

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

a

4. INTERNÍ KLINIKA 1. LF UK

pořádají symposium s edukačním programem
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 2

diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku

P r a h a 14. - 15. září 2022

Hlavní název: ATHEROSKLEROSA 2022

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 2022

Cena: neprodejné

ISBN 978-80-905595-8-5

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**

ISBN 978-80-905595-8-5

O B S A H

Autor	Str.
Brůha	1
Dostálová	4
Gul'ášová	7
Gul'ášová	13
Hertelyová	22
Holeček	23
Hurajtová	28
Chrpová	33
Lejsková	34
Macášek	44
Nachtigal	55
Pánek	58
Růžičková	59
Szabóová	60
Šmíd	64
Taxová Braunerová	66
Včelák	67
Vecka	68
Zeman	79
Žák	92
Žák	101

Redakce: St. Eichlerová, J. Macášek
4. interní klinika 1. LF UK

NEALKOHOLOVÁ TUKOVÁ CHOROBA JATER – PŘEKONANÁ DIAGNÓZA?

NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE - OVERCOME DIAGNOSIS?

R. Brůha

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

Nealkoholová tuková choroba jater (*Non-alcoholic fatty liver disease* – **NAFLD**) zahrnuje široké spektrum patologických stavů od prosté **jaterní steatózy** přes zánětlivé změny jaterního parenchym (**nealkoholová steatohepatitida - NASH**), různý stupeň jaterní fibrózy, až po jaterní cirhózu (1). Prevalence NAFLD se pohybuje celosvětově mezi 17 - 46 % v dospělé populaci (2), v evropské populaci je prevalence NAFLD kolem 25 % a prevalence NASH pravděpodobně mezi 1,5 - 6,5 % (3). Cirhóza na podkladě NAFLD/NASH je dnes druhou až třetí nejčastější indikací k transplantaci jater.

Definice NAFLD je dána přítomností steatózy jater (diagnostikované zobrazovacími metodami nebo histologicky) a vyloučením jiných příčin akumulace tuku v játrech jako jsou nadměrná konzumace alkoholu, užívání určitých léků, některé vrozené metabolické choroby a jiné chronické jaterní choroby (4). NAFLD souvisí především s výskytem metabolického syndromu (spjatého s inzulínovou rezistencí) a jeho jednotlivými komponentami (centrální obezita, diabetes 2. typu – DM2, aterogenní dyslipidémie a arteriální hypertenze).

NAFLD se dnes považuje za součást či přímo jaterní manifestaci metabolického syndromu. Snahu o vyjádření metabolické povahy NAFLD představuje změna názvu i diagnostických kritérií této jaterní choroby navrhovaná některými autory - **MAFLD (*Metabolic associated fatty liver disease*)** (5,6). Úvahy o změně názvu jsou vedeny snahou postavit diagnózu na pozitivních diagnostických kritériích (přítomnost steatózy + klinická situace jako je přítomnost obezity, diabetu či metabolické dysregulace) oproti negativním diagnostickým kritériím pro NAFLD (vyloučení jiných příčin jaterního onemocnění), zdůraznění možnosti dvojí etiologie jaterní choroby (i nadměrný přísun alkoholu se může podílet na metabolických změnách vedoucích k NAFLD) a rozšíření počtu pacientů, kteří mají riziko vývoje pokročilé jaterní choroby.

Změna názvu i diagnostických kritérií jakékoli choroby však vyvolává mnoho otázek.

Existence NAFLD byla popsána již před mnoha desetiletími, ale dlouho panovala velká skepse ohledně skutečného významu této choroby. To se podařilo překonat až v poslední době, kdy panuje obecná shoda na tom, že NAFLD je v současnosti nejčastějším chronickým jaterním onemocněním (4), nese s sebou významnou zdravotní zátěž podstatné části populace a je také významným a nezávislým rizikovým faktorem pro vývoj kardiovaskulárních onemocnění, chronických ledvinných onemocnění a některých nádorů. Význam NAFLD si pomalu začínají uvědomovat i jiné odbornosti než hepatologové. Téma NAFLD se stává běžnou součástí kongresů v oblasti interny, endokrinologie/diabetologie, obezitologie či kardiologie. Nedávno byla například zveřejněna výzva 7 významných odborných společností napříč různými odbornostmi, která upozornila na nutnost pátrání po přítomnosti NAFLD v rizikových skupinách pacientů (7). Změna názvu i diagnostických kritérií NAFLD by mohla vést k nedorozumění a mohla by omezit roky budovanou spolupráci s jinými odbornostmi a postupnou implementaci screeningu NAFLD v rizikových skupinách pacientů (8).

Změna diagnostických kritérií pro MAFLD vychází ze známé souvislosti NAFLD s metabolickým syndromem. Jednotlivá kritéria navrhané „metabolické dysregulace“ znamenající diagnózu MAFLD však přesahují standardní diagnostická kritéria metabolického syndromu a mohou tak vést k dalšímu nedorozumění při komunikaci s ostatními odbornostmi. Zhruba 2 desetiletí je věnována extrémní snaha vývoji neinvazivní diagnostiky a léčebným postupům NAFLD/NASH. Tato snaha sponzorovaná jak na národní, tak na mezinárodní úrovni odbornými společnostmi, akademickou sférou, farmaceutickým i biomedicínským průmyslem vedla k vytvoření mnoha obecně platných doporučení a postupů, včetně doporučení FDA a Evropské lékové agentury (EMA) k posuzování efektu léčby NAFLD/NASH. Změna diagnostických kritérií MAFLD a odklon od diagnostiky NAFLD/NASH by mohl znamenat znehodnocení klinických studií, které v současnosti probíhají (bez ohledu na skutečnost, že dosud žádný lék nebyl pro tuto indikaci schválen).

Závěrem lze říci, že nový pojem MAFLD lépe postihuje etiologii jaterní léze u většiny pacientů s NAFLD a lépe než stará definice NAFLD popisuje rizikové faktory; v odborné literatuře však nepanuje ohledně změny terminologie jednoznačná shoda.

Případná změna názvu i diagnostických kritérií NAFLD/MAFLD by se ideálně měla uskutečnit ve shodě všech zúčastněných subjektů: odborných společností, státních institucí, regulačních úřadů, plátců zdravotních služeb, patientských organizací i zástupců farmaceutického a biomedicínského průmyslu (9).

Dle mého osobního názoru by vhodnější cestou bylo zdůrazňování možné „duální“ etiologie jaterního postižení u pacientů s NAFLD a další rozšiřování povědomí o významu NAFLD mezi odborností mimo hepatologii/gastroenterologii.

Práce byla podpořena výzkumným projektem MZ ČR – RVO VFN64165 a Cooperatio 11158207034-2 gastroenterology

Literatura

1. **EASL-EASD-EASO** Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2016; 64(6): 1388-1402.
2. **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.
3. **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.
4. **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.
5. **Eslam M., Sanyal AJ., George J.** MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2020; 158(7): 1999-2014.e1.
6. **Eslam M., Newsome PN., Sarin SK., et al.** A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol* 2020; 73(1): 202-209.
7. **Kanwal F., Shubrook JH., Younossi Z., et al.** Preparing for the NASH epidemic: A call to action. *Obesity (Silver Spring, Md)* 2021; 29(9): 1401-1412.

8. **Lazarus JV., Mark HE., Villota-Rivas M., et al.** The global NAFLD policy review and preparedness index: Are countries ready to address this silent public health challenge? *J Hepatol* 2022; 76(4): 771-780.
9. **Younossi ZM., Rinella ME., Sanyal AJ., et al.** From NAFLD to MAFLD: Implications of a Premature Change in Terminology. *Hepatology* 2021; 73(3): 1194-1198.

Adresa pro korespondenci:

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

MOHOU ROSTLINNÉ ALTERNATIVY NAHRADIT POTRAVINY ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU Z HLEDISKA VÝŽIVOVÉHO?

CAN PLANT-BASED ALTERNATIVES REPLACE ANIMAL-BASED FOODS FROM A NUTRITION POINT OF VIEW?

J. Dostálová

*VŠCHT Praha, Společnost pro výživu
UCHT Prague, The Czech Society for Nutrition*

Abstrakt

Je provedeno výživové hodnocení nejčastěji používaných rostlinných náhrad, zejména sóji, potravin živočišného původu - mléka a mléčných výrobků a masa a masných výrobků. Výživová hodnota rostlinných náhrad je zcela odlišná a náhrady by se měly konzumovat pouze na zpestření jídelníčku a nikoliv jako úplná náhrada, zejména ne u dětí.

Abstract

Nutrition evaluation of plant-based alternatives, especially from soya, of animal-based foods (milk and milk products and meat and meat products) is presented. The nutrition value of plant-based alternatives is very different and therefore they should be consumed only to diversity the menu, not as complete substitute.

Úvod

V současné době, zejména u mladé generace, stále více vzrůstá obliba rostlinných náhrad potravin živočišného původu, hlavně mléka a mléčných výrobků a masa a masných výrobků. Pokud slouží náhrady pouze jako zpestření jídelníčku, není to z hlediska výživového problém. Když se rostlinnými náhradami zcela nahradí živočišné potraviny, může dojít k nedostatku některých živin, zejména u dětí, těhotných a kojících žen a seniorů. Je zvláštní, že lidé, kteří konzumují rostlinné náhrady, většinou odmítají tzv. vysoce průmyslově zpracované potraviny, které často obsahují větší počet látek přídatných tzv. éček, přičemž rostlinné náhrady mezi tyto potraviny většinou patří. Do některých nahrazovaných potravin např. do mléka, bílých jogurtů, masa aj. se éčka přidávat nesmějí. V následujícím textu bude uvedeno srovnání mléka a mléčných výrobků a masa a jejich nejčastějších náhrad.

Srovnání mléka a rostlinných nápojů

V současné době je na trhu nejvíce rostlinných nápojů (podle legislativy, která je v Evropské unii se nesmí se označovat jako rostlinná mléka, protože se jedná o zcela odlišné potraviny). Nejčastěji se konzumují nápoje sójové. Rozdíly mezi mlékem a sójovým nápojem jsou následující:

* bílkoviny sóji jsou neplnohodnotné (neobsahují všechny esenciální (nezbytné) aminokyseliny v dostatečném množství

* sójový tuk neobsahuje cholesterol a má lepší složení mastných kyselin než mléčný tuk, ale v sušených sójových nápojích je nahrazen ztuženými tuky, které většinou příznivé složení nemají. Obsahují vysoké množství nasycených mastných kyselin. V současné době již neobsahují trans mastné kyseliny.

* pozitivem pro lidi nesnášející laktózu je, že sójové nápoje ji neobsahují

- * obsahují méně vápníku, který je navíc méně využitelný než v mléce (využitelnost vápníku z mléka je vyšší než 30 %, ze sójových nápojů nižší než 10 %, některé nápoje se proto vápníkem obohacují, ale využitelnost vápníku z nich může být nižší než z mléka)
- * v kravském mléce je vyšší obsah vitamínu A a obsahuje na rozdíl od sójových nápojů vitamín B₁₂ a vitamín D
- * vápníku, fosforu, zinku a některých dalších minerálních látek obsahují sójové nápoje (pokud nejsou obohacené) výrazně méně než mléko kravské
- * v sójových nápojích jsou přítomny antinutriční a přírodní toxické látky (nestavitelné oligosacharidy způsobující nadýmání, saponiny, alergeny (sója je větším alergenem než mléko), goitrogeny, fytoestrogeny (mají vliv na lidské pohlavní hormony a mají nepříznivý vliv u mužů, dětí a při vysoké konzumaci i u žen ve fertilním věku; působí pozitivně pouze u žen v menopauze) aj.)

I další rostlinné nápoje mají odlišnou výživovou hodnotu než mléko. Jedná se hlavně o nižší kvalitu bílkovin, nižší obsah vápníku, který je navíc výrazně méně využitelný a nepřítomnost vitamínu B₁₂. Některé nápoje jsou vápníkem a vitamíny obohaceny. Rostlinná nápoje z dražších surovin např. mandlí mají nízký obsah sušiny, a proto jsou do nich přidávána zahušťovadla. Častěji než v mléce jsou nacházeny kontaminanty např. kadmium, arsen, morfinové alkaloidy z máku aj. Rostlinné nápoje z ovsa mají pozitivum v obsahu beta-glukanů, působících v prevenci kardiovaskulárních onemocnění

Hodnocení rostlinných náhrad sýrů

Rostlinné náhrady sýrů obsahují většinou modifikovaný škrob, kokosový tuk, různá „éčka“ a aromata. Neobsahují bílkoviny a řadu dalších živin. Některými např. vápníkem a vitamíny mohou být obohaceny. Složení kokosového tuku je z hlediska výživového nepříznivé. Rozdíl. Pro většinu konzumentů negativní) je i v sensorické hodnotě – chuti, vůni a textuře (jsou lákavé).

Hodnocení rostlinných náhrad masa

Rostlinné náhrady masa jsou většinou na bázi sóji. Hlavní rozdíly mezi masem jatečných zvířat a „masem“ sójovým jsou:

- * nepřítomnost tuku a cholesterolu
- * nižší energetická hodnota
- * přítomnost vlákniny
- * nižší kvalita bílkovin
- * malá využitelnost železa
- * nepřítomnost vitamínu B₁₂
- * jiné sensorické vlastnosti (pro většinu konzumentů horší)
- * přítomnost antinutričních látek
- * vyšší počty látek přídatných (éček) ve výrobcích a pokrmech

První tři body jsou pozitivem rostlinných náhrad, ostatní již představují negativě.

Závěr

Použití rostlinných náhrad potravin živočišného původu pro zpestření jídelníčku není z hlediska výživového problém. Úplná náhrada živočišných potravin potravinami rostlinnými může způsobit nedostatek řady živin, zejména plnohodnotných bílkovin, minerálních látek (vápníku, železa zinku aj.) a některých vitaminů, zejména vitaminu B₁₂ a D. Problematická je i přítomnost přírodních toxických a antinutričních látek, zejména u náhrad ze sóje. Zvýšené riziko je u dětí, těhotných a kojících žen a seniorů. V případě vysoké konzumace výrobků ze sóje i u mužů.

Literatura

Kolektiv autorů: Mléko a mléčné výrobky – rozdíly a souvislosti s výrobky rostlinnými, Publikace Potravinářské komory České republiky, České technologické platformy pro potraviny a Centra zemědělsko-potravinářského výzkumu a inovací, 1. vydání, Praha, 2021
Velíšek J., Hajšlová J. Chemie potravin. 3. vyd. OSSIS 2009.
Údaje na obalech potravin

POROVNANIE PRÍJMU RASTLINNÝCH A ŽIVOČÍŠNYCH ZDROJOV OMEGA-3 PNMK NA METABOLIZMUS OMEGA-6 A OMEGA-3 POLYNENASÝTENÝCH MASTNÝCH KYSELÍN

COMPARISON OF THE INTAKE OF PLANT AND ANIMAL SOURCES OF OMEGA-3 PNMK ON THE METABOLISM OF OMEGA-6 AND OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS

Z. Gul'ášová, Z. Hertelyová, I. Bertková, J. Fedačko

Center of Clinical and Preclinical Research MEDIPARK, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice

Abstrakt

Omega-3 fatty acids show significant anti-inflammatory, antiatherogenic, antithrombotic, hypolipidemic, antiaggregative, antiarrhythmogenic, hypotensive, neuroregulatory and antiproliferative effects. In the practical part, we monitored changes in the composition of fatty acids during the first five days of supplementation with a focus on omega-6 and omega-3 in a group of women aged 20-35, who were divided into 3 groups - chia control and fish oil. In both experimental groups, we noted positive changes in the omega-6/omega-3 ratio, but the more significant changes were in the group with fish oil. In the control group, we observed changes in the composition of fatty acids depending on the food consumed.

Úvod

Omega-6 a omega-3 polynenasýtené mastné kyseliny patria medzi esenciálne a ľudský organizmus ich nie je schopný syntetizovať, pretože mu chýbajú enzýmy, ktoré indukujú tvorbu dvojitych väzieb za deviatym uhlíkom (Peiretti, Gai, 2009). Z tohto dôvodu musia byť nevyhnutne prijímané v potrave. Bolo dokázané, že vysoký príjem omega-6 MK výrazne zvyšuje výskyt mozgovej príhody, trombózy, srdcovej arytmie a aterosklerózy. Na druhej strane, zvýšený prísun omega-3 mastných kyselín preukazuje výrazný protizápalový, antiaterogénny, antitrombotický, hypolipidemický, antiagregačný, antiarytmogénny, hypotenzívny, neuroregulačný a antiproliferatívny účinok (Jacobson, 2012, Kelishadi et al., 2012, Pella, 2009). Uvedené vlastnosti omega-3 mastných kyselín majú v praxi v konečnom dôsledku protektívne účinky a to najviac v oblasti spomínaného kardiovaskulárneho a nervového systému (Ramsden et al., 2013, Pella, 2009).

Cieľom našej práce je sledovať farmakokinetiku omega-3 polynenasýtených mastných kyselín počas prvých piatich dní podávania rybieho oleja a chia semien u mladých žien vo veku 20 - 35 rokov a taktiež porovnať zmeny mastných kyselín v krvnom sére so zameraním na ω -6 a ω -3 MK.

Metodika práce

Experiment bol schválený Etickou komisiou LF UPJŠ KE 13N/2020. Do experimentu sa zapojilo 30 žien, vo veku od 20 - 35 rokov. Boli vytvorené 3 skupiny - Chia (Šalvia hispánska, Superpotraviny, Ostrava, Česká republika), rybí olej (MaxiCor "70+20", SVUS PHARMA Hradec Králové, Česká republika), kontrola. Celková dĺžka experimentu bola 12 týždňov, z toho suplementácia zdrojmi ω -3 bola 6 týždňov. Denná dávka Chia semien bola stanovená na 15 g, v skupine s rybím olejom bola dávka stanovená na 3 kapsule denne. Odbery krvi v prvý deň experimentu boli každé dve hodiny (8.00, 10.00, 12.00, 14.00, 16.00) a v ďalšie dni počas prvého týždňa jedenkrát denne ráno nalačno.

Výsledky

Pomer ω -6/ ω -3 PNMK v skupinách

V kontrolnej skupine bol pomer ω -6/ ω -3 PNMK v priebehu prvého týždňa približne 17,6:1. V porovnaní s prvým odberom sa pomer ω -6/ ω -3 každým ďalším dňom zvyšoval. V piatok sme v kontrolnej skupine sledovali jeho pokles, ale táto hodnota bola vyššia v porovnaní s prvým odberom.

V prvej experimentálnej skupine (ExCH) bol pomer ω -6/ ω -3 PNMK približne 21:1. Hodnoty pomeru mali premenlivý charakter. V porovnaní s prvým odberom v pondelok ráno o 8.00 hod. sa pomer ω -6/ ω -3 pri nasledovných odberoch po 2, 4 a 6 hodinách znižoval. Pri poslednom odbere sme sledovali nárast ω -6/ ω -3. V utorok sme zaznamenali pokles, v stredu nárast a v ďalších hodnotách pomer ω -6/ ω -3 sa znižoval. Pomer ω -6/ ω -3 bol oproti pondelkovému odberu nižší v sledovanej skupine. V druhej experimentálnej skupine (ExR) bol na začiatku pomer ω -6/ ω -3 PNMK v rozmedzí 18,6:1. V porovnaní s prvým odberom sa pomer ω -6/ ω -3 postupne znižoval.

Zmeny omega-6 a omega-3 PNMK v kontrolnej skupine

Sledovaním priebehu vybraných ω -6 polynenasýtených mastných kyselín (LA, GLA, DGLA a AA) u študentiek kontrolnej skupiny sme zistili nasledovné. Krivka LA mala stúpajúcu tendenciu. Prudký nárast hodnôt LA sa ukázal pri posledných dvoch odberoch. Priemerné hodnoty LA sa pohybovali od 29,15 mol % do 32,55 mol %. Naopak, krivka GLA mala, s výnimkou tretieho dňa, celkovo klesajúcu tendenciu. Priemerné hodnoty GLA sa pohybovali od 0,43 mol % do 0,32 mol %. Pri DGLA sme zaznamenali prudký pokles hodnôt práve v tretí deň odberu. Priemerné hodnoty DGLA sa pohybovali od 1,53 mol % do 1,51 mol %.

V druhý deň odberu sme zaznamenali nárast, v tretí deň prudký pokles a ďalšie dni mali znova stúpajúci charakter. Priemerné hodnoty AA sa pohybovali od 5,65 mol % do 6,27 mol %.

ALA, EPA a DHA majú podobný priebeh. V druhý deň pozorujeme nárast ich hodnôt, následne viditeľný pokles a opätovný nárast. Sledovaním zmien v desaturačnom index vidíme jeho pokles v kontrolnej skupine z hodnoty pri prvom odbere na 0,38 na 0,27.

Zmeny omega-6 a omega-3 PNMK v prvej experimentálnej skupine s prídavkom ALA (chia skupina)

Po prvých dvoch hodinách (o 10:00 hod) sledujeme prudký nárast hodnôt kyselín LA, DGLA, AA, s výnimkou GLA. Po ďalších dvoch hodinách, t.j. v čase obeda, sledujeme pokles hodnôt všetkých ω -6 PNMK, po ďalších dvoch hodinách (o 14:00 hod) sme dosiahli nárast v prípade GLA, DGLA, AA a pokles v prípade LA. V poslednom odbere (o 16:00) presne opačný jav, a to pokles hodnôt GLA, DGLA, AA a nárast v prípade LA. Z grafov ω -3 PNMK pozorovať, že EPA a DHA majú počas celého prvého dňa rovnaký priebeh ako GLA, DGLA a AA z radu omega-6. Priebeh ALA vykazuje maximum v čase o 12:00, ďalej má klesajúcu tendenciu v daný deň.

V ďalších dňoch respondentky prijímali denne rovnaké množstvo chia semienok po rannom odbere. GLA, DGLA a AA z radu ω -6 a EPA a DHA z radu ω -3 mali v podstate rovnaký priebeh striedania nárastu hodnôt v utorok a štvrtok a pokles hodnôt v stredu a piatok. Priebeh LA sa líšil od ostatných ω -6 MK. V utorok a stredu hodnoty LA klesali a vo štvrtok a piatok stúpali. V prípade ALA (ω -3) to bolo opačne. V druhý deň experimentu hodnoty ALA stúpali a nasledujúce dni len klesali.

Desaturačný index EPA/AA na konci experimentu bol vyšší oproti prvému odberu (0,07 na 0,10), to znamená, že „súťaž“ o Δ -6-desaturázu vyhrala ALA, ktorá sa potom konvertovala na EPA.

