvyšující HDL-C), jehož podávání je limitováno nežádoucími účinky (flush, cefalea, dyskomfort trávicího ústrojí, pruritus, hyperurikémie, deteriorace glukózové homeostázy, hepatopatie). Výsledky dvou lékových studií (AIM-HIGH, HPS2-THRIVE), které neprokázaly pokles incidence KV příhod po přidání niacinu ke statinu, vedly ke zrušení registrace niacinu v zemích EU včetně ČR. Nicméně z léčby niacinem by mohli profitovat nemocní s intolerancí statinů a hypercholesterolemií, případně nemocní s vysokými koncentracemi non-HDL-cholesterolu. Mechanismus hypolipidemického účinku je důsledkem sníženého toku NEFA z tukové tkáně do jater (inhibice bazální i stimulované lipolýzy), potlačení syntézy TG v játrech a zpomalení katabolismu HDL.

Vícenasycené mastné kyseliny řady n-3 (omega-3 PUFA), k nimž patří kyselina eikosapentaenová (EPA) a dokosahexaenová (DHA), snižují koncentrace TG řadou mechanismů. Jako přirozené ligandy stimulují nukleární receptory PPAR α , zčásti též PPAR γ , dále snižují expresi genu pro protein SREBP-1 (sterol response element binding protein) a ChREBP (carbohydrate response element binding protein), které stimulují lipogenezi. Zvýšení β -oxidace FA (v důsledku aktivace PPAR α a AMPK) zmenšuje jejich dostupnost pro syntézu TG a sekreci VLDL. V tukové tkáni n-3 PUFA potlačují chronickou subklinickou zánětlivou reakci. Snížení hladin TG je důsledkem inhibice lipolýzy potlačením stimulačního účinku prozánětlivých adipokinů (TNF- α , IL-6, IL-1) na hormonálně-senzitivní lipázu tukové tkáně. Tím se zmenšuje přísun volných mastných kyselin (FFA) z tukové tkáně do jater. Omega-3 PUFA také redukuje inzulinovou rezistenci jater a kosterního svalstva. Omega-3 PUFA (ve formě etylesterů EPA a DHA, nebo volné EPA a DHA) jsou indikovány u mírné až středně závažné HTG (2,30 – 5,60 mmol/l). Ve farmakologických dávkách (> 4 g/den) snižují TG o 20 – 30 %, v dávce 6 g/den dosahuje pokles TG 60 %. Také při nižších dávkách (1 – 2 g/den) byl prokázán pokles KV mortality a morbidit. Použití n-3 PUFA v prevenci a léčbě kardiometabolických onemocnění reflektuje jejich pleiotropní účinky (hypolipidemické působení, pokles obsahu lipidů v játrech a kosterním svalstvu, zvýšení insulinové sensitivity, potlačením chronického subklinického zánětu tukové tkáně, zlepšení endoteliální funkce, antiagregační účinky). Omega-3 PUFA (DHA) mají antiarytmické a hypotenzivní účinky. Dnes se předpokládá, že příznivé účinky na KV riziko jsou vlastní EPA, která snižuje TG, ale nezvyšuje, na rozdíl od DHA, koncentrace LDL-C. Navíc, EPA má protizánětlivé, antiagregační, a antioxidační účinky. Z hlediska klinické praxe by se měly doporučit etylestery EPA. Předpokládá se, že 1 g EPA denně sníží riziko ASCVD o 7 %, zatímco tato vlastnost DHA chybí a její podávání není spojeno s redukcí KV rizika.

Jako nadějný lék k ovlivnění HTG se ukazuje **konjugát niacinu s EPA** (CAT-2003, Catabis Pharmaceuticals), který redukuje lačné hodnoty TG o 30 % a postprandiální až o 90 % a nemá příznávané nežádoucí účinky.