Zmeny omega-6 a omega-3 PNMK v druhej experimentálnej skupine s prídavkom EPA+DHA (skupina rybí olej)

Po prvých dvoch hodinách (o 10:00 hod) sledujeme pokles hodnôt LA, GLA a DGLA, s výnimkou AA, z radu ω -6 a nárast hodnôt všetkých vybraných ω -3 MK. V čase obeda pozorujeme pokles všetkých ω -6 a ALA, pričom hodnoty EPA a DHA v tomto čase rastú.

O 14:00 sledujeme nárast všetkých ω -6 a naopak, pokles všetkých ω -3 MK. Posledný odber naznačuje nárast hodnôt LA, EPA a DHA, na druhej strane pokles GLA, DGLA, AA a ALA. V ostatných dňoch experimentu má krivka LA spočiatku klesajúci (utorok, streda) a následne rastúci charakter (štvrtok, piatok). GLA hodnoty najprv narastajú (utorok) a následne len klesajú. DGLA krivka má prevažne klesajúci charakter s výnimkou štvrtka, kedy jej hodnoty rastú. Hodnoty AA majú iba rastúci charakter, podobne je to aj v prípade kyseliny eikozapentaénovej (EPA). Kyseliny ALA a DHA majú rovnakú tendenciu poklesu s výnimkou štvrtka, kedy ich hodnoty narastajú.

Desaturačný index EPA/AA bol na konci experimentu bol vyšší ako pri prvom odbere (0,08 na 0,20) a najvyšší v porovnaní s ostatnými sledovanými skupinami.

Diskusia

Zdravá výživa je dôležitým základom v prevencii kardiovaskulárnych a iných ochorení. Bez poznania obsahu a pomeru jednotlivých mastných kyselín v potravinách nie je možné zabezpečiť správnu lipidovú výživu ľudí v závislosti od fyziologických potrieb organizmu, a tak prispieť k prevencii chorôb (Hertelyová, 2013).

Podľa štatistických údajov mladí ľudia sú najmenej ohrozenou skupinou pre vznik rôznych ochorení, úrazov a úmrtí. Napriek tomu, že sú zdraví, mladí, adaptabilní a vzdelaní, predsa nie sú uchránení od mnohých negatívnych vplyvov, často vyplývajúcich z ich spôsobu života počas niekoľkoročného vysokoškolského štúdia, ktorý je u mnohých spojený so zmenou bydliska (Jurkovičová et al., 2010). To so sebou prináša oslabenie rodinných väzieb a liberalizáciu osobného života - so všetkými rizikami moderného životného štýlu a vplyvov okolia. Napriek tomu pre skúmanie procesov, ktoré prebiehajú v organizme, za predpokladu, že sú zdraví, sú vhodnou skupinou pre pozorovanie v prípade, že nehrozia z experimentálnej štúdie žiadne zdravotné riziká a štúdia má skôr pozitívny účinok ako neutrálny.

Omega-3 PNMK sú najhodnotnejšie z polynenasýtených MK vyskytujúcich sa v prírode pre svoje prospešné účinky. K nim patrí najmä hypolipidemický, protizápalový, stimulačný, antiagregačný a kardioprotektívny. Najviac prác je popísaných v súvislosti s kardiovaskulárnymi ochoreniami (Sopková et al., 2016; Ramsden, 2013; Hertelyová, 2013; Pella, 2009).

Zdroje omega-3 PNMK sú rastlinného alebo živočíšneho pôvodu. Rastlinným zdrojom je esenciálna mastná kyselina ALA, ktorá sa, podľa najnovších údajov, najviac nachádza v semenách šalvie hispánskej (chia semienka) (Ulah, et al., 2015; Ramsden et al., 2013).

Rastie v latinskej Amerike a pestovali ju už Aztékovia pre svoje semená v predkolumbijskej dobe, teda ešte pred objavením Ameriky v roku 1492. Už vtedy považovali chia za výborný zdroj energie (na 100 g pripadá 1832 kJ) a pre svoje vhodné nutričné vlastnosti, pretože majú vysoký obsah vlákniny (18 - 30 %). Obsah bielkovín je 15 - 25 %, tukov 30 - 33 %, sacharidov 24 - 41% (Sopková et al., 2016). Chia sú tiež zdrojom antioxidantov, vápnika, horčíka, vitamínu B, medzi nimi aj vitamínu B17 (amygdalin), ktorému popisujú protirakovinové vlastnosti. Výhodou je, že neobsahuje cholesterol. Obsah oleja v semienkach

chia je 25 - 40 %, pričom až 60 % tvoria omega-3 (ALA) a 20 % omega-6 PNMK (LA) (Norlaily et al., 2012; Ulibe et al., 2011).

V našej štúdií boli zapojené len ženy vo veku 20 - 35 rokov. Študentky boli vyzvané, aby v priebehu experimentu nemenili svoje stravovacie návyky, aby na odbery chodievali nalačno po 8 - 12 hod. hladovaní. Hodnotenie našich výsledkov bolo len za prvý týždeň trvania, čo ešte neodráža skutočný stav celého experimentu, ktorý trval 12 týždňov, z toho suplementácia ω -3 PNMK trvala 6 týždňov, teda 42 dní.

Z 20 žien, polovica prijímala chia semienka v množstve 15g/deň. Počas sledovania dynamiky mastných kyselín sme v rámci sledovanej skupiny na začiatku a na konci prvého týždňa experimentu zaznamenali pokles omega-6 MK (LA, GLA, DGLA, AA). Z omega-3 PNMK klesala hladina omega-3 (ALA). Hladiny EPA a DHA stúpili. Podobne aj pomer ω -6/ ω -3 PNMK klesol pri poslednom odbere. Z uvedených výsledkov sledujeme, že prídavkom rastlinného zdroja omega-3 PNMK sa zvýšila syntéza EPA a znížila hladina LA a jej analógov. To je príčinou už spomenutého súťaženia ALA a LA o desaturačné a elongačné enzýmy (Sopková et al., 2016). Systém premeny ALA na EPA a DHA pracuje obmedzene v starobe a pri nadmernej konzumácii ω -6 (Grofová, 2012), čo však nie je náš prípad, pretože naše respondentky boli mladé ženy. Ďalším faktorom pre nízku aktivitu Δ^6 -desaturázy je stres. Študentky mali ukončené skúškové obdobie, začiatok experimentu niektorých respondentiek bol aj začiatkom semestra. Avšak niektoré stresové parametre môžu vykazovať vyššiu hladinu aj dlhšiu dobu. Ďalším faktorom pre obmedzenú alebo nízku aktivitu je fajčenie. Po vyhodnotení dotazníka sme zistili, že jedna respondentka je fajčiarka, teda môžeme predpokladať nižšiu konverziu, keďže pomer ω -6/ ω -3 mala horší pri poslednom odbere v porovnaní s prvým odberom. Avšak to je len náš úsudok. Konverzia u žien podľa Grofovej (2010) je približne 20 % a je priamo ovplyvnená estrogénmi a v období menopauzy sa znižuje. Výhodou chia semienok je aj obsah fytoestrogénov, ktoré takisto pozitívne ovplyvňujú premenu ALA do EPA, najmä lignanov (Gunstone, 2012). Z uvedeného môžeme konštatovať, že Δ^6 -desaturáza uprednostnila metabolickú cestu omega-3 PNMK pred tvorbou omega-6 analógov MK, a taktiež aj syntéza eikozanoidov bola vyššia práve z EPA ako z AA. Druhá experimentálna skupina prijímala rybí olej vo forme výživového doplnku "MaxiCor 70+20", ktoré boli dodané pre vedecké účely z firmy SVUS PHARMA Hradec Králové. Respondentky prijímali suplement 3-krát denne 1 kapsulu počas jedla. Obsah EPA+DHA bol 1,35 g. Prípravok MaxiCor® obsahuje v kapsule minimálne 90% omega-3 nenasýtenej mastnej kyseliny (vo forme etylesterov) vyrobenej čistením oleja získaného z vybraných druhov morských rýb. Obsah EPA je 225 mg a DHA 170 mg. Tento suplement bol pred experimentom (v roku 2013), spolu s ďalšími najviac používanými, analyzovaný a bol zistený obsah EPA 53,64 mol% a 29,99 mol% DHA (Hertelyová, 2013). Pomer ω -6/ ω -3 PNMK bol 1:37 v prospech omega-3 MK. Aj z tohto dôvodu sme žiadali firmu o tento suplement, keďže mal najvhodnejší pomer.

V skupine ExR pri poslednom odbere sme zaznamenali nižšie hodnoty GLA (ω -6), DGLA (ω -6), ALA (ω -3) oproti prvému odberu, teda bez suplementácie rybím olejom. Na druhej strane sme zaznamenali vyššie hladiny LA (ω -6) a AA (ω -6) po piatich dňoch trvania experimentu. Veľmi výrazne stúpila EPA aj DHA oproti prvému odberu. U všetkých respondentiek v tejto skupine sme zaznamenali zlepšenie pomeru ω -6/ ω -3 MK. U jednej respondentky až z 30:1 na 14:1, čo je veľmi pozitívne. Napriek tomu, že nerástli len omega-3 MK, ale aj omega-6 MK, sledovali sme aj desaturačný index EPA/AA. Tento index umožnil zistiť, ktoré eikozanoidy sa tvorili viac - z EPA alebo AA. Teda či organizmus po prijatí ω -3 MK naozaj začal s vyššou biosyntézou eikozanoidov z EPA a nie z AA, ktorú sme chceli touto suplementáciou dosiahnuť. Z AA a EPA sa tvoria veľmi významné eikozanoidy. Eikozanoidy z radu ω -6 majú prozápalové a protrombotické. Opačné účinky, majú

eikozanoidy z vytvorené z ω -3 (Peiretti, Gai, 2009). Z našich výsledkov sme zistili, že pomer EPA/AA bol vyšší pri poslednom odbere v porovnaní s posledným odberom, teda naša hypotéza sa potvrdila.

Tretia sledovaná skupina bola kontrolná. Boli v nej zaradené študentky, ktoré neprijímali žiadne zdroje omega-3 a mali odporúčané, aby nemenili svoje stravovacie návyky. Porovnaním prvého a posledného odberu krvi sme zaznamenali zvýšenie pomeru ω -6/ ω -3. Taktiež vzrástla hodnota LA (ω -6) a AA (ω -6) a mierne klesli omega-3 PNMK, ALA, EPA a DHA. Na základe kontrolnej skupiny môžeme konštatovať, že obsah mastných kyselín je výrazne ovplyvnený ich príjmom v potrave (Hertelyová, 2013).

Záver

Omega-3 PNMK sú najhodnotnejšie zo všetkých mastných kyselín. Esenciálnou mastnou kyselinou je ALA, ktorá je rastlinného pôvodu a konverziou sa mení na EPA a DHA. Táto premena je ale obmedzená aktivitou Δ^6 -desaturázy, ktorá ak je vysoký príjem LA (ω -6) uprednostňuje tvorbu ďalších analógov omega-6 MK (GLA, DGLA a AA). Ďalším problémom ALA je to, že 85% ALA sa v tele vstrebáva a len 15% sa premieňa na EPA a DHA. Teda oveľa prínosnejšie je prijať tieto MK živočíšneho pôvodu v potrave vo forme studenomorských rýb (losos, makrela, sled', tuniak).

V našom experimente sme sledovali, ako sa mení zastúpenie jednotlivých omega-6 a omega-3 mastných kyselín, ich pomer počas jedného týždňa. Respondentky boli rozdelené do troch skupín – kontrolná a dve experimentálne. Prvá experimentálna skupina prijímala chia semienka s vysokým obsahom ALA a druhá experimentálna skupina prijímala omega-3 PNMK vo forme rybieho oleja v kapsulách s obsahom EPA+DHA (MaxiCor 70+20, SVUS FARMA Hradec Králové, ČR).

Z výsledkov experimentu sme zistili, že účinnejší je príjem omega-3 MK živočíšneho pôvodu (MaxiCor), ale zlepšenie pomeru ω -6/ ω -3 MK sme zaznamenali aj v CHIA skupine. Výrazný nárastu EPA a DHA v skupine RYBÍ OLEJ bol dôsledkom ich konzumácie vo forme rybieho oleja. Realizovaný experiment preukázal, že suplementáciou môžeme upraviť pomer omega-6 a omega-3 MK. V kontrolnej skupine sme pozorovali, ako strava vplýva na zmeny v zložení omega-6 a omega-3.

Prínosom tejto práce je okrem zistených výsledkov a to, že je to prvá práca, ktorá sa zameriava na porovnávanie rastlinných a živočíšnych suplementov, teda je originálom, keďže jednotlivé práce sa zaoberajú buď účinkom chia semien alebo rybím olejom. Doteraz neboli práce, ktoré by porovnávali na jednej strane rastlinné a živočíšne suplementy, na druhej strane neporovnávali farmakologické suplementy s prírodnými zdrojmi omega-3 MK. Hoci máme poznatky, že živočíšne výrobky obsahujú EPA a DHA, ktoré sú pre telo prínosnejšie ako ALA, avšak na druhej strane musíme brať do úvahy znečisťovanie morí a oceánov, čo spôsobuje, že ťažké kovy sa dostávajú do tiel morských organizmov. Taktiež musíme brať ohľad na tých, ktorí z určitých dôvodov odmietajú živočíšne produkty (vegani) alebo im vadí zápach rybieho oleja, prípadne alergici. Preto je vhodné sledovať účinok tak rastlinných, ako aj živočíšnych zdrojov omega-3 MK. Predložená práca sleduje aj účinok farmakologických a prírodných suplementov omega-3 MK. Na trhu je veľké množstvo farmakologických suplementov, ktoré žiaľ zavádzajú konečných spotrebiteľov, či už skutočným obsahom omega-6 a omega-3 MK alebo tým, že nejde už o čisto prírodné produkty, pretože z nich boli odstránené nasýtené a monoenasýtené mastné kyseliny. Výhodou prírodných produktov omega-3 (napr. Chia semien) je to, že okrem mastných kyselín obsahujú celý rad účinných látok - fytoestrogény, antioxidanty, vápnik, horčík, vitamínu B a ďalšie. Aj v budúcnosti chceme pokračovať v sledovaní ďalších rastlinných a živočíšnych zdrojov omega-3 PNMK (krilový olej, ľanové semená, morské ryby - losos, ...).

Pod'akovanie

Táto publikácia vznikla za podpory Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja, vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied: VEGA 1/0622/20, projektu a projektu Bioaktívne látky pre podporu zdravia a prevenciu chronických ochorení ITMS2014+:313011T651.

Literatúra

Grofová Z. Mastné kyseliny. *Med Pro Praxi* 2012; 7 (10): 388-390.

Gunstone FD. Fatty acids and lipid chemistry. London: Springer 2012, 268 pp.

Hertelyová Z. Obsah a pomer mastných kyselín so zameraním na omega-6 a omega-3 v rastlinných olejoch, vo výživových doplnkoch a v krvnom sére a vplyv príjmu omega-3 mastných kyselín na vybrané lipidové parametre v krvi. Dizertačná práca. Košice: Ústav lekárskej a klinickej biochémie a LABMED, a.s. 2013, 207 s.

Jacobson TA., Glickstein SB., Rowe JD., Soni PN. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on low-density lipoprotein cholesterol and other lipids: A review. *J Clin Lipidol* 2012; 6(1): 5-18.

Jurkovičová J. et al. Prevalencia a trendy vývoja rizikových faktorov kardiovaskulárnych chorôb u vysokoškolákov. In: *Životné podmienky a zdravie. Zborník vedeckých prác.* Bratislava: Úrad verejného zdravotníctva 2010, 142-151 pp.

Kelishadi R., Hadi B., Iranpour R., et al. A study on lipid content and fatty acid of breast milk and its association with mother's diet composition. *J Res Med Sci* 2012; 17(9): 824-827.

Peiretti PG., Gai F. Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 148 (2-4): 267-275.

Pella D. Význam omega-3 mastných kyselín v liečbe dyslipidemií. *Via pract* 2009; 6(12): 488-490.

Ramsden CE., Zamora D., Leelarthaepin B., et al. Use of dietary linoleic acid for secondary prevention of coronary heart disease and death: evaluation of recovered data from the Sydney Diet Heart Study and updated meta-analysis. *BJM* 2013; 346(8707): 1-18.

Rocha Uribe JA., Novelo Perez JL., Castillo Kauil H., et al. Extraction of oil from chia seeds with supercritical CO₂. *J Supercrit Fluids* 2011; 56(2): 174-178.

Sopková D., Hertelyová Z., Andrejčáková Z., et al. The application of probiotics and flaxseed promotes metabolism of n-3 polyunsaturated fatty acids in pigs. *J Appl Anim Res* 2016; 45(1): 93-98.

Ullah R., Nadeem M., Khalique A., et al. Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): review. *J Food Sci Technol* 2016; 53(4): 1750-1758.

DETEKCIA VYBRANÝCH MARKEROV PRI SRDCOVO-CIEVNYCH OCHORENIACH

DETECTION OF SELECTED MARKERS DURING CARDIOVASCULAR DISEASES

Z. Guľašová¹, A. Hurajtová¹, V. Tomečková²

¹Centrum klinického a preklinického výskumu, MEDIPARK, LF UPJŠ v Košiciach

²Ústav lekárskej a klinickej biochémie, LF UPJŠ v Košiciach

Abstract

Cardiovascular diseases belong to the most frequently occurring diseases in the Slovak population and they reach the leading place in the number of patient deaths. It is conditioned mainly by the action of various risk factors. The monitoring of selected markers in patients with cardiovascular diseases helps in determining the primary diagnosis, and differential diagnosis, as well as in the overall monitoring of the dynamics of the disease. In the biochemistry of these processes, many enzymes, growth and transcription factors, markers of inflammatory and other processes involved in the degradation and remodeling of vascular and heart tissue play an important role. A more detailed study of new diagnostic possibilities is important for the understanding and understanding the mechanisms of molecular-biochemical changes in diseases of the heart and blood vessels.

Úvod

Patológia kardiovaskulárnych ochorení je komplexný a rozmanitý biochemický proces metabolických a signálnych ciest, vo vývoji a progresii ktorého zohráva dôležitú úlohu aj zápal, ktorý je radený k endogénnym faktorom a biomarkerom kardiovaskulárnych ochorení [12].

V metabolických cestách kardiovaskulárnych ochorení sa podieľajú viaceré endogénne markery - transkripčné faktory. Jadrový faktor kappaB (NF – κ B) má vplyv na rôzne srdcovocievne ochorenia: aterosklerózu, srdcové poškodenie pri ischémii/reperfúzii, ochorenie cievneho graftu, srdcovej hypertrofiie a srdcového zlyhania [5,13]. V procese vývoja a formovania nových krvných ciev zohrávajú dôležitú úlohu rastové faktory. Cievny endotelový rastový faktor A (VEGF-A) stimuluje rast a pohyb buniek cievneho endotelu a zvyšuje permeabilitu ciev. Tento faktor sa zapája do procesu aterosklerózy prostredníctvom angiogenézy, regenerácie endotelu a zápalového procesu v cievnej stene [11]. Fibroblastové rastové faktory (FGF) patria k jedným z hlavných angiogénnych faktorov, ktoré sa podieľajú nielen na procesoch angiogenézy, vaskulogenézy, prestavby krvných ciev, ale sú aj regulátormi bunkových funkcií, zahŕňajúc diferenciáciu, proliferáciu, migráciu a apoptózu rôznych buniek [4]. Transformujúci rastový faktor- β 1 (TGF- β 1) plní dôležitú úlohu pri zachovávaní homeostázy mimobunkovej hmoty a zároveň je kľúčovou zložkou v patogenéze aneuryzmy hrudníkovej aorty. TGF- β 1 vedie ku degradácii hmoty cievnej steny prostredníctvom zvýšenej tvorby plazminogénových aktivátorov a uvoľnenia MMP2 a MMP9 [6]. Inhibičný vplyv na aktiváciu TGF- β 1 má komplex glykoproteínu s emilínom 1 [3].

Kľúčovú úlohu v procesoch degradácie a prestavby mimobunkovej hmoty zohrávajú matrixové metaloproteinázy. Tieto enzýmy sú schopné štiepiť dôležité zložky mimobunkovej hmoty: kolagénu, elastínu, fibronektínu, želatínu, ako aj ďalšie molekuly rastových (TGF- β) a zápalových proteínov napr. pro-IL-1 β , pro-IL-8 a iných. Ich proteolytický účinok zohráva dôležitú úlohu v prestavbe tkanív, pri adhézii molekúl, bunkovej migrácii a spracovávaní proteínov v mimo bunkovej hmote [1,14].

Materiál a metodika

Použitý biologický materiál

Vzorky biologického materiálu (krvná plazma, krvné sérum, tkanivo steny aorty) boli v rámci riešeného projektu poskytnuté Klinikou srdcovej chirurgie UPJŠ LF a VÚSCH, a.s. Košice. Experimentálnu skupinu predstavovali pacienti ($n = 60$) s klinicky diagnostikovanou aneuryzmou hrudníkovej aorty a dvoma odlišnými diagnózami, regurgitáciou ($n = 30$) a stenózou aortálnej chlopne ($n = 30$). Kontrolné vzorky krvi boli získané v spolupráci s Národnou transfúznou službou v Košiciach od zdravých jedincov, darcov krvi ($n = 60$). Tkanivo, odobrané počas operácie aneuryzmy hrudníkovej aorty, bolo zmrazené v tekutom dusíku a následne uskladnené pri $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pacienti aj zdraví jedinci boli oboznámení s podmienkami biomedicínskeho výskumu a podpísali informovaný súhlas. Štandardné klinicko-biochemické parametre vyšetrenia krvi boli u zdravých jedincov v rozsahu referenčných hodnôt a zároveň u nich neboli pozorované žiadne patologické poškodenia kardiovaskulárneho systému. Kontrolný materiál tkaniva bol odoberaný z nekroptického tkaniva jedincov bezprostredne po úmrtí v spolupráci s Ústavom súdneho lekárstva UPJŠ LF a bol zmrazený v tekutom dusíku následne uskladnené pri $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. U týchto jedincov ($n = 5$) nebola detegovaná žiadna histopatologická zmena myokardu ani poškodenie ako následok aneuryzmy hrudníkovej aorty (stenózy alebo regurgitácie aortálnej chlopne).

Metóda fluorescenčnej spektroskopie

Vzorky krvnej plazmy a séra boli riedené fosfátovým tlmivým roztokom (5000 l) ($c = 0,2\text{ mol/l}$; $\text{pH} = 7,4$), ktorý bol pripravený z KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 a deionizovanej vody. Takto nariadené vzorky boli analyzované v kremennej kyvete so šírkou 1 cm a objemom 2 500 l, pri $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) pomocou synchronných fluorescenčných fingerprintov (SFF) na Luminiscenčnom spektrofotometri PerkinElmer LS 55. Fluorescenčné spektrá boli merané v rozsahu vlnových dĺžok od 240 do 400 nm. Jednotlivé merania boli graficky spracované do podoby vrstevnicových a trojrozmerných máp SFF pomocou softvéru WinLab.

Metódy molekulovej analýzy

K analýze počtu génových kópií a k analýze transkripčnej aktivity špecifických biomarkerov (emilín-1, MMP9, IL6 génov) slúžila odizolovaná RNA, DNA z krvi, tkaniva hrudnej aorty pacientov s aneuryzmou aorty a kontrolnej skupiny.

K stanoveniu koncentrácie izolovanej DNA/RNA bol použitý prístroj NanoDrop 2000c. Alikvóty RNA s danou koncentráciou boli použité na syntézu cDNA.

Na prepis izolovanej RNA do cDNA bol použitý kit RETROscript® reverse transcription kit (ThermoFisher Scientific). Izolovaná RNA bola riedená pre reverznú transkripciu na výslednú koncentráciu ($0,5\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Vzorky cDNA boli uskladnené pri $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ a použité do real-time PCR.

Amplifikácia špecifických génov *IL-6* a *MMP-9* pomocou metódy Real-Time PCR a kontrolného housekeepingénu GAPDH prebiehala počas 30 cyklov ($95\text{ }^{\circ}\text{C} - 5\text{ min}$; $95\text{ }^{\circ}\text{C} - 15\text{ s}$; $60\text{ }^{\circ}\text{C} - 20\text{ s}$; $72\text{ }^{\circ}\text{C} - 25\text{ s}$), za použitia špecifických primérov analyzovaných génov. Real-Time PCR reakcia bola realizovaná pomocou termocykléra Qiagene Rotor gene Q-PCR a pomocou fluorescenčného značenia Roche sybr green mastermix kit. Na detekciu počtu kópií génov na chromozómoch bola použitá izolovaná DNA, špecifické priméry so sekvenciami DNA. Amplifikácia prebiehala skoro za rovnakých reakčných podmienok ako pri analýze hladín mRNA špecifických génov a to po dobu 33 cyklov ($95\text{ }^{\circ}\text{C} - 5\text{ min}$; $95\text{ }^{\circ}\text{C} - 15\text{ sekúnd}$; $58\text{ }^{\circ}\text{C} / 60\text{ }^{\circ}\text{C} - 20\text{ sekúnd}$; $72\text{ }^{\circ}\text{C} - 25\text{ s}$). Normalizácia výsledkov pri analýze expresie mRNA špecifických génov, pri analýze množstva génových kópií bola korelovaná s GAPDH kontrolným génom pomocou Rotor gene Q-PCR softvéru, verzia 1.5.

Štatistická analýza

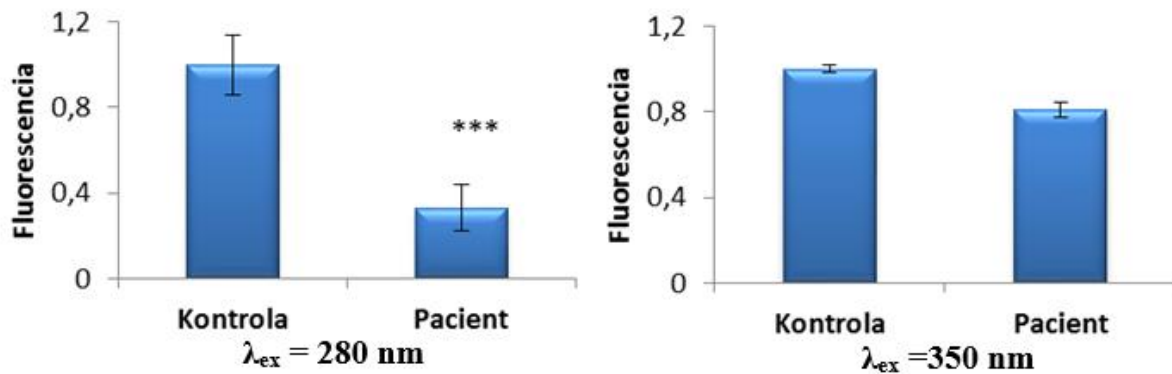
Výsledky dosiahnuté pri jednotlivých laboratórnych diagnostických postupoch boli štatisticky analyzované použitím vybraných štatistických testov: One-Way ANOVA, Student-Newman-Keuls test., Spearmanových korelačných koeficientov, Pearsonovej korelácie, ktoré sú špecifikované pri jednotlivých výsledkoch.

Výsledky a diskusia

Vzorky biologického materiálu (krvná plazma) zdravých jedincov a pacientov s hrudníkovou aneurizmou aorty boli analyzované fluorescenčnou spektroskopiou. Pomocou molekulovej analýzy boli skúmané vzorky plnej krvi a homogenátu aortálnej steny s aneurizmou.

Fluorescenčná spektroskopia

Krvná plazma pacientov s aneurizmou hrudníkovej aorty ($n = 60$) pri $\lambda_{\max} = 280$ nm vykazovala štatisticky významné zníženie autofluorescencie ($p < 0.001$) o $67 \pm 0,11$ % oproti krvnej plazme zdravých jedincov ($n = 60$, obr.1).

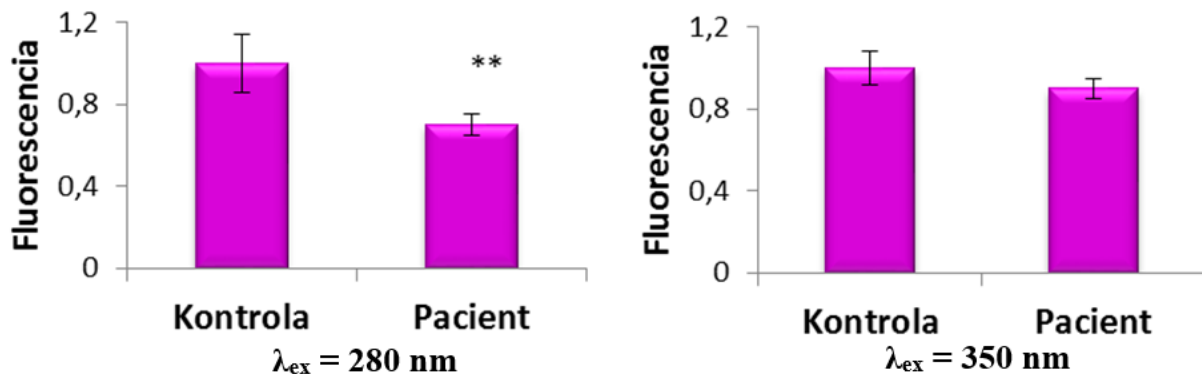


Obr.1 The autofluorescence of the blood plasma of patients ($n = 60$) and control group ($n = 60$) at $\lambda_{\text{ex}} = 280$ nm and $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm

V krvnej plazme sa vyskytujú charakteristické proteíny (napr.: albumíny, globulíny, fibrinogén), ktorých fluorescenčné excitačné maximá sa pohybujú v oblasti $\lambda_{\text{ex}} = 280$ nm. Okolie tejto excitačnej vlnovej dĺžky zahŕňa aj charakteristické fluorescenčné píky zmesi iných proteínov a aromatických aminokyselín: fenylalanínu, tyrozínu a tryptofánu [8]. V oblasti $\lambda_{\max} = 350$ nm bol identifikovaný nepatrný pokles intenzity fluorescence (o $19 \pm 0,03$ %) krvnej plazmy experimentálnej skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou (obr.1 vpravo). Súvisí to s poklesom tvorby a fluorescence NADH+H⁺, čo signalizuje dostatočnú respiráciu kyslíka v mitochondriách buniek aorty počas aneurizmy. Pokiaľ je v bunke dostatok kyslíka, znižuje sa produkcia aj intenzita fluorescence redukovaného nikotínamid adenín dinukleotidu [9].

Intenzita fluorescence krvného séra pacientov s aneurizmou hrudníkovej aorty ($n = 60$) bola štatisticky porovnaná s kontrolnými vzorkami ($n = 60$). Experimentálna skupina vzoriek krvného séra pacientov s aneurizmou hrudníkovej aorty ukázala v porovnaní s kontrolnou skupinou zdravých jedincov signifikantné zníženie fluorescenčnej intenzity o $30 \pm 0,05$ % v oblasti $\lambda_{\max} = 280$ nm (obr.2 vľavo). Na intenzitu fluorescence vplývajú viaceré faktory: metabolická činnosť a štruktúra buniek. Aneurizma hrudníkovej aorty - najväčšej ľudskej tepny predstavuje závažné kardiovaskulárne ochorenie sprevádzané viacerými biochemickými zmenami napr. zvýšenej tvorby a aktivity TGF- β 1, ktorej výsledkom je proteolýza v stene aorty. Počas proteolýzy dochádza k degradácii a zníženiu množstva elastínových a

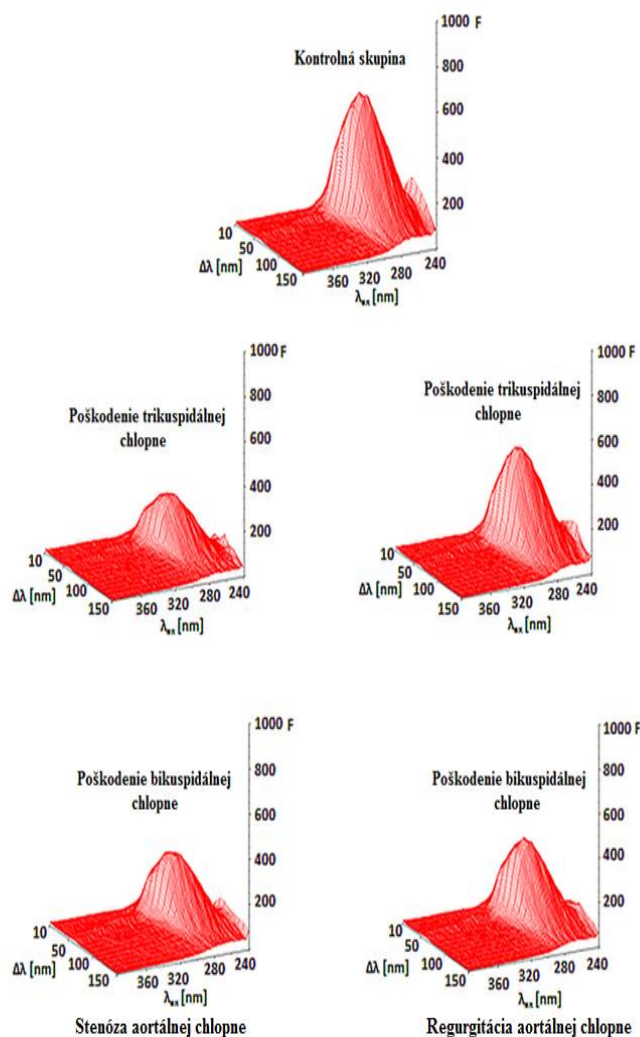
kolagénových vlákien. Proteíny, kolagény a elastíny majú charakteristické excitačné maxima pri $\lambda = 350 - 380$ nm. Nepatrnú zmenu autofluorescencie ($10 \pm 0,05$ %) sme pozorovali v oblasti $\lambda_{\max} = 350$ nm (redukovaného koenzýmu NADH+H⁺), čím môžeme konštatovať, že nedochádza k významnej zmene hladiny kyslíka (obr.2 vpravo) v krvnom sére pacientov.



Obr. 2 The autofluorescence of the blood serum of patients (n = 60) and control group (n = 60) at $\lambda_{ex} = 280$ nm and $\lambda_{ex} = 350$ nm

Trojrozmerné synchronne fluorescenčné mapy krvného séra pacientov sú zobrazené na obr. 3. Rovnako ako v experimentálnej skupine pacientov (n = 60), aj v kontrolnej skupine (n = 60) sa vyskytuje jedno fluorescenčné centrum umiestnené pri $\Delta\lambda = 70$ nm/278 nm, ale s vyššou intenzitou fluorescencie u zdravých jedincov (F = 700) ako u charakteristickej vzorky vybraných pacientov s aneuryzmou hrudníkovej aorty. Väčší pokles fluorescenčnej intenzity je pozorovaný u pacientov so stenózou aortálnej chlopne a s poškodením trikuspidálnej chlopne (F = 140) ako u pacientov s poškodením bikuspidálnej chlopne (F = 167) (obr.3). U pacientov s aneuryzmou hrudníkovej aorty a diagnostikovanou stenózou aortálnej chlopne dochádza k viacerým biochemickým zmenám ovplyvňujúcich štruktúru aortálnej chlopne: k zvýšenej akumulácii zápalových buniek (makrofágov, T lymfocytov), apolipoproteínov (apoA, apoB, apoE) a ku kalcifikácii okrajov postihnutej chlopne [2].

U pacientov s aneuryzmou hrudníkovej aorty a aortálnou regurgitáciou bola diagnostikovaná buď poškodená trikuspidálna chlopňa (vpravo hore, F = 340) alebo poškodená bikuspidálna chlopňa (F = 321). V tejto charakteristickej vzorovej skupiny vybraných pacientov bol pozorovaný pokles intenzity fluorescencie (obr.3) v porovnaní so zdravými jedincami (F = 700). Intenzita fluorescencie bola vyššia u pacientov s aortálnou regurgitáciou, s poškodením bikuspidálnej chlopne (F = 321) v porovnaní s pacientami so stenózou aortálnej chlopne, poškodením bikuspidálnej chlopne (F = 167) a trikuspidálnej chlopne (F = 140).



Obr. 3 3D synchronous fluorescence fingerprints of control and patient blood serum
(selected patients with thoracic aortic aneurysm: with aortic valve stenosis, aortic regurgitation)

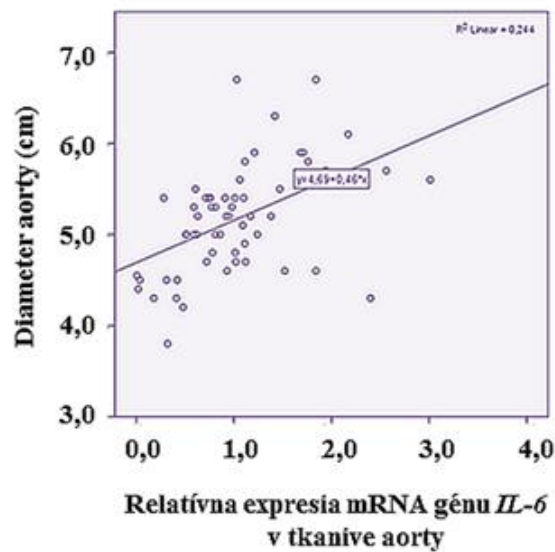
Molekulová analýza

Výsledky analýzy počtu génových kópií z krvi a tkaniva ukázali, že experimentálne gény *IL-6*, *MMP-9* a kontrolný gén *GAPDH* sa vyskytovali na chromozómoch iba v jednej kópii a nie v multiplikátoch. Závislosť poškodenia steny aorty u pacientov v krvi a tkanive pomocou transkripčnej aktivity vybraných molekulových markerov génov mRNA (*IL-6*, *MMP-9*) bola študovaná, štatisticky vyhodnotená a korelovaná ku veľkosti diametra ascendentnej aorty.

Počas aneuryzmy aorty dochádza k interakciám medzi rôznymi adhéznymi molekulami bunky a medzibunkovou hmotou. Výsledkom je proteolýza a remodelácia mimobunkovej hmoty. Na tomto ochorení sa podieľa aj zápal, ktorý je výsledkom zvýšenej aktivity *IL-6*. *IL-6* je hlavným zápalovým proteínom pri prenose signálov v interakčnej sieti podieľajúcej sa na molekulárnom mechanizme patogenézy ascendentnej aneuryzmy aorty. Počas tohto ochorenia je dysregulovaná aktivita $TGF-\beta$, znižuje sa emilín-1, je poškodená a remodelovaná stena aorty [15].

Závislosť poškodenia steny aorty u pacientov v tkanive bola štatisticky vyhodnotená a korelovaná ku expresii transkripčnej aktivity vybraných molekulových markerov génov (*IL-6*, *MMP-9*) mRNA v krvi pacientov s ascendentnou aortou a boli sledované rozdiely pri regurgitácii aortálnej chlopne a stenóze aortálnej chlopne.

Zvýšená hladina relatívnej expresie mRNA génu *IL-6* v tkanive (0,449) štatisticky významne ($p < 0,01$) korelovala so zväčšením diametra ascendentnej aorty (0,554) (tab.1, obr.4).



Obr. 4 Correlation of aortic aneurysm diameter to relative expression of *IL-6* gene mRNA.

Tab.1 Determination of the correlation coefficient (relative expression of *IL-6* gene mRNA in aortic tissue to aortic aneurysm diameter) by Spearman test in patients (n = 60)

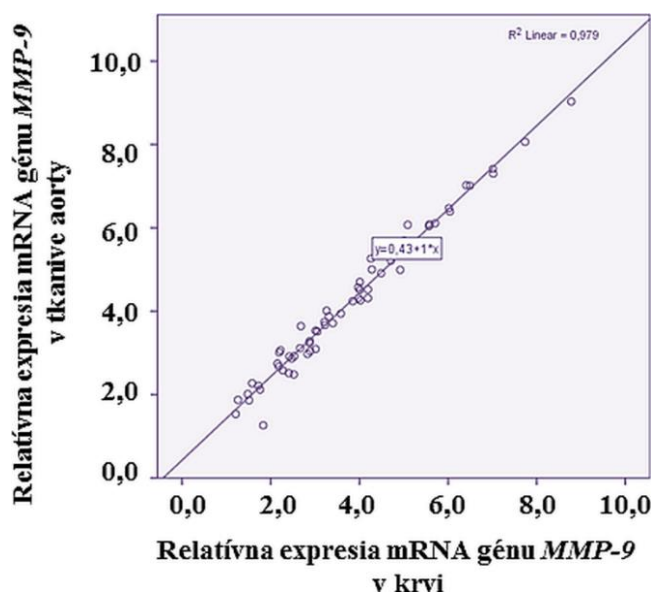
** correlation is significant at the significance level $p < 0.01$.

Korelačný koeficient	Relatívna expresia mRNA génu <i>IL-6</i> v tkanive aorty	Diameter aorty (cm)
Relatívna expresia mRNA génu <i>IL-6</i> v tkanive aorty	0,449**	1,000
Diameter aorty (cm)	1,000	0,554**

Pri rôznych kardiovaskulárnych ochoreniach a aneuryzme bola popísaná úloha proteolýzy. Dilatácia ciev je spôsobená lýzou zložiek mimobunkovej hmoty najmä elastínu a kolagénu v *tunica media* a *tunica adventitia*, čo oslabuje cievnu stenu. Matrixmetaloproteinázy (MMP) majú dôležitú úlohu, ktorá sa podieľa na homeostáze spojivových tkanív. Pri tvorbe aneuryzmy sa zvyšuje aktivita MMP, katepsínov, kolagenáz a elastáz, ktoré zvyšujú dilatáciu steny ciev pri aneuryzme. Pri tvorbe aneuryzmy sa iniciuje proliferácia T – buniek. *IL-6* sú priamym mediátorom, ktoré zvyšujú aktivitu T-buniek a dochádza k apoptóze hladkých svalových buniek [7].

Hladina relatívnej expresie mRNA génu *MMP-9* v krvi pacientov štatisticky významne ($p < 0,01$) korelovala s hladinou relatívnej expresie mRNA génu *MMP-9* v tkanive ascendentnej časti hrudníkovej aorty srdca pacientov (obr.5).

Zvýšené hladiny MMP boli pozorované u pacientov s infarktomyokardu, nestabilnou angínou a čiastočne aj s akútnym koronárnym syndrómom. MMP oslabujú aterosklerotický plak degradáciou mimobunkovej hmoty. Narušenie aterosklerotického plaku zodpovedá za mnohé kardiovaskulárne ochorenia [12]. Nárast *MMP-9* v krvi bol pozorovaný u pacientov so systolickou dysfunkciou a následným zlyhaním srdca [10].



Obr. 5 Correlation of relative expression of *MMP-9* gene mRNA in blood to relative expression of *MMP-9* gene mRNA in tissue of patients with aortic aneurysm

Štatistické porovnanie (hladiny relatívnej expresie mRNA génu *MMP-9* v krvi a tkanive pacientov ($n = 60$) s ascendentnou hrudníkovou aortou) pacientov s regurgitáciou aortálnej chlopne ($n = 30$) s pacientmi so stenózou aortálnej chlopne ($n = 30$) a v porovnaní s kontrolnou skupinou pomocou Anovy testu ukázalo, že hladina relatívnej expresie mRNA génu *MMP-9* v krvi aj tkanive aorty pacientov s regurgitáciou aortálnej chlopne bola viac signifikantne zvýšená v porovnaní s pacientmi so stenózou aortálnej chlopne aj v porovnaní s kontrolnými vzorkami ($p < 0,01$) (tab.2).

Tab.2 Statistical comparison of relative expression of *MMP-9* gene mRNA level in blood and tissues of patients with the aortic valve regurgitation compared to patients with aortic valve stenosis and compared to control samples

** correlation is significant at the significance level $p < 0.01$.

Priemer ($n = 60$)	Relatívna expresia mRNA génu <i>MMP-9</i> v krvi	Relatívna expresia mRNA génu <i>MMP-9</i> v tkanive aorty
Regurgitácia aortálnej chlopne ($n = 30$)	4,69**	5,16**
Stenóza aortálnej chlopne ($n = 30$)	2,60**	2,96**
Kontrolná skupina - krv	1,16	
Kontrolná skupina - tkanivo		1,33
Signifikancia	0,009	0,009

Záver

Štúdium mechanizmu vzniku kardiovaskulárnych ochorení z klinicko-biochemického hľadiska, predstavuje výzvu predovšetkým pre nové laboratórne vyšetrovacie metódy. Hľadanie nových diagnostických markerov využiteľných pri včasnej diagnostike, kedy sa ochorenie ešte klinicky neprejaví je veľmi dôležité a môže napomôcť nielen pri prevencii, ale aj záchyť ochorenia v rannom štádiu, či následnej úspešnej liečbe.

V tejto práci bola študovaná štruktúra krvi a tkaniva aortálnej steny pacientov (s diagnostikovanou ascendentnou aneurysmou hrudníkovej aorty s dvoma možnými typmi: stenózou aortálnej chlopne a regurgitáciou aortálnej chlopne) fluorescenčnou a molekulovou metódou.