Nová farmaka s hypotriglyceridemickým účinkem

Kromě nových léků indikovaných u familiárních hypercholesterolémii (*lomitapid*, *mipomersen*) s v léčbě hypertriglyceridémie využívá genová terapie, nové sloučeniny inhibující syntézu TG ve střevě a tvorbu chylomikronů. K moderním lékům se řadí i selektivní modulátory PPAR α receptorů. Další z nových možností léčby HTG je potlačení aktivit kofaktorů, které inhibují katabolismus VLDL a hydrolýzu jejich TG. Mezi tato farmaka patří monoklonální protilátky (mAb), specifické antisense oligonukleotidy (ASO) či malé interferující RNA (siRNA). Cílovou molekulou je apoC-III, který inhibuje aktivitu LPL, dále angiopoetin like protein typu 3 (ANGPTL3). Potlačení aktivity nebo blokáda syntézy ANGPTL3 zvyšuje aktivitu endoteliální lipázy (EL) a lipoproteinové lipázy (LPL) a akceleruje katabolismus VLDL a HDL s následným poklesem koncentrace VLDL, LDL-C a HDL-C.

Lomitapid - byl s úspěchem použit o familiárního deficitu LPL k zábraně atak rekurentní akutní pankreatitidy.

Mipomersen (jehož primární indikací je homozygotní FH) má použití též jako přídatný lék k redukci TG.

Pradigastat *Pradigastat* je perorální inhibitor střevní isoformy diacylglycerolové acyltransferázy (DGAT1). Byl zkoušen u familiárního deficitu lipoproteinové lipázy. Podávání snižovalo koncentrace TG nalačno o 70 % a postprandiální TG o 50 %.

Genová terapie U familiárního deficitu LPL (HLP fenotypu I) se používá genová terapie, která je v klinické praxi dostupná od r. 2012. Aplikuje se se *alipogen tiparvovek* (Glybera, uniQure), který je lidskou hyperfunkční mutací *LPL* genu (*LPL*^{S447X}) se složeným virovým vektorem. Aplikace zvyšuje syntézu LPL v kosterním svalstvu a snižuje lačné i postprandiální koncentrace TG o 40 %.

Selektivní PPAR α modulátory (SPPARM α) jsou novou skupinou léků s vysokou aktivitou a selektivitou vůči PPAR α . Jejich představitelem je *pemafibrát*, který vykazuje výrazný hypolipidemický účinek v důsledku zvýšené aktivity LPL, poklesu koncentrace apoCIII i ANGPTL3, zvýšené exprese ABCA1 a ABCG1. Na rozdíl od konvenčních fibrátů má příznivější bezpečnostní profil a menší interakci se statiny. Je metabolizován především játry, což umožňuje jeho podávání u chronického onemocnění ledvin a předpokládá se také jeho příznivý účinek u nealkoholové steatózy jater a DM2T. Očekávány jsou výsledky klinické studie podávání *pemafibrátu* u DM2T (studie PROMINENT).

Monoklonální protilátky proti ANGPTL3 *Evinacumab* je mAb proti ANGPTL3. Její aplikace u homozygotů familiární hypercholesterolémie vedla nejen k poklesu TG, ale i snížení koncentrace LDL-C až o 40 % (studie ELIPSE).

Volanosersen Je specifický antisense oligonukleotid (ASO) 2. generace, který se váže na *APOC3* mRNA a snižuje koncentrace TG až o 77 %, v širokém rozmezí TG (2 – 22 mmol/l).

Specifické ASO proti ANGPTL3 modifikované N-acetyl-galaktosaminem (GalNac) dosáhly v klinických studiích poklesu koncentrace TG o 63 % a LDL-C o 33 %.

Malé interferující RNA (siRNA) zaměřené proti apoC-III, modifikované GalNac, snižovaly koncentrace apoC-III až o 90 % a TG na jednu polovinu koncentrací před léčbou. Aplikace siRNA proti ANGPTL3, modifikované GalNac, snižovaly koncentrace specifického proteinu o 50 % a TG o 55 %.