Výsledky fluorescenčnej analýzy ukázali signifikantný pokles autofluorescencie krvnej plazmy ($p < 0.001$) aj krvného séra ($p < 0.01$) u pacientov s aneurysmou hrudníkovej oproti zdravým jedincom pri $\lambda_{ex} = 280$ nm, v oblasti, kde sa nachádzajú charakteristické excitačné maximá aromatických aminokyselín proteínov.

Výsledky molekulovej analýzy odhalili, že zvýšenie hladiny relatívnej expzie mRNA génu *IL-6* v tkanive štatisticky významne ($p < 0,01$) korelovalo so zväčšením diametra ascendentnej aorty. Hladina relatívnej expzie mRNA génu *MMP-9* v krvi pacientov štatisticky významne ($p < 0,01$) korelovala s hladinou relatívnej expzie mRNA génu *MMP-9* v tkanive ascendentnej časti hrudníkovej aorty srdca pacientov. Hladina relatívnej expzie mRNA génu *MMP-9* v krvi aj tkanive aorty pacientov s regurgitáciou aortálnej chlopne bola signifikantne zvýšená v porovnaní s pacientmi so stenózou aortálnej chlopne aj v porovnaní s kontrolnými vzorkami.

Dosiahnuté výsledky by v kombinácii ďalších štúdií mohli v budúcnosti prispieť k skvalitneniu včasnej diagnostiky vybraných kardiovaskulárnych ochorení.

Podakovanie

Táto práca vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SiFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

1. **Azevedo A., Prado AF., Antonio RC., et al.** Matrix metalloproteinases are involved in cardiovascular diseases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2014; 115(4): 301-314.
2. **Cary T., Pearce J.** Aortic stenosis: pathophysiology, diagnosis, and medical management of nonsurgical patients. *Crit Care Nurse* 2013; 33(2): 58-72.
3. **Constam DB.** Regulation of TGF β and related signals by precursor processing. *Semin Cell Dev Biol* 2014; 32: 85-97.
4. **Domouzoglou EM., Naka KK., Vlahos AP., et al.** Fibroblast growth factors in cardiovascular disease: The emerging role of FGF21. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2015; 309(6): H1029-1038.
5. **Fiordelisi A., Iaccarino G., Morisco C., et al.** NF κ B is a Key Player in the Crosstalk between Inflammation and Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci* 2019; 20(7): 1599.
6. **Islam MS., Mohanto NCh., Karim MR., et al.** Elevated concentrations of serum matrix metalloproteinase-2 and -9 and their associations with circulating markers of cardiovascular diseases in chronic arsenic-exposed individuals. *Environ Health* 2015; 14: 92.

7. **Khanna AK., Hakim MZ., Singh U., Tiwar SK.** A Study of the circulating biomarkers (MMP-9, plasma fibrinogen, d-dimer, IL-6 and CRP) in arterial aneurysms. *Biomark J* 2015; 1(12): 1-8.
8. **Lakowicz JR.** Principles of Fluorescence Spectroscopy. Third edition. Boston, MA: Springer US, 2006.
9. **Mayevski A., Rogatsky GG.** Mitochondrial function in vivo evaluated by NADH fluorescence: from animal models to human studies. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 292(2): 615-640.
10. **Morishita T., Uzui H., Arakawa K., et al.** Matrix metalloproteinase-9 is associated with the severity and major adverse cardiovascular event in patients with systolic heart failure. *JACC* 2014; 63(12): A796.
11. **Shibuya M.** Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer* 2011; 2(12): 1097-1105.
12. **Stoner L., Lucero AA., Palmer BR., et al.** Inflammatory biomarkers for predicting cardiovascular disease. *Clin Biochem* 2013; 46(15): 1353-1371.
13. **Van Der Heiden K., Cuhlmann S., Luong LA., et al.** Role of nuclear factor κ B in cardiovascular health and disease. *Clin Sci* 2010; 118(10): 593-605.
14. **Wang X., Khalil RA.** Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease. *Adv Pharmacol* 2018; 81: 241-330.
15. **Zhang K., Pan X., Zheng J., et al.** Comparative tissue proteomics analysis of thoracic aortic dissection with hypertension using the iTRAQ technique. *Eur J Cardiothorac Surg* 2015; 47(3): 431-438.

ZVÝŠENÉ HLADINY PCSK9 PREDIKUJÚ SUBKLINICKÉ ATEROSKLEROTICKÉ ZMENY U NÍZKORIZIKOVÝCH OBÉZNYCH PACIENTOV A U NEÓBEZŇNÝCH PACIENTOV

ELEVATED CIRCULATING PCSK9 CONCENTRATIONS PREDICT SUBCLINICAL ATHEROSCLEROTIC CHANGES IN LOW RISK OBESE AND NON-OBESE PATIENTS

Z. Hertelyová¹, Š. Tóth², Z. Guľašová¹, J. Fedačko¹

¹ Center of Clinical and Preclinical Research MEDIPARK, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice

² Gerontologická a geriatrická klinika UNLP a UPJŠ LF, Faculty of Medicine, UPJŠ Košice

Introduction

Many studies have highlighted the important role of PCSK9 in the development of cardiometabolic changes and its possible function as a biomarker of myocardial infarction or ischemic heart disease. This study aimed to determine the relationship between circulating PCSK9 levels and subclinical vascular changes in the group of low risk patients without manifest cardiovascular diseases.

Methods

In this study, 120 healthy patients, free of manifest cardiovascular diseases, diabetes mellitus, and without lipid-lowering therapy, were divided into three groups based on BMI: normal weight (N = 50), overweight (N = 30), and obese (N = 40). Biochemical parameters, including basic lipid and non-lipid ones, were analyzed. PCSK9 levels were measured by ELISA, vascular changes were quantified by carotid ultrasound (carotid artery intima-media thickness, cIMT), and arterial stiffness parameters (pulse wave velocity, PWV; augmentation index, AI; stiffness parameter, b) were measured by an echo-tracking method.

Results

Plasma levels of PCSK9 significantly increased in obese (172.78 ± 51.67 ng/mL) in comparison with overweight (120.14 ± 37.64 , $p < 0.001$) and normal weight groups (114.92 ± 35.87 , $p < 0.001$). Differences between the overweight and normal weight groups were not significant ($p = 0.85$). The level of PCSK9 significantly correlated with values of BMI ($p < 0.001$, $r = 0.38$). In addition to increase in laboratory parameters associated with moderate metabolic changes, significant increase in cIMT and parameters of vascular changes (b, AI, PWV) were detected in groups with elevated BMI. Significant positive linear correlation of PCSK9 concentrations and cIMT ($p < 0.001$, $r = 0.39$), PWV ($p < 0.001$, $r = 0.31$), and b ($p < 0.001$, $r = 0.3$) were found. In multivariable regression analysis after adjusting for gender, age, BMI, and LDL, the impact of PCSK9 on cIMT, b, and PWV remained significant ($p = 0.006$, 0.03 , and 0.002 , respectively).

Conclusion

PCSK9 plasma levels significantly correlated with subclinical vascular changes and their values were significantly elevated in obese subjects. We assume that PCSK9 could be used as a predictor of early vascular involvement, prior to the existence of manifest atherosclerosis. These results also highlight the role of anti-PCSK9 treatment in primary prevention.

ACKNOWLEDGEMENTS: *This publication was supported by the Operational program Integrated Infrastructure within the project: Demand-driven research for the sustainable and innovative food, Drive4SIFood 313011V336, cofinanced by the European Regional Development Fund and Scientific Grant Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic and the Slovak Academy of Sciences: project VEGA 1/0780/19.*

COVID-19, PYRIDINOVÉ KOENZYMY A SIRTUINY

COVID-19, PYRIDINE COENZYMES AND SIRTUINS

V. Holeček

Mulac Hospital, Plzeň

Abstract

The oxidative stress it creates is important for the SARS-CoV-2 virus. Free radicals oxidize biomolecules, thereby gaining energy for rapid replication. Antioxidant capacity decreases with aging, so seniors are more likely to become hosts to the virus. Oxidative stress promotes mutations of the virus, which defends itself against immune substances, including vaccines. The increased synthesis of lipids and cholesterol from acetyl-CoA is subject to lipoperoxidation, and the resulting malondialdehyde (MDA) is able to bind immunoglobulins and vaccine proteins and thus reduce their effect. Man defends himself by making anti-MDA. Therapeutically, fenofibrate can be used to reduce lipogenesis, antioxidants with a low redox potential against oxidative stress (GSH and NAD), selenites and iodides against mutations, virucidal substances, etc.

Úvod

COVID-19 může způsobit akutní poškození myokardu, jeho zánět, arytmie, venózní tromboembolie a aterosklerotické změny. Vakcíny a epidemiologická opatření podle současných zkušeností jsou sice úspěšná, ale nestačí zvláště na případy „long covid“. Koronavirus se úspěšně v řadě případů brání před terapií. Zdá se, že hlavní obranou jsou 3 jeho schopnosti:

- 1) Oxidační stres
- 2) Mutace
- 3) Přesmyk acetyl-KoA z aerobní glykolýzy na syntézu lipidů, cholesterolu a ubiquinolu Q10 a vazba protilátek na malondialdehyd

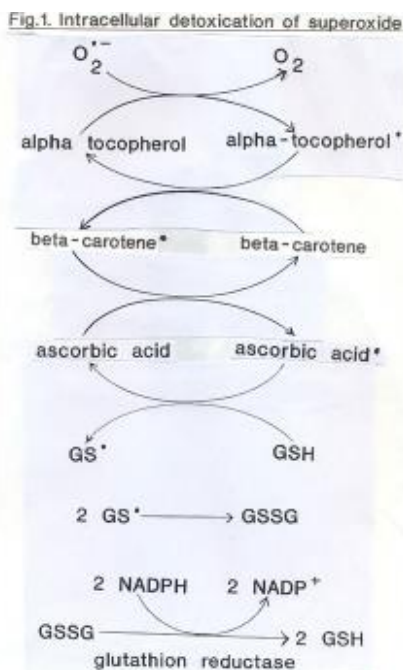
Oxidační stres

Oxidační stres (porucha rovnováhy radikálů a antioxidantů ve prospěch volných radikálů) lze řešit směsí antioxidantů (ne každý antioxidant je účinný na kterýkoliv volný radikál). Volné radikály jsou látky, které mají jeden či více nepárových elektronů a snaží se získat elektron do páru ze svého okolí. Látka, která elektron poskytne, se stává novým volným radikálem, a tak to probíhá dále, dokud nepotká antioxidant nebo jiný volný radikál se kterým elektrony sdílí. ROS látky (reactive oxygen species) mají podobné vlastnosti, ale nemají nepárový elektron (singletový kyslík, peroxid vodíku, ozón).

Proti oxidačnímu stresu je třeba využívat především antioxidanty s nízkým redox potenciálem a tedy jejich antioxidantní schopnost je vysoká a prooxidační je malá. Sem lze zařadit redukované pyridinové koenzymy (NMFH, NADH, NADPH), dále redukovaný glutathion, melatonin, některé flavonoidy, vodík aj. NRF2 má centrální roli v obranných mechanismech proti oxidačním a elektrofilním poškozením. NRF2 je protein, který má protizánětlivou funkci a je deacetylován sirtuiny. Nepřítomnost sirtuinů vede k inhibici exprese NRF2 a ztrátě antioxidantní a protizánětlivé ochrany buněk.

Na obrázku 1 je **odstranění superoxidu sérií oxidoredukčních pochodů**. Látka, která ztratí elektron, je oxidována, naopak ta, která ho přijme je redukována (působí antioxidantně).

Antioxidanty chrání lipidy před lipoperoxidací, proteiny před oxidací, nukleové kyseliny před mutací. Ze tkání se v mozku přes den hromadí volné radikály, které jsou během spánku odstraňovány, tedy spánek působí jako antioxidant (to si lze vysvětlit produkcí melatoninu ve tmě). Dlouhé svícení do noci není dobré. Tkáně jsou zvláště ohrožovány volnými radikály ze škodlivého prostředí, rtg a gama paprsky, radioaktivitou, UV paprsky, ale i negativními emocemi, některými metabolickými pochody aj. Odbourávání nukleových kyselin (nekróza, apoptóza, ferroptóza, hnis), produkcí kyseliny močové z purinů produkuje superoxid.



Obrázek 1 Odstranění superoxidu sérií oxidoredukčních pochodů

Ovšem i nadbytek antioxidantů není dobrý, působí poruchy signalizace, některé poruchy imunity (bílé krvinky volnými radikály zabijí bakterie, plísně, kvasinky, NK buňky pak buňky nádorů). V 60 letech klesá u lidí celková antioxidační kapacitu až o 80 % a snáze onemocní koronavirovou infekcí. Poškozením bílkovinných receptorů lze vysvětlit ztrátu chuti a čichu. U mnoha nemocí a stavů se volné radikály podílí na jejich vzniku (diabetes, renální insuficience, neurodegenerativní choroby, záněty, bolest, nádory aj.).

Mutace

Dědičné vlastnosti jsou uskladněny v DNA. Je to řetězec mononukleotidů (dusíkatá báze-(desoxy)ribóza- kyselina fosforečná). Zakódování je pomocí dusíkatých bází. Pro DNA je to A, G, C, T, pro RNA A, G, C, U. Při potřebě vyrobit bílkovinu je aktivována příslušná část DNA, transkribována na RNA a v ní je návod na tvorbu bílkoviny. Vždy 3 nukleotidy kódují příslušnou aminokyselinu v řetězci. Tedy probíhá postup. DNA → RNA → bílkovina. Ovšem postup může proběhnout i opačným směrem. Tedy nová bílkovina se dostane do DNA a v dalších generacích už organismus ji umí vyrobit. Tato cesta se nazývá epigenese.

Volné radikály mohou oxidovat dusíkaté báze, takže třeba Uracil, který transkripcí naváže Cytosin, po oxidaci váže Adenin, nebo Adenin po oxidaci místo Thyminu váže Cytosin, což jsou mutace. Koronavirus je jednolátková RNA. Mutací se mění virus a na novou formu už protilátky a vakcíny jsou méně účinné. Pokud se nepodaří odstranit mutace, k eradikaci koronavirové infekce nedojde. Koronavirus nemá zájem usmrtit svého hostitele - člověka, protože s ním umírá i on. Proto se často vyskytují mutace méně smrtelné, ale více infekční.

Možná, že mutace vznikají už i u člověka, který onemocněl. Určitá část viru, která se mutací vyhne účinku protilátek, může se usídlit někde v těle jako latentní infekce, která čeká na vhodné podmínky k replikaci. To by vysvětlovalo některé následné problémy pacientů již „vyléčených“ a opakování onemocnění. Proti mutacím mohou být účinné látky, které mají malou molekulu a dostanou se do blízkosti RNA (DNA) a mohou být přednostně oxidovány volnými radikály před dusíkatými bázemi jako $\text{Se}^{4+} - 2 e^- \rightarrow \text{Se}^{6+}$ nebo $2 \text{I}^- - 2 e^- = \text{I}_2$.

Zajímavý může být fakt, že do střeva se dostávají volné radikály potravou, odbouráváním purinů, s COVIDem-19, v reperfuční fázi po ischemii apod. Ve střevě vzniká mnoho imunitních látek. Pasáží stolice střevem vlivem zpětné rezorpce klesá hladina imunitních látek, vody, iontů a antioxidantů, naopak relativně stoupá hladina volných radikálů. Ty mohou působit mutace a vznik nádorových buněk. Zřejmě proto ca rekta je zhoubnější než ca colon. Není ani vyloučeno, že mutace viru mohou vzniknout během onemocnění člověka. Podávání antioxidantů p.os by mohlo snížit riziko karcinomů střev.

Přesmyk acetyl-KoA z aerobní glykolýzy na syntézu lipidů, cholesterolu a ubichinolu Q10.

Anaerobní glykolýzou vzniká kyselina mléčná, resp. acetyl-KoA. Ten reaguje s oxaloctovou kyselinou na citrát, který je v cyklu trikarbonových kyselin zoxidován na vodu a oxid uhličitý. Dalším zdrojem acetyl-KoA mohou být oxaloctová kyselina nebo sirtuiny. Acetyl-KoA ke svému vzniku potřebuje kyselinu pantothenovou. Koronavirus podle izraelských autorů využívá acetyl-KoA na syntézu mastných kyselin, triglyceridů, cholesterolu či ubichinolu Q10. Svými volnými radikály pak působí lipoperoxidaci, při které vznikají kancerogenní aldehydy, především malondialdehydu (MDA). Ten svými dvěma aldehydickými skupinami se může vázat na aminoskupiny nebo SH- skupiny bílkovin (Kupis, 2016) na protilátky imunoglobulinů či bílkovin vakcín, čímž si virus poškodí obranu těchto látek proti sobě. Člověk se brání účinkům MDA tvorbou anti-MDA. Přežití části viru může vést k latentní infekci, která při oslabení imunity může znovu vzplát.

Podání fenofibrátů (Lipanthyl aj.) snižuje syntézu lipidů, antioxidanty, brání lipoperoxidaci a vzniku malondialdehydu (uvádí se, že proti vzniku malondialdehydu účinkuje zvláště resveratrol). Izraelští vědci publikovali práci, kdy fenofibrát do 5 dnů usmrtil všechny koronavirus u nemocného pacienta.

Pyridinové koenzymy

Asi před 60 lety jsem měl přednášku v Berlíně, kde jsem prezentoval naši práci, kdy erythrocyty 3x promyté Ringerfosfátovým roztokem a pak inkubované s nikotiamidem, produkovaly nikotinamidmononukleotid (NMN) a to signifikantně více u pacientů po infarktu myokardu. Teorie o zvýšené enzymatické reakci u stresu neobstála, dnes víme, že ischemie následovaná reperfuzí působí vznik množství volných radikálů a tedy NMN je obranou reakcí organismu. Při infarktu myokardu vzniká i singletový kyslík, který je nebezpečný tím, že působí arytmiie srdečního rytmu. Singletový kyslík je inhibován histidinem nebo polyfenolickými antioxidanty.

Výhodný redox potenciál a syntéza pyridinových koenzymů z nikotinamidu, kyseliny nikotinové (vitamin B3), nikotinylribosidu, tryptofanu, NMN aj. umožňuje organismu zvyšovat celkovou antioxidační kapacitu. Některé farmaceutické firmy tyto prekurzory vyrábí. NMN brání před poklesem NAD^+ a chrání před metabolickým syndromem a intolerancí glukózy. Vhodným prekurzorem NAD^+ je NMN, který snižuje edém mozku i velikost hematomu, oxidační stres a zánět. NMN brání stárnutí cév a dokonce může obnovit plodnost u starých myší. Cesta $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{proteiny}$ může probíhat i opačným směrem a NMN stabilizuje v organismu epigenetické změny (Kane, 2019). NMN se podílí na snížení poškození DNA a mitochondrií, je dobře vstřebatelný p os. Sinclair podává až 1000 mg NMN denně.

Pokles NAD⁺ (nikotinamidadenin dinukleotidu) v mitochondriích se považuje za příčinu stárnutí a ztráty paměti. U nízké hladiny NAD⁺ dochází k poruše komunikace mezi mozkem a mitochondriemi. V 50 letech mívají lidé jen poloviční hladinu NAD⁺, v 80 jen 1-10 % hladiny oproti mládí. Podání NAD⁺ chrání před poruchami mozku jako je amyotrofická laterální skleróza nebo mozková mrtvice. NMN se podílí na snížení poškození DNA a mitochondrií, je dobře vstřebatelný p os.

NMN je v kravském mléce, rybách, houbách, kvasnicích, NAD⁺ stoupá po resveratrolu, cvičení a nízkém kalorickém příjmu. Podávání NMN po 7 dní zlepšilo neurologické funkce a snížilo poškození mozku. Kdybychom neměli NAD⁺ v těle zemřeli bychom do 30 sekund. NADPH umožňuje redukci thiylového radikálu (GS) na redukovaný glutathion (GSH).

Sirtuiny

Sirtuiny jsou NAD⁺ závislé enzymy-deacetylázy, regulující metabolismus a chránící dědičné informace před poškozením. Jsou obsaženy prakticky ve všech buňkách živočichů i rostlinách i v mikroorganismech včetně virů. V lidském organismu se jich popisuje sedm (SIRT1 – SIRT7). Sirtuiny jsou produkovány jako odpověď na stres, např. na hladovění, intenzivní cvičení, ohrožení života (Kupis, 2016). Ke své funkci potřebují NAD⁺. Sirtuiny jsou slibnými látkami na prodloužení délky lidského života. D. Sinclair popsal postmenopauzální ženy, které opět začaly menstruovat. Různé sirtuiny mají rozdílné funkce. Např. SIRT1 zvyšují počet funkčních spojení mezi mozkovými neurony. SIRT6 chrání DNA před poškozením oxidačním stresem, jeho aktivátorem je cyanidin. Sirtuiny stimulují autofagii, odstraňují staré a použité proteiny, kontrolují zánětlivou odpověď u depresí, regulují nedostatečnou hladinu neurotransmitérů, zlepšují synaptickou dysfunkci a zvyšují schopnost poznávání, různě reagují na nádorová bujení. Hormeze je podání malých stimulačních dávek, které nutí organismus opravovat buňky. Tělo místo budování nových buněk opravuje ty stávající a je omlazuje. Některé složky hlavně z rostlin podporují vznik sirtuinů. Sem patří: kapusta, červené víno, jahody, cibule, soja, petržel, panenský olivový olej, hořká čokoláda (s 85 % kaka), zelený čaj, zelené jablko, kurkuma, pšenice, vlašské ořechy, chilli, červená cikorka, kapari, borůvky a káva. Tyto látky zrychlují metabolismus, urychlují spalování tuků a potlačují chuť k jídlu.

Rostliny vystavené stresu (například suchu) brání se nepřízni osudu syntézou polyfenolických látek a následnou mobilizací genů pro sirtuiny a přenášejí polyfenolový signál i na býložravce, kteří je konzumují. Sirtuiny odstraňují staré a použité proteiny. Po určité době vstupuje buňka do stavu senescence, kdy ztrácí schopnost proliferace. Ve stáří selhává eliminace senescentních buněk imunitním systémem. Tyto senescentní čili stařecké buňky organismus vyčerpávají. Pořád berou živiny, potřebují kyslík, ale téměř nic nedělají. (Lopéz-Otin, 2013). Ve stáří selhává eliminace senescentních buněk imunitním systémem, což může porušit funkci tkání a způsobit vznik nádorů. Látky schopné zabíjet přednostně senescentní buňky se nazývají senolytika (fisetin, quercetin, MCOPPB aj.).

Závěr

Volné radikály, antioxidanty, pyridinové koenzymy a sirtuiny se významně zapojují do mnoha nemocí a stavů. Rozhodně je třeba zvýšit pozornost na tento výzkum, který nepochybně může přinést významný pokrok v terapii.

Summary

Free radicals, antioxidants, pyridine coenzymes and sirtuins are significantly involved in many diseases and conditions. There is definitely a need to increase attention to this research, which can undoubtedly lead to significant advances in therapy.

Literatura

1. **Wei CC., Kong YY., Li GQ., et al.** Nicotinamide mononucleotide attenuates brain injury after intracerebral hemorrhage by activating Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Sci Rep* 2017; 7(1): 717.
2. **Kane AE., Sinclair DA.** Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2019; 54(1): 61-83.
3. **López-Otín C., Blasco MA., Partridge L., et al.** The hallmarks of aging. *Cell* 2013; 153(6): 1194-1217.
4. **Kupis W., Palyga J., Tomal E., Niewiadomska E.** The role of sirtuins in cellular homeostasis. *J Physiol Biochem* 2016; 72(3): 371-380.
5. **Khan H., Patel S., Majumdar A.** Role of NRF2 and Sirtuin activators in COVID-19. *Clin Immunol* 2021; 233: 108879.
6. **Alwazeer D., Liu FF., Wu XY., LeBaron TW.** Combating Oxidative Stress and Inflammation in COVID-19 by Molecular Hydrogen. *Therapy: Mechanisms and Perspectives. Oxid Med Cell Longev* 2021; 2021: 5513868.
7. **Nair AS.** Perioperative melatonin in COVID-19 patients: benefits beyond sedation and analgesia. *Med Gas Res* 2022; 12(2): 41-43.
8. **Vlachou M., Siamidi A., Dedeloudi A., et al.** Pineal hormone melatonin as an adjuvant treatment for COVID-19 (Review). *Int J Mol Med* 2021; 47(4): 47.
9. **Grothman G.** on Fenofibrate's Effect on COVID-19. Dostupné na: <https://grothman.house.gov/news/documentsingle.aspx?DocumentID=1669>
10. **Gasmi A., Chirumbolo S., Peana M., et al.** Biomarkers of Senescence during Aging as Possible Warnings to Use Preventive Measures. *Curr Med Chem* 2021; 28(8): 1471-1488.
11. **Bernini R., Velotti F.** Natural Polyphenols as Immunomodulators to Rescue Immune Response Homeostasis: Quercetin as a Research Model against Severe COVID-19. *Molecules* 2021; 26(19): 5803.
12. **Holeček V., Kulich VI., Čepelák V.** Factors influencing the amount of the synthesis of nicotinamidenucleotide in human erythrocytes. *Folia Haematol* 1962; 78: 426-429.
13. **Sinclair DA.** Lifespan. *The Revolutionary Science of Why We Age—and Why We Don't Have To.* Bestof.me 2020.
14. **Lin SC., Ho CT., Chuo WH., et al.** Effective inhibition of MERS-CoV infection by resveratrol. *BMC Infect Dis* 2017; 17(1): 144.
15. **Suchopár J., Bultas J.** COVID-19 léčiva důkazy o účinnosti a bezpečnosti a prodeje v ČR. *Medicína a umění* 2021; 5: 22-28.
16. **Vollbracht C., Friedrichsen HP., Gröber U.** Vitamin C a zinek –podpůrná léčba při onemocnění covidem-19. *Medicína a umění* 2021; 5: 29-30.
17. **Keflie TS., Biesalski HK.** Micronutrients and bioactive substances: Their potential roles in combating COVID-19. *Nutrition* 2021; 84: 111103.
18. **Yousefi H., Mashouri L., Okpechi SC., et al.** Repurposing existing drugs for the treatment of COVID-19/SARS-CoV-2 infection: A review describing drug mechanisms of action. *Biochem Pharmacol* 2021; 183: 114296.
19. **Zhang Z., Zhang X., Bi K., et al.** Potential protective mechanisms of green tea polyphenol EGCG against COVID-19. *Trends Food Sci Technol* 2021; 114: 11-24.
20. **Abdrabbo M., Birch CM., Brandt M., et al.** Vitamin D and COVID-19: A review on the role of vitamin D in preventing and reducing the severity of COVID-19 infection.

METABOLIZMUS LIPIDOV PRI KARCINÓME PRSNÍKA A ICH DIAGNOSTICKÝ POTENCIÁL

LIPID METABOLISM IN BRESAST CARCINOMA AND THEIR DIAGNOSTICAL POTENTIAL

A. Hurajtová¹, Z. Guľašová², Z. Hertelyová², V. Tomečková¹, J. Radoňák³, J. Fedáčko²

¹ Department of Medical and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice

² Center of Clinical and Preclinical Research MEDIPARK, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice

³ 1st Department of Surgery, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice

Abstract

Lipids are the source of energy and the basic building blocks of all living cells. The cancer is closely linked to diet, by the presence of specific lipids in the cell membrane, and lipid metabolism. This claim is supported by the experiments on the reprogrammed metabolic mechanism in cancer cells in the cell and animal models that are described in this review article. The results of these studies indicate that cancer growth can be induced or inhibited by exogenous dietary lipids. Selected lipid markers are determined by various biochemical analyzes: PCR, ELISA, Western blot, gas chromatography (GC-FID) and liquid chromatography (LC-MS/MS; UPLC/ICPMS). By monitoring selected markers, we would like to experimentally detect selected lipid signaling pathways that are involved in breast cancer.

Úvod

Nádor je útvar zložený z populácie abnormálnych buniek, ktoré vznikli nadmerným a nekontrolovateľným množením (delením buniek), spôsobeným poruchou rastových regulačných mechanizmov. Rast buniek je nekoordinovaný (Karagiota et al., 2022).

Metabolizmus lipidov v nádoroch

Mastné kyseliny a ich deriváty tvoria základnú štruktúru bunkovej membrány, slúžia ako zásobáreň energie a ako mediátory v bunkových signálnych dráhach. V bunkách sa lipidy buď získavajú z potravín alebo sa syntetizujú z acetyl-CoA. Acetyl-CoA vzniká v mitochondrii, v ktorých enzým pyruvátdehydrogenáza premieňa pyruvát na acetyl-CoA. Acetyl-CoA sa následne premení na citrát pomocou citrátsyntázy. Pomocou citrátu sa acetyl-coA z mitochondrií transportuje do cytozolu, kde prebieha syntéza mastných kyselín. Z citrátu v cytozole pomocou ATP citrát lyázy vzniká acetyl-CoA, z ktorého acetyl-CoA karboxylázou vzniká malonyl-CoA. Malonyl-CoA sa viaže na ACP proteín (acylový nosičový proteín) a opakovane sa predlžuje syntázou mastných kyselín za vzniku 16-uhlíkovej kyseliny palmitovej. Kyselinu palmitovú možno ďalej desaturovať, predlžovať za vzniku derivátov nenasýtených mastných kyselín, ktoré slúžia ako stavebné zložky na syntézu iných lipidov: fosfoglyceridov, fosfoinozitolov, eikozanoidov a sfingolipidov (Bian a kol., 2021).

Pri prebytku sacharidov sa pyruvát premieňa na acetyl-CoA, aby slúžil ako prekursor mastných kyselín. Glukóza je primárnym prekursorom biosyntetizovaných mastných kyselín nádorov, nie je metabolizovaná citrátovým cyklom, ale prednostne glykolýzou. Farmakologická inhibícia *syntázy mastných kyselín* u myší a opíc zlepšila metabolizmus glukózy a potlačila zápal v makrofágoch. Kyselinu palmitovú možno predĺžiť na stearovú pomocou *elongázy* vyšších mastných kyselín. Keď je inaktivovaná *elongáza* vyšších mastných kyselín, indukuje obezitu. K ďalšiemu predlžovaniu reťazca mastných kyselín môže

dôjsť buď v mitochondriách pomocou *enoyl-CoA reductázy* alebo v mikrozómoch. Reťazec mastnej kyseliny sa predlžuje, kým sa nedosiahne vhodná dĺžka. Mastná kyselina je potom esterifikovaná glycerolom za vzniku triacylglycerolov (Nigam a kol., 2022; Brenna, Kothapalli, 2022).

Acetyl-CoA sa tiež používa na syntézu cholesterolu mevalonátovou cestou. Tento proces zahŕňa najprv premenu acetyl-CoA na lanosterol (cez medzi produkty zahŕňajúce 3-hydroxy-3-metylglutaryl CoA, mevalonát, izopentenylpyrofosfát, farnezylypyrofosfát a skvalén), ktorý sa potom viacstupňovým enzymatickým procesom premení na cholesterol.

V nádoroch sú bežne upregulované ATP citrát lyáza, acetyl-CoA karboxyláza, syntáza mastných kyselín a bolo preukázané, že inhibícia alebo zníženie aktivity týchto enzýmov obmedzuje rast rakovinových buniek. Upregulácia enzýmov súvisiacich so syntézou mastných kyselín prebieha prostredníctvom transkripčného faktora, proteínu viažuceho sterolový regulačný element (SREBP). SREBP transkripčne kontroluje viaceré gény pre syntézu a vychytávanie rôznych mastných kyselín, cholesterolu, triglyceridov a fosfolipidov a je regulovaný komplexom 1 mTOR (King, Singh, Mehla, 2022).

Predchádzajúce štúdie rôznych druhov rakoviny implikovali dysreguláciu signalizácie mTOR pri sprostredkovaní proliferácie rakovinových buniek. Signalizácia komplexom 1 mTOR vedie k upregulovanej biosyntéze mastných kyselín v rakovinových bunkách aktiváciou SREBP. Dysregulácia komplexu 1 mTOR hrá ústrednú metabolickú úlohu pri podpore rastu a proliferácie rakovinových buniek tým, že im umožňuje preprogramovať ich metabolizmus. Signalizácia komplexu mTOR 1 zvyšuje aj biosyntézu proteínov a nukleotidov (Yi a kol., 2020).

Lipidy ako promotory rakoviny

Prvé experimenty ukázali, že zloženie lipidov nádorových buniek je odlišné od lipidov normálnych zdravých buniek. Ich lipidové zloženie sa líši v závislosti od typu nádorového tkaniva a pravdepodobne tiež koreluje so štádiom nádoru a charakteristikami malignity rakoviny prsníka a zdravým prsným epitelom.

Lipidy, napríklad sfingolipidy pri rakovine, udržiavajú integritu lipidovej dvojvrstvy membrány. Sfingozín možno syntetizovať kondenzáciou kyseliny palmitovej so serínom alebo štiepením zvyškov mastných kyselín z ceramidov ceramidázou. Výsledný sfingozín je fosforylovaný sfingozínkinázou, čím vzniká sfingozín-1-fosfát. Základnou úlohou fosfosfingolipidov na povrchu membrány je zvýšiť fluiditu a selektívnu funkciu lipidovej membrány bunky. Signalizácia sfingozín-1-fosfátu podporuje proliferáciu, migráciu, inváziu, prežitie rakovinových buniek, vyhýbania sa imunitným odpovediam hostiteľa, malígnu transformáciu, schopnosť predchádzať apoptóze a podporovať rezistenciu voči protirakovinovým terapiám. Inhibícia syntézy sfingolipidov obmedzuje rast tumoru. Sfingozín-1-fosfát sprostredkúva komunikáciu medzi hostiteľskou a rakovinovou bunkou zapojením signalizácie závislej alebo nezávislej od receptora sfingozín-1-fosfátu (S1P) spojeného s G proteínom. Rakovinové bunky uvoľňujú sfingozín-1-fosfát do svojho mikroprostredia, kde sa naviažu na receptory S1P, čo indukuje angiogénu aj lymfangiogénu a uľahčuje šírenie nádoru (Bhadwal a kol., 2020; Hii a kol., 2021).

Expresia sfingozín-1-fosfátu je upregulovaná v rôznych nádoroch rakoviny pľúc a kolorektálneho karcinómu. In vitro odhalila, že vysoké hladiny sfingozín-1-fosfátu zvyšujú migráciu a tvorbu krvných aj lymfatických ciev v endotelových bunkách. Angiogénne a lymfatické metastázy sú stimulované aj sekréciou prostaglandínov. Pri rakovine prsníka sa prostaglandíny PGE(2) viažu predovšetkým na príslušný receptor GPCR a indukujú angiogénne regulačné gény pre proliferáciu, tvorbu ciev a metastáz. Pri rakovine prostaty, PGE(2) aktivuje angiogénu prostredníctvom prostanoidných dráh (Finetti a kol., 2020).

Sfingolipidy a ich deriváty sa podieľajú na regulácii signálnych kaskád vo viacerých aspektoch patogenézy a terapie rakoviny, či už pri supresii nádorov alebo pri prežívaní rôznych druhov rakoviny (Pani a kol., 2021).

Lipidy pôsobia ako endogénne signálne mediátory rakoviny. Vysoké koncentrácie exogénnych lipidov v potrave môžu indukovať tumorigenézu a tvorbu metastáz. Viaceré štúdie na myšiach sledovali vplyv rôznych diét s vysokým obsahom lipidov, napr. ketogénne diéty a pozorovali zvýšený rast nádorov a metastáz. Vznik rakoviny iniciovali špecifické lipidy prítomné v diéte napr. cholesterol, kyselina palmitová, kyselina palmitolejová. Ketogénna diéta s vysokým obsahom tuku podávaná myšiam *ad libitum* aktivovala signálnu cestu ERK1/2. ERK1/2 zvyšuje signalizáciu mTOR v obličkových nádoroch. V inej štúdií diéty s vysokým obsahom tuku zvýšili v krvnom sére myši hladinu acetoacetátu, čo viedlo k zvýšenému rastu nádoru ľudského melanómu (Lope a kol., 2020; Sukumar a kol., 2021).

Lipidy ako supresory rakoviny

Polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA) inhibujú rozvoj rakoviny. Bežnou ω -3 PUFA v diéte je kyselina α -linolénová (ALA), kyselina eikozapentaénová (EPA) a kyselina dokózahexaénová (DHA) a bežné ω -6 v potrave sú kyselina linolová (LA) a kyselina arachidónová (AA). Súčasné trendy naznačujú, že pomer 4:1 (ω -3 PUFA: ω -6 PUFA) majú priaznivé protirakovinové účinky. Zatiaľ čo prevažujúce ω -6 PUFA v strave zvyšujú pravdepodobnosť vzniku rakoviny (Giordano a kol., 2020).

Epidemiologický prieskum, ktorý sledoval viac ako 72 000 účastníčok a ich diéty s ω -6 PUFA počas 8 rokov, ukázal, že keď konzumovali vyššie množstvá ω -6 PUFA v porovnaní s ω -3 PUFA, zvýšilo sa u nich riziko vzniku rakoviny prsníka. Priaznivé vlastnosti ALA (aj ω -3) sú však menšie v porovnaní s EPA a DHA. Na vzniku rakoviny prsníka sa podieľa ω -6 PUFA LA, hoci jej úloha je v súčasnosti stále nejasná. Ďalšia ω -6 PUFA, AA, sa študuje v kontexte zvyšovania rastu rakoviny prostaty. Presná úloha PUFA pri rakovine s najväčšou pravdepodobnosťou závisí od mnohých ďalších faktorov vrátane typu rakovinových buniek, štádia a metabolizmu hostiteľa týchto PUFA, pričom všetky by sa mali podrobnejšie preskúmať, aby sa PUFA využili v protirakovinovej terapii (Frankhouser, 2022).

Lipidy ako signálne mediátory pri rakovine

Mnohé signálne hormóny a rastové faktory bunky majú lipidovú štruktúru napríklad: prostaglandíny, kyselinu lyzofosfatidovú, steroidné hormóny a iné.

Prostaglandíny sú podtriedou eikozanoidov, sú syntetizované oxidáciou 20-uhlíkových esenciálnych mastných kyselín pomocou cyklooxygenázy (COX). Prostaglandín E2 (PGE(2)) priamo moduloval tumorigenézu pri rakovine. Napríklad podávanie exogénneho PGE(2) potkanom viedlo k vyššiemu výskytu a multiplicitate črevných adenómov. K zvýšenej karcinogenéze hrubého čreva dochádza prostredníctvom väzby PGE(2) na E-prostanoidné (EP) membránové receptory 1 – 4 (Shirakami a kol., 2021).

Štúdia *in vitro* ukázala, že liečba s PGE(2) zvýšila proliferáciu epitelových buniek a expresiu COX-2 v črevných adenómoch, o ktorých sa predpokladá, že pôsobia prostredníctvom signálnej cesty Ras-mitogénom aktivovanej proteinkinázy. PGE(2) v bunkách pľúcneho karcinómu indukuje tvorbu MMP-9 a VEGF, centrálnych regulátorov angiogenézy a následne tvorby metastáz, čo ďalej poukazuje na signálnu úlohu prostaglandínov v progresii rakoviny.

Kyselina lyzofosfatidová je fosfolipid, ktorý sa viaže receptory spojené s G proteínom (GPCR) na aktiváciu bunkovej proliferácie, prežitia a migrácie. Na ľudských rakovinových bunkách pečene sa ukázalo, že kyselina lyzofosfatidová sa viaže na lyzofosfatidový receptor 1, a tak aktivuje MMP-9 a podporuje inváziu rakovinových buniek (Hirata a kol., 2022).

Pri tumorigenéze a expanzii rakoviny dochádza k dysregulovanej expresii a signalizácii kyseliny lyzofosfatidovej. Na tvorbe kyseliny lyzofosfatidovej sa podieľa sekrečný enzým autotaxín. Tento enzým je markerom hyperproliferácie a invazívnosti nádoru. Nadmernú expresiu autotaxínu a receptorov kyseliny lyzofosfatidovej pozorovali pri niekoľkých rakovinách vrátane glioblastómu a invazívnych nádorov rakoviny prsníka (Litchfield a kol., 2021; Lei a kol., 2022).

Záver

Zastúpenie lipidov v strave, metabolizmus a signalizácia lipidov majú hlavnú úlohu pri vzniku rakoviny. Pri tomto ochorení sa funkcie enzýmov modifikujú, dysregulujú, môže sa zvýšiť iniciácia biosyntézy a metabolizmus lipidov, dochádza k zmene štruktúry, zloženia a lokalizácie bioaktívnych lipidov v membráne rakovinových buniek.

Vybrané lipidové markery analyzujeme pomocou rôznych biochemických analýz; PCR, ELISA, Western blot, plynovej chromatografie a kvapalinovej chromatografie (LC-MS/MS; UPLC/ICPMS). Plynovou chromatografiou analyticky určíme rôzne lipidy: cholesterol, prostaglandíny, nasýtené mastné kyseliny: napr. kyselinu palmitovú, ale aj mononenasýtené mastné kyseliny: napr. kyselinu palmitoolejovú, polynenasýtené mastné kyseliny: napr. α -linolénovú, eikozapentaénovú, dokózahexaénovú, glycerofosfolipidov: napr. kyselinu lyzofosfatidovú. Kvapalinovou chromatografiou stanovíme fosfatidylinozitol-3-fosfát (LC-MS/MS), sfingozín-1-fosfát (LC-MS/MS) a cyklooxygenázu 2 (UPLC/ICPMS). Molekulovú úroveň expície génov mTOR, SREBP, VEGF-C, beklín-1, autotaxín je študovaná pomocou metódy real-time PCR, kým molekulové zmeny na úrovni proteínov sú sledované pomocou metód Western blot a ELISA. Túto štúdiu by sme chceli experimentálne aplikovať na detekciu metabolického profilu rakoviny prsníka pomocou sledovania vybraných markerov lipidov a ich signálnych ciest v krvnej plazme pacientov.

Pod'akovanie

Táto publikácia vznikla za podpory Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied: VEGA 1/0622/20 a projektu Bioaktívne látky pre podporu zdravia a prevenciu chronických ochorení ITMS2014+:313011T651.

Literatúra

Apte RS., Chen DS., Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell* 2019; 176(6): 1248-1264.

Balaji Ragunathrao VA., Anwar M., Akhter MZ., et al. Sphingosine-1-Phosphate Receptor 1 Activity Promotes Tumor Growth by Amplifying VEGF-VEGFR2 Angiogenic Signaling. *Cell Rep* 2019; 29(11): 3472-3487.e4.

Bhadwal P., Dahiya D., Shinde D., et al. LC-HRMS based approach to identify novel sphingolipid biomarkers in breast cancer patients. *Sci Rep* 2020; 10(1): 4668.

Bian X., Liu R., Meng Y., et al. Lipid metabolism and cancer. *J Exp Med* 2021; 218(1): e20201606.

Brenna JT., Kothapalli KSD. New understandings of the pathway of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2022; 25(2): 60-66.

El-Kharashy G., Gowily A., Okda T., et al. Association between serum soluble Toll-like receptor 2 and 4 and the risk of breast cancer. *Mol Clin Oncol* 2021; 14(2): 38.

Finetti F., Travelli C., Ercoli J., et al. Prostaglandin E2 and Cancer: Insight into Tumor Progression and Immunity. *Biology (Basel)* 2020; 9(12): 434.