Léky snižující koncentrace lipoproteinů (a)

Lipoprotein (a) [Lp (a)] je částice podobná LDL, u které je na molekulu apoB100 je navázán apo (a). Zvýšené koncentrace (> 0,18 g/l) jsou samostatným rizikovým faktorem ASCVD a kalcifikované aortální stenózy. Předpokládá se, že v aterosklerotických lézích je Lp(a) zdrojem oxidačně modifikovaných fosfolipidů, které spouští zánětlivou reakci ve stěně cévní. Apolipoprotein (a) je podobný plasminogenu a předpokládá se, že inhibuje trombolýzu. Mírné zvýšení KV rizika jsou dány koncentracemi Lp(a) v rozmezí 0,18-0,40 g/l střední riziko se přičítá koncentracím 0,40 – 0,90 g/l a vysoké riziko mají osoby s koncentracemi 0,90 – 1,80 g/l. Koncentrace v pásmu nejvyšších hodnot Lp(a) přináší nositelům, i při jinak „normálním“ lipidogramu KV riziko, které mají jedinci s familiární hypercholesterolémií. Management osob se zvýšenými koncentracemi Lp(a) zahrnuje redukci celkového KV rizika, přísnou kontrolu DLP. U osob s Lp (a) nad 0,40 g/l by koncentrace non-HDL-C měla být pod 2,50 mmol/l. *Niacin* snižoval koncentrace Lp(a) o 20 – 30 %.

Monoklonální protilátky (mAb) proti PCSK9 (*evolocumab*, *alirocumab*) a *mipomersen* vedly k poklesu Lp(a) o 20 – 30 %. Specifické ASO proti Lp (a) snižovaly koncentrace až o 80 %.

Další léčebné modalita ke snížení kardiovaskulárního rizika

Snížení rizika kardiovaskulárních chorob, které není spojeno s hypolipidemickou léčbou, představuje protizánětlivá léčba a vakcinace. Vakcinace proti chřipce a pneumokokovým infekcím snižuje riziko akutního infarktu myokardu až o 29 %. Použití mAb proti interleukinu 1β *canakinumabem*, (studie CANTOS) snížila riziko o 32 % riziko velkých nežádoucích KV příhod.

Práce byla podpořena výzkumnými projekty RVO VFN64165/2012 (MZ ČR) a PROGRES Q25 (1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy)

Reference

Barnes M., Heywood AE., Mahimbo A., et al. Acute myocardial infarction and influenza: A meta-analysis of case-control studies. *Heart* 2015; 101(21): 1738-1747.

Bittner V. Implication for REDUCE-IT in clinical practice. *Prog Cardiovasc Dis* 2019; 62(5): 395-400.

Brahm A., Hegele RA. Hypertriglyceridemia. *Nutrients* 2013; 5(3): 981-1001.

Budoff MJ., Bhatt DL., Kinninger A., et al. Effect of icosapent ethyl on progression of coronary atherosclerosis in patients with elevated triglycerides on statin therapy: final results of the EVAPORATE trial. *Eur Heart J* 2020; 41(40): 3925-3932.

Catapano AL., Reiner Z., De Backer G., et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. The Task Force for the dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis* 2011; 217(Suppl 1): S1-44.

Cegla J., Neely RDG., France M., et al. HEART UK consensus statement on Lipoprotein (a): A call to action. *Atherosclerosis* 2019; 291: 62-70.

Descamps OS., Verhaegen A., Demeure F., et al. Evolving concepts on the management of dyslipidaemia. *Acta Clin Belg* 2020; 75(1): 80-90.

Gryn SE., Hegele RA. Novel therapeutics in hypertriglyceridemia. *Curr Opin Lipidol* 2015; 26(6): 484-491.