- Frankhouser DE., Steck S., Sovic MG., et al.** Dietary omega-3 fatty acid intake impacts peripheral blood DNA methylation -anti-inflammatory effects and individual variability in a pilot study. *J Nutr Biochem* 2022; 99: 108839.
- Giordano C., Plastina P., Barone I., et al.** *n*-3 Polyunsaturated Fatty Acid Amides: New Avenues in the Prevention and Treatment of Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2020; 21(7): 2279.
- Hii LW., Chung FF., Mai CW., et al.** Sphingosine Kinase 1 Signaling in Breast Cancer: A Potential Target to Tackle Breast Cancer Stem Cells. *Front Mol Biosci* 2021; 8: 748470.
- İzgördü H., Vejselova Sezer C., Çömlekçi E., Kutlu HM.** Characteristics of apoptosis induction in human breast cancer cells treated with a ceramidase inhibitor. *Cytotechnology* 2020; 72(6): 907-919. Erratum in: *Cytotechnology* 2021; 73(1): 139-140.
- Karagiota A., Chachami G., Paraskeva E.** Lipid Metabolism in Cancer: The Role of Acylglycerolphosphate Acyltransferases (AGPATs). *Cancers (Basel)* 2022; 14(1): 228.
- King RJ., Singh PK., Mehla K.** The cholesterol pathway: impact on immunity and cancer. *Trends Immunol* 2022; 43(1): 78-92.
- Kong D., Zhou H., Neelakantan D., et al.** VEGF-C mediates tumor growth and metastasis through promoting EMT-epithelial breast cancer cell crosstalk. *Oncogene* 2021; 40(5): 964-979.
- Lin S., Jiang X., Zhang G., et al.** The Chinese Herbal Formula Ruyan Neixiao Cream Inhibits Angiogenesis of Precancerous Breast Lesions via Regulation of Ras/Raf/MEK/ERK Signaling Pathway. *Integr Cancer Ther* 2022; 21: 15347354211069397.
- Lope V., Guerrero-Zotano Á., Casas A., et al.** Serum Phospholipids Fatty Acids and Breast Cancer Risk by Pathological Subtype. *Nutrients* 2020; 12(10): 3132.
- Nigam S., Ranjan R., Sinha N., Ateeq B.** Nuclear magnetic resonance spectroscopy reveals dysregulation of monounsaturated fatty acid metabolism upon SPINK1 attenuation in colorectal cancer. *NMR Biomed* 2022; 35(7): e4705.
- Pani T., Rajput K., Kar A., et al.** Alternative splicing of ceramide synthase 2 alters levels of specific ceramides and modulates cancer cell proliferation and migration in Luminal B breast cancer subtype. *Cell Death Dis* 2021; 12(2): 171.
- Sukumar J., Gast K., Quiroga D., et al.** Triple-negative breast cancer: promising prognostic biomarkers currently in development. *Expert Rev Anticancer Ther* 2021; 21(2): 135-148.
- Yi J., Zhu J., Wu J., et al.** Oncogenic activation of PI3K-AKT-mTOR signaling suppresses ferroptosis via SREBP-mediated lipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2020; 117(49): 31189-31197.

VYBRANÉ DRUHY EXOTICKÉHO OVOCE A JEHO NUTRIČNÍ VÝZNAM

SELECTED EXOTIC FRUITS AND THEIR NUTRITIONAL IMPORTANCE

D. Chrpová, J. Pánek*

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

Exotické ovoce se řadí ke skupině tropického ovoce a jeho rychle se kazící povaha omezuje jeho export na vzdálené trhy.

Exotické druhy ovoce nejsou, vzhledem k jejich nízké konzumaci, pro nás nutričně významnou komoditou. Chemické složení energetických živin je velmi, až na výjimky podobné, lišící se jednotlivými druhy a množstvím jednoduchých sacharidů. Zajímavý je ale obsah bioaktivních sloučenin, jako jsou fenolové kyseliny, polyfenoly, karotenoidy a vitamin C a vláknina, které jsou spojovány se snižováním rizik chronických onemocnění způsobených oxidačním stresem. Bylo ukázáno, že tyto bioaktivní sloučeniny mají různé biologické aktivity in vitro a in vivo, včetně antioxidačních, antimikrobiálních, antivirových a protizánětlivých.

Proto se tyto bioaktivní složky z exotického ovoce získávají a používají k vývoji funkčních potravin, nutraceutik, přípravě produktů pro farmaceutický průmysl a konzervaci potravin. Některé druhy exotického ovoce mohou vykazovat u disponovaných jedinců alergenní účinek.

Kumquat (*Citrus japonica*), Mochyně peruánská (*Physalis peruviana*), Liči čínské (*Litchi chinensis*), Tamarind indický (*Tamarindus indica*), Kiwano (*Cucumis metuliferus*), nashi, hrušeň písečná (*Pyrus pyrifolia*), Mangostana lahodná (*Garcinia mangostana*), acerola (*Malpighia emarginata*), mučenka (*Passiflora edulis*) noni (*Morinda citrifolia*), rambutan (*Nephelium lappaceum*), acai (*Euterpe oleraceae*) a další.

Toto ovoce je pro našeho konzumenta velmi zajímavé po senzorické stránce a není důvod, proč si u nás dostupnými exotickými druhy ovoce neobohatit a nezpestřit jídelníček.

Literatura

Enriquez-Valencia SA., Salazar-Lopez NJ., Robles-Sánchez M., et al. Bioactive properties of exotic tropical fruits and their health benefits. ALAN [online] 2020; 70(3): 205-214.

Devalaraja S., Jain S., Yadav H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. Food Res Int 2011; 44(7): 1856-1865.

Pirson FL. Exotic fruit allergy. Revue Francaise D Allergologie 2020; 60(4): 225-227.

REMISE NOVĚ DIAGNOSTIKOVANÉHO DIABETU 2.TYPU**REMISSION OF NEWLY DIAGNOSED DIABETES TYPE 2****M. Lejsková, I. Hájková, T. Adámek, M. Bronec***Interní klinika III. LF UK Praha, FTN Praha 4***Abstrakt**

Diabetici 2.typu mají zvýšené riziko aterotrombotických komplikací než nediabetici, v průměru dvojnásobné. Pro prevenci aterotrombotických příhod u diabetiků důležitý nejen výzkum nových antidiabetik s antiaterogenním potenciálem podle studií, ale i pochopení příčin vzniku diabetu a možností jeho dlouhodobé remise. V různých studiích bylo potvrzeno, že tzv. remisi diabetu je možno docílit bariatrickou chirurgií, intenzivní farmakoterapeutickou intervencí nebo výraznou úpravou životního stylu - zejména redukční dietou. Při dosažení normalizace glykemií byla zlepšena až obnovena i funkčnost celkové masy β -buněk. Článek se zabývá problematikou definice remise diabetu, strategiemi k dosažení remise diabetu 2.typu (DM2t), patofyziologickými aspekty a prediktory remise DM2t. V závěru je zdůrazněna nezbytnost časně těsné kontroly DM2t od primozáchytu pro zachování funkce β -buněk, schůdnost navození remise DM2t a minimalizaci dlouhodobého rizika komplikací DM2t.

Abstract

Type 2 diabetics have an increased risk of atherothrombotic complications compared to non-diabetics, roughly double. For the prevention of atherothrombotic events in diabetics, it is important not only to research new antidiabetic drugs with antiatherogenic potential according to studies, but also to understand the causes of diabetes and the possibility of its long-term remission. It has been confirmed in various studies that the so-called diabetes remission can be achieved by bariatric surgery, intensive pharmacotherapeutic intervention or significant modification of lifestyle - especially a reduction diet. When glycemic normalization was achieved, the functionality of the total mass of β -cells was improved and even restored. The article deals with the issue of the definition of remission of diabetes, strategies to achieve remission of type 2 diabetes (DM2t), pathophysiological aspects and predictors of remission of DM2t. In conclusion, the necessity of early tight control of DM2t from primo capture to preserve β -cell function, the feasibility of inducing DM2t remission and minimizing the long-term risk of DM2t complications is emphasized.

Úvod

Diabetici 2.typu mají zvýšené riziko progresu aterosklerózy – ve srovnání s nediabetiky v průměru dvojnásobné (1,2). Zejména neuspokojivě kompenzovaný diabetes je doprovázen zvýšením míry glykace a s tím souvisejícího zánětu nízkého stupně i oxidačního stresu (3), které jsou asociovány se zvýšením rizika kardiovaskulárních příhod (4). Starší studie potvrdily asociaci zvýšení glykovaného hemoglobinu (HbA1c) s vyšším rizikem kardiovaskulárních příhod (5,6). Přesto ve studii ACCORD intenzivní antidiabetická terapie s cílem dosažení nediabetických hladin glykovaného hemoglobinu po dobu 3,5 roku významně nesnížila kombinovaný kardiovaskulární endpoint MACE (infarkt myokardu, iktus, náhlá smrt – Major Adverse Cardiovascular Events), ale hraničně zvýšila mortalitu, i když po 3 letech na intenzivní terapii klesl počet nefatálních infarktů myokardu (7). Studie ADVANCE prokázala 10% redukci kombinovaného endpointu velkých makrovaskulárních a mikrovaskulárních příhod především vlivem 21% redukce nefropatií (8). Tyto výsledky

vyvolaly rozsáhlou diskusi a další výzkum patogeneze komplikací DM2t a pro praxi znamenaly požadavek antidiabetik nezvyšujících riziko hypoglykemie a varování před pokusy o příliš těsnou kompenzaci DM2t u pacientů s vysokým rizikem a delší anamnézou hůře kompenzovaného diabetu (9). Pro prevenci aterotrombotických příhod u diabetiků je důležitý nejen výzkum nových antidiabetik, která dosahují významného snížení MACE, ale i pochopení příčin vzniku diabetu a možností jeho dlouhodobé remise.

Diabetes 2.typu je onemocnění charakterizované hyperglykemií, při jehož vzniku hraje roli multifaktoriální genetická predispozice a faktory vnějšího prostředí. Proto se většina případů rozvíjí od středního věku v souvislosti s dietou, životním stylem a nárůstem hmotnosti (10). Podle původních studií z devadesátých let, kdy v průměru do 10 let od diagnózy bylo ke kompenzaci nezbytné zařadit inzulinoterapii, je diabetes popisován jako progresivní nemoc (11). K rozvoji diabetu 2.typu dochází až při zhruba dvoutřetinovém poklesu funkční kapacity β -buněk. Dále klesající funkčnost masy β -buněk v průběhu času se projevuje progresivním průběhem, a tak je pro udržení kompenzace diabetu nutno stupňovat farmakoterapii – přesto u řady pacientů ani zesilování farmakoterapie a posléze zařazení inzulinu nedocílí takové kompenzace, která by zabránila rozvoji chronických diabetických komplikací. Konzistentně příznivý efekt na průběh diabetu mívá redukce hmotnosti (12). Na buněčné úrovni má progresivní pokles funkce β -buněk u DM2t více příčin, posledních letech je zkoumán zejména stres endoplasmatického retikula (13) a dediferenciace β -buněk (14).

Jako remise diabetu bývá označován setrvalý stav s glykemickými parametry nižšími než diabetické, jemuž předchází různě dlouho probíhající manifestní diabetes podle diagnostických kritérií. V roce 2009 a poté 2021 byly publikovány **konsenzy** odborníků definující kritéria remise diabetu, která se významně liší, ale v obou případech jsou založena na diagnostických kritériích diabetu (tab. 1).

Přesto je nepochybné, že riziko zhoršení glukózového metabolismu do diabetických hodnot je v remisi diabetu výraznější než u osob, které nikdy dříve neměly diagnostikovan diabetes, proto někteří odborníci preferují pojem „**post-diabetes**“ místo „remise diabetu“. K relapsu zpět do diabetu dochází zpravidla při stoupání hmotnosti (15).

Definice remise

Definování remise T2DM je obtížné. Diabetes je chronické onemocnění, které je definováno buď opakovaným zvýšením ranní lačné glykemie (**RG**) nebo v klasickém **OGTT** (Orálním Glukózovém Tolerančním Testu) hyperglykemií ve 2. hodině po standardní zátěži 75 g rozpuštěné glukózy nebo zvýšením glykovaného hemoglobinu (HbA1c). Glykemie u zdravých jedinců během dne kolísá a aktuální hodnoty včetně RG mohou být krátkodobě ovlivněny dočasnými událostmi, jako jsou účinky léků, těhotenství a akutní nemoci.

Níže uvedené definice připouštějí remisi diabetu pouze při dosažení kritérií bez farmakoterapie nebo chirurgických metod. Nicméně v řadě publikací, jak plyne i z následujícího textu, je jako remise označováno jakékoli dlouhodobé dosažení parametrů kompenzace pod hodnotami diagnostickým pro diabetes bez ohledu na typ probíhajících léčebných metod.

Tabulka 1 Definice remise diabetu

2009 (16)	2021 (17)
Parciální remise	Remise
Glykemie pod diagnostickým prahem pro diabetes. Trvání nejméně 1 rok. Pacient je bez aktivní farmakologické léčby nebo bariatrické chirurgie.	Pokles glykovaného hemoglobinu na < 6,5 % (< 48 mmol/mol), k němuž dojde spontánně nebo po intervenci a který přetrvává minimálně 3 měsíce
Kompletní remise	Alternativní kritéria
Glykemie ve fyziologickém rozmezí. Trvání minimálně 1 rok. Bez aktivní farmakologické léčby nebo bariatrické chirurgie.	Glykemie nalačno < 7,0 mmol/l Odhadovaný glykovaný hemoglobin (eA1c) vypočtený z hodnot kontinuálního monitorování glukózy (CGM) < 48 mmol/mol
Prolongovaná remise	
Kompletní remise trvající minimálně 5 let.	

Zpracováno podle Kim J., et al. Diabetes Metab J 2022; 46: 165-180.

V původním konsenzu z roku 2009 byly parciální remise a kompletní remise diagnostikovány podle glykemií při prediabetu a fyziologických glykemií. Byla navržena i kritéria pro prodlouženou remisi jako stav kompletní remise trvající déle než 5 let. V novém konsenzu z roku 2021 však byla definice remise změněna na jediný diagnostický standard a klasifikace trvání remise byla zrušena vzhledem ke složitosti průkazu hladiny glukózy v krvi v udržovacím období.

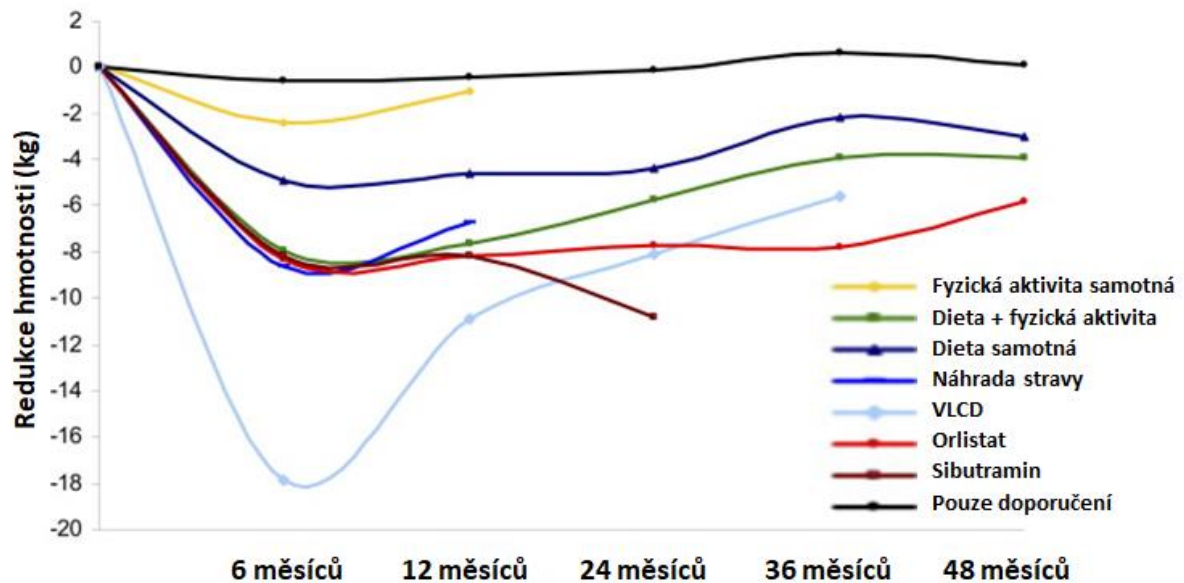
Možnosti diagnostiky diabetických parametrů sacharidového metabolismu: OGTT je technicky komplikovaný a u RG je problém s ovlivněním krátkodobými interkurentními nemocemi i nedodržením lačnění před RG, proto je trendem používat jako diagnostické kritérium HbA1c, který zachycuje komplexněji glykemickou zátěž během týdnů předcházejících odběru. Nově je připouštěn i indikátor kompenzace glykemie odvozený z údajů kontinuálního monitorování glykemie (CGM) - parametr eA1c (estimated HbA1c level) (18). Není připouštěn parametr TIR (Time In Range).

Strategie pro dosažení remise DM2t

Setrvalá redukce hmotnosti vede u diabetiků ke zlepšení funkční kapacity β -buněk (19). Pro dosažení a dlouhodobé udržení remise DM2t jsou nejúčinnější léčebné postupy dosahující setrvalé dlouhodobé redukce hmotnosti. Zatím nejúčinnější v redukci hmotnosti jsou postupy bariatrické chirurgie.

V rozsáhlé observační populační studii hodnotící data 25,6 milionů dospělých Američanů, byla na standardní medikamentózní terapii nalezena remise DM podle výše uvedené pětileté definice pouze u 0,007 % dospělých (20). Naopak léčebné postupy, zejména postupy bariatrické (metabolické) chirurgie s velmi efektivním úbytkem hmotnosti jsou schopny dosáhnout po roce remise u více než poloviny pacientů, ale setrvalost této remise po 5 letech závisí na dalším vývoji hmotnosti, která zpravidla stoupá podle tzv. J-křivky. Tento problém mají rovněž ostatní metody redukce hmotnosti (obr. 1) (21).

Obrázek 1. Vývoj redukce hmotnosti různými farmakologickými a nefarmakologickými postupy (metaanalýza 80 studií)



Upraveno podle Franz MJ et al. *J Am Diet Assoc* 2007; 107: 1755-1767.

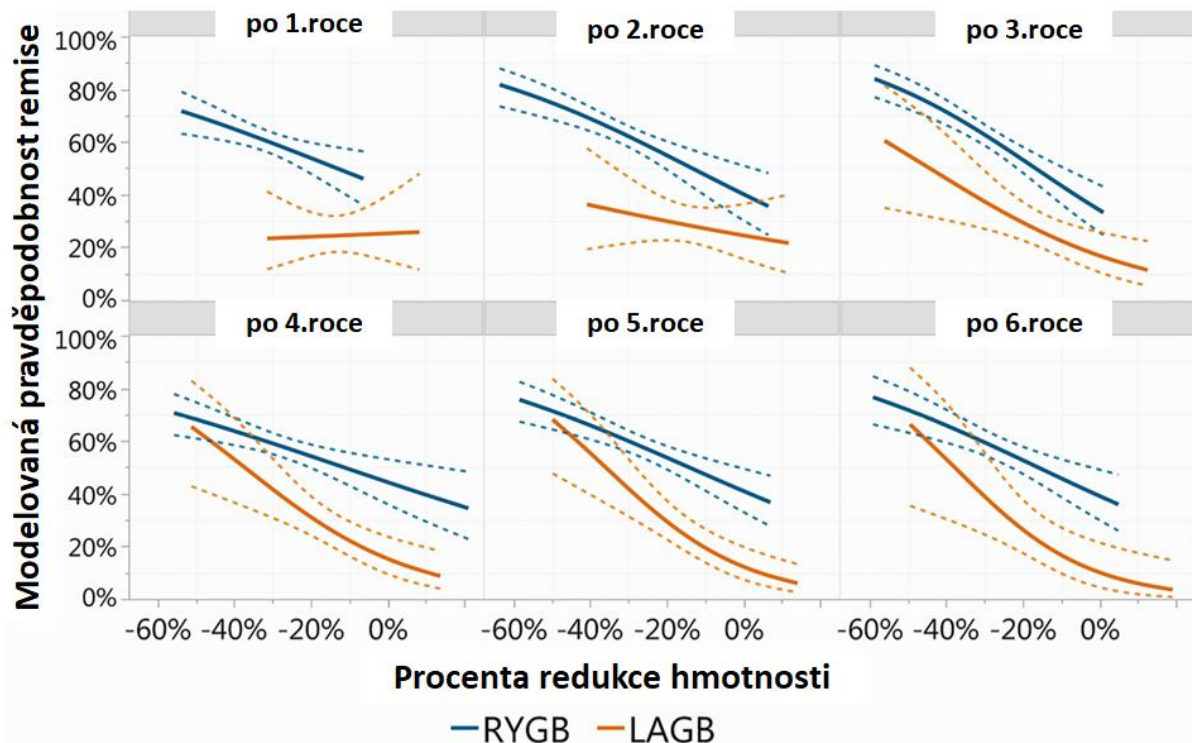
Bariatrická chirurgie

Podle níže uvedených výsledků dosažitelnosti velmi uspokojivé tříleté setrvalosti remise diabetu po laparoskopické adjustabilní bandáži žaludku (LAGB) ve srovnání s Roux-en-Y gastrickým bypassesem (RYGB) (22). Po adjustaci na změnu hmotnosti (obr. 1) se obě křivky po 3 letech přibližují, což odpovídá tomu, že remise diabetu v dlouhodobém průběhu závisí především na udržení setrvale redukované hmotnosti. Významná ztráta hmotnosti navodí ztrátu tuku z viscerálních orgánů, která je předpokladem remise diabetu (23).

Křivka RYGB má po letech klesající variabilitu u vyšších desítek procent, protože více pacientů dosáhne touto metodou na výraznou redukci hmotnosti. Proto bývá RYGB indikován u závažně obézních, pokud u nich není operace kontraindikována.

Je známo, že i u neúčinnějších metod bariatrické chirurgie je problémem dlouhodobé remise diabetu nárůst hmotnosti po úspěšné redukci (weight regain) (24). U těchto chirurgických metod je nutno počítat s komplikacemi: chirurgická intervence invazivní výkon zahrnující celkovou anestezii s akutními riziky včetně úmrtí (25), je popisováno riziko chronických komplikací, zejména malnutrice (26) a duševních onemocnění (27).

Obrázek 2. Modelované pravděpodobnosti a 95% intervaly spolehlivosti pro remisi diabetu po jednotlivých letech u dvou různých metod bariatrické chirurgie



Upraveno podle Purnell JQ., et al. *JCEM* 2021; 106; 774-788.

Kontrola hmotnosti intenzivním dietním omezením kalorií

Dietně a farmakologicky navozená redukce hmotnosti bez bariatrické chirurgie bohužel nemívá tak výraznou redukci hmotnosti jako intervence chirurgická.

Přechodně je nejúčinnější drastické omezení kalorií v dietě - **velmi nízkokalorická dieta (VLCD)**. VLCD má po několika měsících podobnou účinnost dosažení remise diabetu jako již zmíněná bariatrická chirurgie (28). Problémy se projeví při pokusech vrátit se k „běžné“ dietě, protože vyřazením výrazné dietní restrikce kalorií hmotnost snadno rychle stoupá (obr. 1). V současnosti se VLCD nedoporučuje osobám s normální hmotností. Může být prospěšná před metabolickou chirurgií.

Farmakoterapie obezity

Řada slibných lékových skupin antiobezitik byla během posledních tří desetiletí z léčby vyřazena pro různé vážné nežádoucí účinky. Aktuálně se jeví nejslibněji nově vyvíjené inkretiny – jedná se o peptidy působící jako agonisté GLP-1 receptorů (GLP-1RA) se zesíleným potenciálem redukce hmotnosti. Zatím nejúčinnější a nejnovější tirzepatid má duální účinek na receptory GLP-1 i GIP a dosahuje redukce hmotnosti srovnatelné s účinnými metodami bariatrické chirurgie (29). Nejsou dosud zkušenosti s dlouhodobým vývojem hmotnosti na farmakoterapii tirzepatidem. Užití inkretinů je komplikováno především rizikem závažných gastrointestinálních nežádoucích účinků, které bývají výraznější u účinnějších peptidů.

Inzulinoterapie po primozáchytu

Jsou známy škodlivé účinky hyperglykémie na funkci β buněk, s časem stráveným v hyperglykemii se urychluje zhoršení funkce β buněk a stupňuje se riziko chronických komplikací včetně kardiovaskulárních (7). Proto bývá po primozáchytu DM2t doporučována co nejtěsnější kompenzace, optimálně s maximálním využitím redukce hmotnosti a dalších faktorů životního stylu - k základní farmakoterapii metforminem, která nezvyšuje riziko hypoglykemie (www.diab.cz).

U nově diagnostikovaných pacientů s DM2t s nekontrolovanou hyperglykemií byla pozorována remise diabetu **po 2 až 3 týdnech intenzivní inzulinové terapie** (30). Remise po intenzivní inzulinové terapii může trvat déle než 2 roky: předpokládá se, že inzulinoterapie přispívá k obnovení lepší funkčnosti β -buněk, ale šance na remisi klesá s delším **časovým intervalem mezi diagnózou a intenzivní inzulinovou terapií** (31).

Patofyziologie vzniku a remise diabetu

K manifestaci diabetu 2.typu dochází až při zhruba dvoutřetinovém poklesu funkční kapacity β -buněk. Pokles v celkové funkci β -buněk byl podle původních představ připisován pouze jejich zániku neboli apoptóze související se stresem endoplasmatického retikula (32,33). V patogenezi je významně asociována Hypertriglyceridemie (34,35). Další výzkumy v posledním desetiletí prokázaly, že v důsledku suprese příslušných genů dochází v β -buňkách k dediferenciaci, která je spojena se ztrátou sekreční schopnosti produkovat inzulin (36,37).

Hypotéza diabetu 2. typu jako střevního onemocnění

Po bariatrické operaci se zlepšuje glykemie rychleji, než by odpovídalo již zredukované hmotnosti (38). Tento jev bývá hypoteticky přisuzován dějům souvisejícím s obezitím proximální části tenkého střeva, „the foregut hypothesis“, nebo rychlejšímu dosažení konce tenkého střeva, „the hindgut hypothesis“, a s tím související modulací sekrece inkretinů (39). Inkretinový vliv na sacharidový metabolismus, nazývaný enteroinzulární osa, je studován již přes půl století (40). Na základě účinku inkretinů byly vyvinuty dvě úspěšné skupiny antidiabetik; perorální inhibitory dipeptidylpeptidázy 4 a injekčně podávaní agonisté receptorů GLP-1. Agonisté, resp. modulátory inkretinových receptorů, které mají komplexně příznivý vliv na glykemii i hmotnost, dnes patří k nejslibnějším farmakům pro redukci hmotnosti.

Hypotéza dvojitého cyklu a osobní tukový práh

Pro remisi diabetu je klíčová redukce hmotnosti s redukcí viscerálního tuku (41), která je doprovázena redukcí přebytečného tuku v jaterním parenchymu (steatosa jater) i redukcí tuku i v lipomatózním pankreatu (42). Bylo zjištěno, že 16 % redukce hmotnosti byla doprovázena 30 % redukcí intraabdominálního tuku a 65 % redukcí intrahepatálních triglyceridů (43). Naopak přeplnění jaterních tukových skladovacích kapacit se klinicky projevuje zvýšením triglyceridemie. Podle tzv. hypotézy dvojitého cyklu „twin cycle“, která byla poprvé formulována r. 2008 (44), se vzájemně nepříznivě ovlivňuje kumulace tuku v játrech, vedoucí ke snížení inzulinové rezistence při přeplnění jaterních tukových skladovacích kapacit, a kumulace tuků v pankreatu, která stoupá při přeplnění jaterních kapacit. Následkem stoupající lipomatozy pankreatu dochází k poruchám funkční schopnosti masy β -buněk v situaci, kdy klesá jaterní inzulinová senzitivita (45).

Byl formulován koncept individuálního tukového prahu (46), podle něhož u osob s manifestací DM2t bez výrazně zvýšeného BMI je tento individuální tukový práh překročen již při nižších BMI, a proto mírná redukce hmotnosti v úvodu léčby prospěje remisi a další kompenzaci diabetu.

Dosažitelnost a setrvalost remise diabetu

Na modelech (vycházejících z dat redukce hmotnosti po bariatrické chirurgii) bylo shledáno, že kromě míry redukce hmotnosti jsou pro úspěšnou remisi diabetu klíčové především tyto faktory (47):

- míra zachování funkce β -buněk (C-peptid)
- míra kontroly diabetu (HbA1c)
- závažnost diabetu (počet antidiabetik a zejména užívání inzulínu)
- délka trvání diabetu
- věk: mladší pacienti snáze dosáhnou remise při volbě chirurgických metod

Výsledky populační studie, která uvádí vyšší míru remise na „konvenční léčbě“ v populaci starší 65 let (48) než v celé populaci, což spolu s rizikovostí chirurgických postupů přispělo k tomu, že jsou tyto metody doporučovány především mladším primozáchytům diabetu.

V běžné populaci diabetiků analyzovala šanci na remisi diabetu recentní kohortová populační studie u více než 2 milionů diabetiků ve Velké Británii: přestože k remisi došlo s daleko menší pravděpodobností než po bariatrické chirurgii, faktory ovlivňující remisi byly stejné. Autoři uzavírají doporučením, aby byla při/po primomanifestaci DM2t indikována významná redukce hmotnosti (49).

Osoby v remisi diabetu mají vysoké riziko relapsu do diabetu (vyšší než osoby bez anamnézy diabetu i bez prediabetu. Podle současných názorů je klíčem k setrvalé remisi DM2t redukce hmotnosti a udržení redukované hmotnosti (50) - největším problémem je snadný vzestup hmotnosti zpět (51). Pro úspěšný dlouhodobý výsledek může být podstatná pevná vůle pacienta a podpora okolí (52). Navíc je podle konceptu metabolické paměti („bad metabolic memory“), který znamená kumulaci poškození glykací z období předchozí hyperglykemie v nejrůznějších orgánech, zvýšené riziko manifestací diabetických komplikací i v období úspěšné remise.

Proto je doporučováno **i po dosažení remise diabetu s vysazením farmakoterapie pacienty dlouhodobě sledovat**. Podle některých odborníků je pro toto období doporučován termín „post-diabetes“.

Závěry

Zdá se, že šanci na dlouhodobou remisi diabetu mají především osoby, u nichž je intenzivní kontrola glykemie zahájena **co nejdříve po primomanifestaci**, tj. před rozvojem ireverzibilních změn β -buněk. Z dlouhodobého hlediska je nejdůležitější důsledně pečovat o vhodnou udržitelnou dietu a životosprávu. V úvodu je pro zlepšení funkce β -buněk, zejména u osob bez zvýšení BMI, optimální zařadit krátkodobě intenzivní inzulínovou terapii. Čím vyšší je BMI pacienta, tím důležitější a účinnější je výrazná redukce hmotnosti a dlouhodobé udržení hmotnosti na redukované úrovni. Tento postup má ale vysoké nároky na pevnou vůli pacienta, prospěje spolupráce s jeho okolím. Léčba výrazněji obézních se často se neobejde bez vhodné metody bariatrické chirurgie. V úvodu může být zařazena VLCD. V dalším průběhu léčby DM2t jsou, zejména u obézních pacientů, vhodnější léky přispívající k redukci hmotnosti, tj. inhibitory SGLT2 (Sodium-glucose Cotransporter-2) a inkretinová léčba.

Význam časně kontroly diabetu pro zachování funkce β -buněk a navození remise diabetu může posunout koncept léčby nově diagnostikovaného DM2t směrem k urgentnímu stavu (53).

Podpořeno MZ ČR – RVO (Fakultní Thomayerova nemocnice – FTN, 00064190)

Literatura

1. **American Diabetes Association Professional Practice Committee.** Cardiovascular disease and risk management: standards of medical care in diabetes-2022. *Diabetes Care* 2022; 45(Suppl. 1): S144–S174.
2. **Einarson TR., Acs A., Ludwig C., Panton UH.** Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007–2017. *Cardiovasc Diabetol* 2018; 17(1): 83.
3. **Fishman SL., Sonmez H., Basman C., et al.** The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: a review. *Mol Med* 2018; 24(1): 59.
4. **Aronson D., Rayfield EJ.** How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. *Cardiovasc Diabetol* 2002; 1: 1.
5. **Stratton IM., Adler AI., Neil HA., et al.** Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000; 321(7258): 405-412.
6. **Selvin E., Marinopoulos S., Berkenblit G., et al.** Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2004; 141(6): 421-431.
7. **Riddle MC.** Effects of intensive glucose lowering in the management of patients with type 2 diabetes mellitus in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. *Circulation* 2010; 122(8): 844-846.
8. **ADVANCE Collaborative Group.** Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; 358(24): 2560-2572.
9. **ACCORD Study Group.** Long-term effects of intensive glucose lowering on cardiovascular outcomes. *N Engl J Med* 2011; 364(9): 818-828.
10. **American Diabetes Association 2.** Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes: 2022. *Diabetes Care* 2022; 45(Suppl 1): S17-S38.
11. **U.K. prospective diabetes study group.** Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. *Diabetes* 1995; 44(11): 1249-1258.
12. **Ko JH., Kim TN.** Type 2 Diabetes Remission with Significant Weight Loss: Definition and Evidence-Based Interventions. *J Obes Metab Syndr* 2022; 31(2): 123-133.
13. **Lee J-H., Lee J.** Endoplasmic Reticulum (ER) Stress and Its Role in Pancreatic β -Cell Dysfunction and Senescence in Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci* 2022; 23(9): 4843.
14. **Lorenzo PI., Cobo-Vuilleumier N., Martín-Vázquez E., et al.** Harnessing the Endogenous Plasticity of Pancreatic Islets: A Feasible Regenerative Medicine Therapy for Diabetes? *Int J Mol Sci* 2021; 22(8): 4239.
15. **Taylor R.** Calorie restriction for long-term remission of type 2 diabetes. *Clin Med (Lond)* 2019; 19(1): 37-42.
16. **Buse JB., Caprio S., Cefalu WT., et al.** How do we define cure of diabetes? *Diabetes Care* 2009; 32(11): 2133-2135.
17. **Riddle MC., Cefalu WT., Evans PH., et al.** Consensus report: definition and interpretation of remission in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2021; 44(10): 2438-2444.
18. **Bergenstal RM., Beck RW., Close KL., et al.** Glucose management indicator (GMI): a new term for estimating A1C from continuous glucose monitoring. *Diabetes Care* 2018; 41(11): 2275–2280.
19. **Zhyzhneuskaya SV., Al-Mrabeh A., Peters C., et al.** Time Course of Normalization of Functional β -Cell Capacity in the Diabetes Remission Clinical Trial After Weight Loss in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2020; 43(4): 813-820.

20. **Karter AJ., Nundy A., Parker MM., et al.** Incidence of remission in adults with type 2 diabetes: the diabetes & aging study. *Diabetes Care* 2014; 37(12): 3188-3195.
21. **Franz MJ., VanWormer JJ., Crain AL., et al.** Weight-loss outcomes: a systematic review and meta-analysis of weight-loss clinical trials with a minimum 1-year follow-up. *J Am Diet Assoc* 2007; 107(10): 1755-1767.
22. **Purnell JQ., Dewey EN., Laferrère B., et al.** Diabetes remission status during seven-year follow-up of the longitudinal assessment of bariatric surgery study. *J Clin Endocrinol Metab* 2021; 106(3): 774-788.
23. **Ryan DH., Yockey SR.** Weight loss and improvement in comorbidity: differences at 5 %, 10 %, 15 %, and over. *Curr Obes Rep* 2017; 6(2): 187-194.
24. **Heber D., Greenway FL., Kaplan LM., et al.** Endocrine and nutritional management of the post-bariatric surgery patient: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(11): 4823-4843.
25. **Smith MD., Patterson E., Wahed AS., et al.** Thirty-day mortality after bariatric surgery: independently adjudicated causes of death in the longitudinal assessment of bariatric surgery. *Obes Surg* 2011; 21(11): 1687-1692.
26. **Lupoli R., Lembo E., Saldamacchia G., et al.** Bariatric surgery and long-term nutritional issues. *World J Diabetes* 2017; 8(11): 464-474.
27. **Morgan DJ., Ho KM., Platell C.** Incidence and determinants of mental health service use after bariatric surgery. *JAMA Psychiatry* 2020; 77(1): 60-67.
28. **Lean ME., Leslie WS., Barnes AC., et al.** Primary care-led weight management for remission of type 2 diabetes (DiRECT): an open-label, cluster-randomised trial. *Lancet* 2018; 391(10120): 541-551.
29. **Inagaki N., Takeuchi M., Oura T., et al.** Efficacy and safety of tirzepatide monotherapy compared with dulaglutide in Japanese patients with type 2 diabetes (SURPASS J-mono): a double-blind, multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2022; S2213-8587(22)00188-7. Online ahead of print.
30. **Ryan EA., Imes S., Wallace C.** Short-term intensive insulin therapy in newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(5): 1028-1032.
31. **Kramer CK., Zinman B., Retnakaran R.** Short-term intensive insulin therapy in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2013; 1(1): 28-34.
32. **Butler AE., Janson J., Bonner-Weir S., et al.** Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52(1): 102-110.
33. **Marchetti P., Bugliani M., Lupi R., et al.** The endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells of type 2 diabetes patients. *Diabetologia* 2007; 50(12): 2486-2494.
34. **Shimabukuro M., Zhou YT., Levi M., Unger RH.** Fatty acid-induced beta cell apoptosis: a link between obesity and diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(5): 2498-2502.
35. **Pinnick K., Neville M., Clark A., Fielding B.** Reversibility of metabolic and morphological changes associated with chronic exposure of pancreatic islet beta-cells to fatty acids. *J Cell Biochem* 2010; 109(4): 683-692.
36. **Cinti F., Bouchi R., Kim-Muller JY., et al.** Evidence of β -cell dedifferentiation in human type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101(3): 1044-1054.
37. **Talchai C., Xuan S., Lin HV., et al.** Pancreatic β cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic β cell failure. *Cell* 2012; 150(6): 1223-1234.
38. **Rubino F.** Bariatric surgery: effects on glucose homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9(4): 497-507.

39. **Knop FK.** Resolution of type 2 diabetes following gastric bypass surgery: involvement of gut-derived glucagon and glucagonotropic signalling? *Diabetologia* 2009; 52(11): 2270-2276.
40. **Unger RH., Eisentraut AM.** Entero-insular axis. *Arch Intern Med* 1969; 123(3): 261-266.
41. **Taylor R.** Type 2 diabetes: etiology and reversibility. *Diabetes Care* 2013; 36(4): 1047-1055.
42. **Taylor R., Al-Mrabeh A., Zhyzhneuskaya S., et al.** Remission of human type 2 diabetes requires decrease in liver and pancreas fat content but is dependent upon capacity for β cell recovery. *Cell Metab* 2018; 28(4): 547-556.e3.
43. **Ryan DH.** Energy balance and weight loss for diabetes remission. *Diabetes Spectr* 2020; 33(2): 117-124.
44. **Taylor R.** Pathogenesis of type 2 diabetes: tracing the reverse route from cure to cause. *Diabetologia* 2008; 51(10): 1781–1789.
45. **Taylor R., Al-Mrabeh A., Sattar N.** Understanding the mechanisms of reversal of type 2 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2019; 7(9): 726-736.
46. **Taylor R., Holman RR.** Normal weight individuals who develop type 2 diabetes: the personal fat threshold. *Clin Sci (Lond)* 2015; 128(7): 405-410.
47. **Still CD., Benotti P., Mirshahi T., et al.** DiaRem2: incorporating duration of diabetes to improve prediction of diabetes remission after metabolic surgery. *Surg Obes Relat Dis* 2019; 15(5): 717-724.
48. **Tangelloju S., Little BB., Esterhay RJ., et al.** Type 2 diabetes mellitus (T2DM) “remission” in non-bariatric patients 65 years and older. *Front Public Health* 2019; 7: 82.
49. **Holman N., Wild SH., Khunti K., et al.** Incidence and Characteristics of Remission of Type 2 Diabetes in England: A Cohort Study Using the National Diabetes Audit. *Diabetes Care* 2022; 45(5): 1151-1161.
50. **Lean ME., Leslie WS., Barnes AC., et al.** Durability of a primary care-led weight-management intervention for remission of type 2 diabetes: 2-year results of the DiRECT open-label, cluster-randomised trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2019; 7(5): 344–355.
51. **Sumithran P., Prendergast LA., Delbridge E., et al.** Long-term persistence of hormonal adaptations to weight loss. *N Engl J Med* 2011; 365(17): 1597-1604.
52. **Taylor R., Barnes AC.** Translating aetiological insight into sustainable management of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2018; 61(2): 273-283.
53. **Kim J., Kwon HS.** Not Control but Conquest: Strategies for the Remission of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab J* 2022; 46(2): 165-180.

ÚČAST MASTNÝCH KYSELIN V PATOGENEZI OBEZITY

INVOLVEMENT OF FATTY ACIDS IN THE PATHOGENESIS OF OBESITY

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

4th Department of Internal Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Abstrakt

Obezita jako stav nadměrné akumulace tělesného tuku je asociována s řadou kardiovaskulárních, metabolických a onkologických onemocnění. Se zdravotními riziky souvisí především abdominální obezita, která je vyjádřena obvodem pasu v cm. V rozvoji obezity hrají roli faktory environmentální (např. přejídání), nevhodné složení stravy a faktory genetické. Důležitou součástí stravy, která se podílí na patogenezi obezity, jsou mastné kyseliny. Mastné kyseliny však organismus produkuje i endogenní syntézou. Mastné kyseliny přijaté stravou i syntetizované *de novo* podléhají dalším metabolickým přeměnám, které taktéž patří k pojítkům mezi obezitou a uvedenými komorbiditami. V této práci jsou tedy diskutovány mechanismy působící pozitivně i negativně ve vztahu k patogenezi a komplikacím obezity. Jednotlivé třídy mastných kyselin (nasycené, transnenasycené, monoenoové a polyenoové řady n-3 a n-6) a jejich deriváty se uplatňují v rozvoji metabolických poruch a komplikací obezity především ovlivněním zánětlivých reakcí a exprese adipokinů.

Obesity as a state of excessive accumulation of body fat is associated with a number of cardiovascular, metabolic and oncological diseases. Abdominal obesity, which is expressed by waist circumference in cm, is tightly related to health risks. Environmental factors (e.g. overeating), inappropriate diet composition and genetic factors play a role in the development of obesity. Fatty acids are an important part of the diet, which is involved in the pathogenesis of obesity. However, the body also produces fatty acids through endogenous synthesis. Fatty acids received through the diet and synthesized *de novo* are subject to other metabolic transformations, which also contribute to the association between obesity and the comorbidities. In this work, the mechanisms acting positively and negatively in relation to the pathogenesis and complications of obesity are discussed. Individual classes of fatty acids (saturated, transunsaturated, monoene and polyene FA series n-3 and n-6) and their derivatives are used in the development of metabolic disorders and complications of obesity mainly by affecting inflammatory reactions and the expression of adipokines.

Úvod

Obezita je závažným zdravotním rizikem pro rozvoj a komplikace mnoha chronických onemocnění. Dle WHO je definována jako body mass index (BMI) s hodnotou 30 a vyšší. Z různých důvodů je však pro identifikaci zdravotních rizik vhodnější posouzení nitrobřišní akumulace tuku, tzv. abdominální obezity. Dle Mezinárodní diabetické federace (Alberti et al., 2005) je centrální obezita přítomna u mužů s obvodem pasu nad 94 cm a u žen nad 80 cm. Tato definice byla stanovena pro Evropany a měří se jako obvod pasu uprostřed vzdálenosti mezi horní hranou lopaty kyčelní a posledním žebrem. Během několika dekád se obezita stala celosvětovým problémem a počet obézních jedinců se odhaduje na 650 milionů (Schulz et al., 2021). Mezi komplikace obezity řadíme například kardiovaskulární choroby, arteriální hypertenzi, metabolický syndrom s diabetes mellitus 2. typu a dyslipidemií, onkologická onemocnění, nealkoholová steatózu jater či steatohepatitidy atd.

Obezita je výsledkem pozitivní energetické bilance organismu a dochází k excesivní akumulaci tuku v adipocytech. Mastné kyseliny (fatty acids, FA) hrají důležitou úlohu

v rozvoji samotné obezity i jejích komplikací. Mastné kyseliny jsou obézních ovlivněny nejenom na základě exogenního příjmu v dietě těchto lidí, ale i vlivem změněných metabolických pochodů a regulací v souvislosti s inzulínovou resistencí a zánětlivým stavem. V rozvoji obezity a jejích komplikací hraje důležitou roli i složení potravou přijímaných tuků a ovlivnění střevním mikrobiomem.