- Hegele RA., Ginsberg HN., Chapman MJ., et al.** The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: implications for definition, Diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2(8): 655-666.
- Hussain A., Ballantyne CM., Saeed A., Virani SS.** Triglycerides and ASCVD risk reduction: recent insights and future directions. *Curr Atheroscler Rep* 2020; 22(7): 25.
- Karalis DG.** A Review of Practical Guidelines for the management of Hypertriglyceridemia: A Focus on High Dose Omega-3 Fatty Acids. *Adv Ther* 2017; 34(2): 300-323.
- Mach F., Baigent C., Catapano AL., et al.** 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2020; 41(1): 111-188.
- Marston NA., Giugliano RP., Im K., et al.** Association between triglyceride lowering and reduction cardiovascular risk across multiple lipid-lowering therapeutic classes: A systemic review and meta-regression analysis of randomized controlled trials. *Circulation* 2019; 140(16): 1308-1317.
- Mason RP., Libby P., Bhatt DL.** Emerging mechanism of cardiovascular protection for the omega-3 fatty acid eicosapentaenoic acid. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2020; 40(5): 1135-1147.
- Mori TA.** Marine OMEGA-3 fatty acids in the prevention of cardiovascular disease. *Fitoterapia* 2017; 123: 51-58.
- Nishikido T., Ray KK.** Inclisiran for the treatment of dyslipidemia. *Expert Opin Investig Drugs* 2018; 27(3): 287-294.
- Pinkoski SL., Groot PHE., Lalwani ND., Steinberg GR.** Targeting ATOP-citrate lyase in hyperlipidemia and metabolic disorders. *Trends Mol Med* 2017; 23(11): 1047-1063.
- Ridker PM., Everett BM., Thuren ET., et al.** Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med* 2017; 377(12): 1119-1131.
- Rygiel K.** Hypertriglyceridemia – common causes, prevention and treatment strategies. *Curr Cardiol Rev* 2018; 14(1): 67-76.
- Sandesara PB., Virani SS., Fazio S., Shapiro MD.** The forgotten lipids: triglycerides, remnant cholesterol, and atherosclerotic cardiovascular disease risk. *Endocr Rev* 2019; 40(2): 537-557.
- Sheikh O., Vande Hei AG., Battisha A., et al.** Cardiovascular, electrophysiologic, and hermatologic effects of omega-3 fatty acids beyond reducing hypertriglyceridemia: as it pertains to the recently published REDUCE-IT trial. *Cardiovasc Diabetol* 2019; 18(1): 84.
- Toth PP.** Antisense therapy and emerging applications for the management of dyslipidemia. *J Clin Lipidol* 2011; 5(6): 441-449.
- Tsimikas S., Karwowska-Prokopczuk E., Gouni-Berthold J., et al.** Lipoprotein(a) reduction in persons with cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2020; 382(3): 244-255.
- Valanti E-K., Dalakoura-Karagkouni K., Siasos G., et al.** Advances in biological therapies for dyslipidemias and atherosclerosis. *Metabolism* 2021; 116: 154461.
- Vrablík M., Češka R.** Farmakoterapie dyslipidemií. In: *Markova farmakoterapie vnitřních nemocí*. Eds. J. Marek, M. Vrablík. Praha: Grada Publishing a.s. 2019, 495-528.
- Watanabe Y., Tatsuno I.** Omega-3 polyunsaturated fatty acids focusing on eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid in the prevention of cardiovascular diseases: a review of the state-of-the-art. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2021; 14(1): 79-93.

Yamashita S., Masuda D., Matsuzawa Y. Pemafibrate, a new selective PPAR α modulator: drug concept and its clinical applications for dyslipidemia and metabolic disease. *Curr Atheroscler Rep* 2020; 22(1): 5.

Yang N., Dong Y-Q., Jia G-X., et al. ASBT (SLC10A2): A promising target for treatment of disease and drug discovery. *Biomed Pharmacother* 2020; 132: 110835.