Patofyziologie obezity

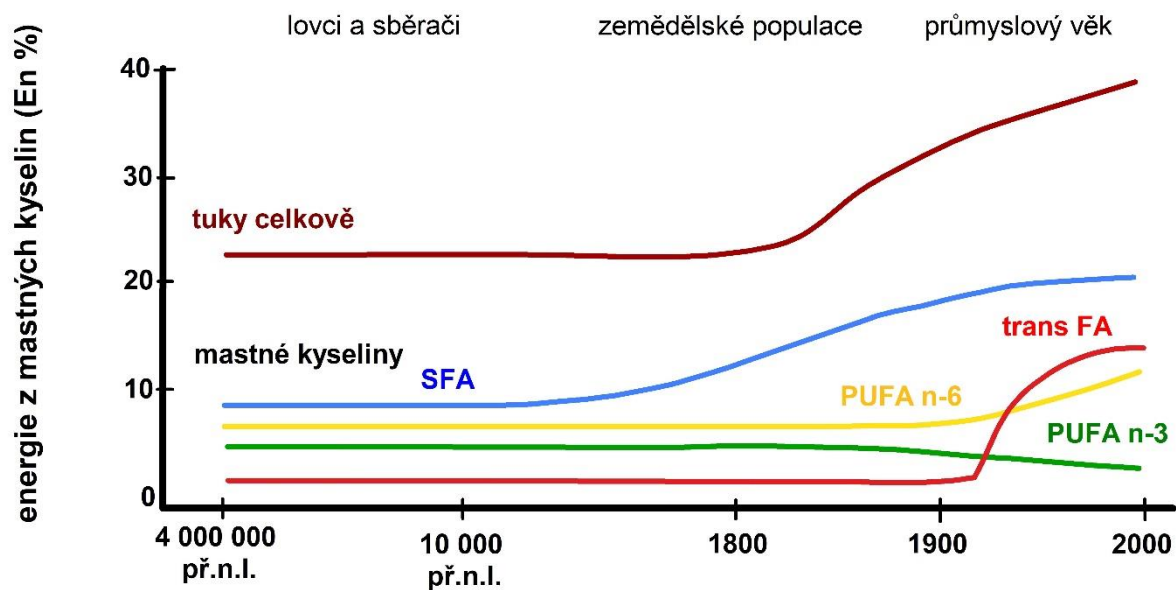
V případě akumulace viscerálního tuku se rozvíjí inzulínorezistence a chronický zánětlivý stav v mnoha tkáních jako jsou tuková tkáň, svaly, játra, ledviny, hypothalamus atd. U obézních pacientů jsou zvýšené markery zánětu (TNF- α , CRP, interleukin-6 atd.) (Zhou et al., 2020). Viscerální obezita vede k ektopickému ukládání lipidů v dalších orgánech (játra, svaly, pankreas) a vzniká jaterní steatóza či lipomatóza pankreatu. Z přesycených adipocytů jsou uvolňovány volné mastné kyseliny (free fatty acids, FFA) pomocí translokázy mastných kyselin (FAT, CD36) a jsou v krevní plazmě navázány a transportovány prostřednictvím fatty acid binding proteinu (FABP) a fatty acid transport proteinu (FATP). Akumulace FA s dlouhými řetězci v netukové tkáni vede ke vzniku lipotoxických molekul jako jsou ceramidy (Unger, 2002), které iniciují stres endoplazmatického retikula a navozují tak 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 PUFA n-3 ve fosfolipidech buněčné membrány mělo protektivní vliv před vznikem a rozvojem obezity, naopak zvýšené množství PUFA n-6, transnenasycených FA a zvýšený poměr PUFA n-6 vůči PUFA n-3 mělo vliv negativní (Wang et al., 2015). V patofyziologii obezity jsou důležité též genetické faktory. Genomové asociační studie prokázaly kolem 90 lokusů, které obsahují genetické variace ovlivňující rozvoj obezity. Mnoho těchto variant se nachází v intronech genů. Nejsilnější vazba na vznik polygenní obezity se ukázala u SNP (single nucleotide polymorphism) v intronu 1 a 2 tzv. FTO genu (fat mass and obesity associated) (Simopoulos, 2016). Tyto polymorfismy ovlivňují energetický metabolismus mitochondrií a intraadipocytární akumulaci triacylglycerolů. Dalšími geny, které silně ovlivňují vznik obezity ve vztahu k lipidům patří IRX3 a IRX5, které stimulují přeměnu adipocytů v nepříznivou bílou tukovou tkáň.

Příjem FA a obezita

Mastné kyseliny v potravě přijímáme ve formě triacylglycerolů a fosfolipidů. Mezi ně patří nasycené (SFA), mononenasycené (MUFA) a vícenenasycené mastné kyseliny (PUFA) řady n-3 a n-6. Množství a složení přijímaných FA se v průběhu historie mění (obr. 1).

Nasycené mastné kyseliny (SFA) s dlouhým řetězcem jsou součástí živočišného tuku (maso, plnotučné mléčné produkty), SFA se středně dlouhým řetězcem (6-10 uhlíkových atomů) jsou součástí rostlinné stravy (kokosový olej) a jsou významným potravním zdrojem pro lidi z Afriky a Asie (Monnard et al., 2021). Zdrojem mononenasycených mastných kyselin (MUFA) jsou rostliny (např. olivový olej) i živočišné produkty (červené maso, mléčné produkty). Zdrojem esenciálních PUFA řady n-6 kyseliny linolové jsou oleje (slunečnicový, kukuřičný) a PUFA řady n-3 kyseliny α -linolenové (ALA) jsou ořechy, semena rostlin (lněné semínko), mořské ryby a oleje z nich. PUFA s dlouhým řetězcem jako jsou kyselina eikosapentaenová (EPA) a dokosahexaenová (DHA) mohou být syntetizovány z α -linolenové kyseliny (ALA) procesy desaturace a elongace. Tato syntéza z ALA je však omezená, protože významné množství je znehodnoceno procesem oxidace (Nettleton, 2019). Kvantitativně vyjádřené množství konvertovaných EPA a DHA z ALA je u žen zhruba 20 % respektive 10 % a u mužů 8 % respektive 4 % (Arterburn et al., 2006).

Obrázek 1



podle Simopoulos 2016

Existují silné důkazy z prospektivních i randomizovaných kontrolovaných studií o příznivém vlivu záměny PUFA za SFA nebo za cukry na kardiovaskulární mortalitu (Briggs et al., 2017). Metaanalýza prospektivních studií adjustovaných na energetický příjem prokázala, že zvýšené množství přijímaných PUFA místo SFA snižuje riziko vzniku onemocnění koronárních tepen (Mozaffarian et al., 2010). Nedávná observační studie Prospective Rural Urban Epidemiology (PURE) zahrnovala zhruba 135 tisíc lidí z 18 zemí světa a prokázala snížení celkové mortality, pokud dojde k nahrazení sacharidů v potravě PUFA (Dehghan et al., 2017).

Volné mastné kyseliny

U obézních pacientů nacházíme zvýšené koncentrace neesterifikovaných (volných) mastných kyselin v krevní plazmě (Arner a Rydén, 2015). Neesterifikované FA (tzv. free fatty acids, FFA) jsou důležitým patofyziologickým pojítkem obezity s diabetem mellitus 2. typu, protože se podílejí na rozvoji inzulínové rezistence a chronického zánětlivého stavu (Boden, 2008). K uvolňování FFA dochází vlivem lipolýzy v adipocytech bílé tukové tkáně. Produkty jsou glycerol a volné mastné kyseliny. Jejichž zvýšená plazmatická hladina je markerem zvýšené lipolýzy u obézních pacientů, která je potencována dále navozenou inzulínovou rezistencí. Plazmatická hladina FFA je vyšší u žen z důvodu vyššího podílu tukové tkáně, nicméně vliv obezity na jejich množství je u obou pohlaví stejný (Arner a Rydén, 2015). Zvýšená koncentrace FFA vede ke snížení inzulínové senzitivity a inhibici produkce a uvolňování inzulínu z beta-buněk pankreatu. FFA navozují inzulínovou rezistenci ve svalových buňkách a hepatocytech. V hepatocytech FFA působí stimulačně na jaterní produkci glukózy tím, že inhibují inzulínem navozenou supresi glykogenolýzy a dlouhodobě zvýšená hladina FFA stimuluje glukoneogenezi (Boden, 2008). Tyto změny podporují rozvoj diabetes mellitus 2. typu (Arner, 2001). U pacientů s mutací genu pro hormon senzitivní lipázy, která vede ke vzniku afunkčního enzymu, dochází ke vzniku inzulínové rezistence, diabetu mellitus 2. typu a ektopickému ukládání tuku (Albert, 2014). Na hladinu FFA mají vliv další aspekty jako jsou velikost a počet adipocytů, jejich endokrinní aktivita atd.

Zvýšené množství FFA vstupující do buňky způsobí prostřednictvím volných kyslíkových radikálů, aktivací Toll-like receptorů 4 či navozením stresu endoplazmatického retikula další molekulární změny. FFA způsobí aktivaci proteinkinázy C a dalších serin/threonin kináz IKK- β a c-Jun NH₂-terminal kinázy (JNK), které vzápětí inhibují fosforylaci tyrozinu insulin receptor substrátu 1 a 2 (IRS 1/2). Tento mechanismus působení FFA inhibuje celou molekulární kaskádu (IRS/PI3 kináza/Akt) intracelulární dráhy zprostředkující účinky inzulinu. FFA inhibují též tvorbu NO (Boden, 2008), což přispívá k proinflamatorním podmínkám. Inflamatorní stav při obezitě je potencován produkcí proinflamatorních cytokinů TNF- α , IL1- β , IL6 a MCP-1, jejichž exprese je stimulována cestou NF κ B a tato cesta je aktivována volnými mastnými kyselinami (Itani et al., 2011).

Nasycené mastné kyseliny

Nasycené mastné kyseliny (saturated fatty acids, SFA), které přijímáme v dietě, mají většinou nepříznivé zdravotní účinky. Již v sedmdesátých letech 20.století byla publikována práce prokazující asociaci SFA s incidencí ischemické choroby srdeční (Seven Countries Study, Ancel Keys, 1970). Novější studie však upozornily na to, že záleží na formě stravy, ve které SFA přijímáme. V literatuře je diskutováno, že například konzumace SFA v mléčných produktech má buď neutrální (Bohl et al., 2015), nebo příznivý vliv na tělesnou váhu a složení tělesné hmoty (Matualatupauw et al., 2017). Nasycené mastné kyseliny hrají důležitou roli v rozvoji obezity a podílí se tedy na rozvoji metabolického syndromu a jeho komplikací přispěním chronického zánětlivého stavu (Calder et al., 2011). Tyto poznatky byly prokázány v mnoha humánních studiích, ve kterých byla popsána spojitost mezi tzv. „západní“ dietou s nadměrným množstvím SFA a metabolickým syndromem, obezitou, jaterní steatózou a diabetem mellitus 2.typu (např. Vaithinen et al., 2017). Patofyziologickým podkladem účinků zvýšeného množství potravou přijímaných SFA je indukce zánětlivé odpovědi v tukové podkožní tkáni. V tukové tkáni dochází k zvýšené expresi proinflamatorních cytokinů (Rocha et al., 2017). Zvýšený přísun SFA do adipocytů způsobuje hromadění nadměrného množství triacylglycerolu (TAG) intracelulárně, což má další konsekvence v podobě zvýšení sekrece cytokinů a adipokinů leptinu, IL-6, TNF- α , IL-1 β atd. Takto spuštěný chronický zánětlivý stav vede k vaskulárnímu poškození a rozvoji ischemické srdeční nemoci (Lundman et al., 2007).

Mononenasyčené mastné kyseliny

Mononenasyčené mastné kyseliny (monounsaturated fatty acids, MUFA) mají na rozdíl od SFA velmi často protektivní metabolické účinky. Ve svém alifatickém řetězci mají přítomnou jednu dvojnou vazbu, která může být v cis- nebo trans- konfiguraci.

Zdrojem MUFA v organismu je především exogenní příjem stravou. Bohatým zdrojem MUFA je tzv. „středomořská dieta“ zahrnující ryby, olivový olej, zeleninu, celozrnné potraviny. Tuky v této dietě představují třetinu kalorického příjmu (z toho MUFA 60 % a SFA 20 %) (Trichopoulou et al., 1993).

Při srovnání s ostatními dietami je ta „středomořská“ asociována s lepším lipidovým i glukózovým profilem a nižším krevním tlakem (např. Tuttolomondo et al., 2019), čili snižuje riziko kardiovaskulárních onemocnění. Zajímavým poznatkem je, že mění složení střevního mikrobiomu ve prospěch bakterií (rody bacteroides, prevotella a faecalibacterium) zlepšujících metabolické zdraví a působících preventivně vůči procesům aterosklerózy a trombózy (Wang a Zhao, 2018).

Zvýšené množství v dietě přijímaných MUFA redukuje množství SFA i PUFA v organismu a je tak zajímavým příkladem nutriční modulace obsahu tuku v těle (Ravaut et al., 2021).

Suplementace stravy olivovým olejem (je přirozeným zdrojem kyseliny olejové) snižuje chronický zánět a mortalitu a koreluje s nízkým výskytem obezity a metabolického syndromu

(Widmer et al., 2015). Z těchto studií a pozorování vyplývá, že MUFA mají inhibiční vliv na rozvoj zánětlivé reakce. Při studiu buněčných kultur monocytů bylo pozorováno, že v přítomnosti MUFA se poměr M1 (proinflamatorních) a M2 (protiinflamatorních) makrofágů mění ve prospěch M2 (Montserrat-de la Paz et al., 2017). Podobné účinky ve prospěch přítomnosti M2 makrofágů zaznamenali autoři při působení MUFA na mozek myši a lze předpokládat, že olivový olej obsahující MUFA by se mohl stát účinným nutraceutikem v léčbě chorob s neuroinflamatorním pozadím (Toscano et al., 2020). Úloha MUFA při patologických dějích je však složitější, protože pozitivní účinky vykazuje především exogenní na MUFA bohatá potrava a nelze tak vyloučit pozitivní vliv dalších součástí těchto diet (např. polynenasycené FA).

V organismu vznikají MUFA i endogenními procesy de novo syntézy FA a desaturace. Desaturaci, čili přeměnu SFA na MUFA, je katalyzována enzymem stearoyl-CoA desaturázou-1 (SCD1). Zvýšená aktivita SCD1 charakterizována vzestupem poměru MUFA/SFA koreluje s vyšší hodnotou CRP a je naopak proinflamatorním faktorem mnoha metabolických chorob včetně chorob ledvin (Mika et al., 2018).

Z intracelulárních mechanismů působení MUFA je známo, že např. kyselina olejová chrání buňky před lipotoxicitou navozenou působením SFA, snižuje stres endoplazmatického retikula, produkci reaktivních kyslíkových derivátů i aktivaci inflamatorních působků (NLRP3, IL-6, MCP-1 and IL-1 β) (Chen et al., 2018). Kyselina olejová je přímým i nepřímým agonistou PPAR α (Patil et al., 2019). Tímto mechanismem inhibuje NF- κ B aktivitu a inflamatorní děje např. v hepatocytech (Kauppinen et al., 2013). Mezi další protektivní intracelulární účinky kyseliny olejové řadíme zvýšení exprese genu pro adiponektin, patrně skrze aktivaci PPAR γ , a tento stimuluje sekreci IL-10 a inhibuje sekreci IL-6 a TNF- α , což in vivo redukuje lokální zánětlivou reakci (Granados et al., 2011). Další MUFA kyselina palmitolejová aktivuje AMPK kinázu, která potlačuje translokaci faktoru NF- κ B. Mononenasycené mastné kyseliny se tedy prostřednictvím mnoha intracelulárních dějů spolupodílí na inhibici zánětlivých dějů.

Vícenenasycené mastné kyseliny

Vícenenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids, PUFA) řady n-3 a n-6 hrají důležitou roli v patogenezi obezity. Výchozími zástupci obou řad PUFA jsou FA s 18 uhlíky. Jedná se o kyselinu linolovou pro řadu n-6 a kyselinu alfa-linolenovou pro řadu n-3. Pro člověka jsou esenciální. Lidské buňky je totiž nedokážou syntetizovat a musí je přijímat exogenní cestou. Následný metabolismus výchozích PUFA, který zahrnuje desaturační a elongační reakce, nemá dostatečnou kapacitu zabezpečit tvorbu PUFA s dlouhým řetězcem (počet uhlíků je 20, 22). Je tedy nezbytné přijímat v potravě i PUFA s dlouhým řetězcem. Ze zdravotního hlediska je žádoucí, aby byl poměr množství potravou přijímaných PUFA n-6/n-3 1:1, protože to bylo takto nastaveno v průběhu lidské evoluce (Simopoulos, 2001). Téměř po celou dobu evoluce našeho druhu jsme v potravě přijímali dostatečné množství n-3 (ryby, ořechy, maso divoce žijících zvířat, rostliny atd.) a poměr PUFA n-6 a n-3 tak byl u paleolitických lidí 0,79. V posledních cca 150 letech se ale skladba potravy dramaticky změnila v neprospěch množství přijímaných PUFA n-3. V tzv. „západní dietě“ euroatlantického regionu je poměr PUFA n-6/n-3 20-15:1 ve prospěch kardiovaskulárně nepříznivě působících zástupců n-6 PUFA (Simopoulos, 2008, 2016). Poměr množství PUFA n-6 a PUFA n-3 v jednotlivých regionech je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1 Poměr obsahu PUFA n-6/PUFA n-3 v různých populacích

Populace	poměr PUFA n-6/PUFA n-3
paleolitické populace	0,79
Řecko před rokem 1960	1,0 - 2,0
Japonsko	4,0
venkov Indie	5,0 – 6,1
města v Indii	38 – 50
Velká Británie a severní Evropa	15,0
USA	16,74

podle (Simopoulos 2016)

Tabulka velmi názorně ukazuje nepříznivý poměr ve prospěch PUFA n-6 v moderní stravě. Jedná se především o „západní typ diety“ vycházející z masa chovaných zvířat a uměle pěstovaných rostlin, která obsahuje nízké množství n-3 PUFA. Tato fakta jsou v literatuře dokumentována již delší dobu (Raper et al., 1992). Ve světle změn v dietě proběhly nutriční studie ukazující, že nepříznivý poměr přijímaných PUFA n-6 a n-3 se může podílet na rozvoji současné epidemie obezity (Birch et al., 2002). Intervenční studie s PUFA n-3 při léčbě obezity měly nejednoznačné výsledky (Hill et al., 2007, Simopoulos, 2015). Za tyto rozporuplné výsledky mohou být zodpovědné různé faktory, mezi které patří nejednotný design těchto studií, nejednotné dávkování PUFA, nebyl brán na zřetel příjem PUFA n-6 a n-3 v běžné stravě studovaných objektů, byla různá délka suplementace PUFA atd. (Simopoulos, 2016). Na studiích s laboratorními zvířaty se ukázalo, že pokud jsou březí samičky myši krmeny tzv. západní dietou s vyšším obsahem PUFA n-6, tak dochází k nárůstu tukové hmoty napříč všemi generacemi narozených mláďat (Massiera et al., 2010). V humánních studiích byl také prokázán negativní vliv na adipozitu potomků při zvýšeném příjmu PUFA n-6 ženami v perinatálním období. U těchto dětí byla prokázána asociace množství kyseliny arachidonové (AA) s BMI ale i nadváhou (Simopoulos, 2016). 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 těmito PUFA n-3 došlo k redukci škodlivého viscerálního tuku a bylo pozorováno zmenšení velikosti adipocytů i pokles jejich počtu. Suplementace PUFA n-3 má vliv i na apetit, protože po jejich podávání se lidé cítili méně hladoví. Některé intervenční studie prokázaly, že při suplementaci PUFA n-3 došlo k redukci tělesné váhy nejen u jedinců s nadváhou a obezitou, ale i u štíhlých jedinců. PUFA mají významný účinek na tukovou tkáň, protože PUFA n-6 a n-3 ovlivňují řadu procesů odehrávajících se v adipocytech jako jsou adipogeneze, zánětlivá odpověď, obsah lipidů či ovlivnění osy mozek-střevo-tuková tkáň (Simopoulos, 2016). Zajímavé je, že je většina z nich vzájemně protichůdných (názorně uvedeno v tabulce 2). Přeměnou arachidonové kyseliny (AA), která patří mezi PUFA n-6, vznikají proinflatorně a protromboticky působící eikosanoidy (prostaglandin PGE2, leukotrien LTB4, thromboxany, hydroxy FA). Přeměnou zástupců PUFA n-3, kyseliny eikosapentaenové (EPA) a dokosahexanové kyseliny (DHA), vznikají naopak kardiovaskulárně protektivně působící eikosanoidy (prostaglandin PGE3 a leukotrien LTB5), jsou však syntetizovány v menším množství. Tento nepoměr hraje pak nepříznivou roli v rozvoji obezity a jejích komplikací (Kromhout et al., 2014). PUFA n-6 totiž kompetují s PUFA n-3 o desaturázy a ačkoliv obě desaturázy mastných kyselin (fatty acid desaturase- FADS1, FADS2) preferují ALA před LA, tak při nadbytečném množství LA je upřednostněna metabolická dráha její přeměny na arachidonovou kyselinu (AA, 20:4 ω 6) na úkor přeměny ALA na eikosapentaenovou (EPA, 20:5 ω 3) a dokosahexaenovou kyselinu (22:6 ω 3). S desaturačními a elongačními enzymy

interferují i trans FA (Simopoulos, 2016) a přispívají tak k nerovnoměrnosti poměru množství PUFA n-6 a n-3.

Na úrovni metabolických cyklů se pozitivní vliv PUFA n-3 uplatňuje stimulací oxidace lipidů, beta-oxidace, a to více u mužů než u žen (Couet et al., 1997, Simopoulos, 2016).

Metabolity kyseliny arachidonové (AA, PUFA n-6) podporují nepříznivou diferenciaci preadipocytů na terminální adipocyty, kdežto zástupci skupiny PUFA n-3 tento proces inhibují. PUFA n-6 zvyšují intraadipocytární obsah triacylglycerolů zvýšením permeability membrány a PUFA n-3 tento obsah snižují stimulací beta-oxidace a inhibicí lipogenních enzymů. Jejich často protichůdné účinky se uplatňují i v rámci aktivace osy mozek-střevotuková tkáň, což v konečném důsledku moduluje diferenciaci preadipocytů a růst tukové tkáně. Negativní vliv AA může být zprostředkován i přímým účinkem na hypothalamus, respektive na sekreci a tkáňovou rezistenci leptinu. Tímto mechanismem mohou PUFA n-6 přispívat ke vzniku leptinové rezistence, obezity a diabetes mellitus 2. typu.

Mezi mechanismy významně ovlivňujících vznik nadváhy a obezity patří i intenzita diferenciacie adipocytů buď v bílou tukovou tkáň nebo hnědou tukovou tkáň. Hnědá tuková tkáň spaluje velká množství energie procesem termogeneze a snižuje množství intracelulárních triacylglycerolů, které naopak bílá tuková tkáň akumuluje. PUFA n-3 mají pozitivní vliv a PUFA n-6 negativní vliv na formování hnědé tukové tkáně. Konkrétně AA přímo inhibuje expresi genu pro mitochondriální uncoupling protein hnědé tukové tkáně (UCP) (Simopoulos, 2016).

Esenciální PUFA n-6 kyselina linolová (LA) má však antiobezitické účinky. Studie prokázaly inverzní vztah mezi koncentrací LA a obezitou. Bylo prokázáno, že při zvýšeném množství LA dochází ke snížení de novo lipogeneze, inzulinové rezistence a zánětu (Li et al., 2018). Bylo také prokázáno snížení BMI, obvodu pasu a hladiny inzulínu či triacylglycerolů. Množství kyseliny linolové korelovalo pozitivně s koncentrací HDL-cholesterolu (Steffen et al., 2008) a má tedy pozitivní vliv na lipidogram.

Pro vznik obezity a jejích komplikací může být zajímavá i role desaturáz a elongáz mastných kyselin. Jejich aktivita je ovlivněna nejen působením samotných FA, ale i genetickými faktory. Při genotypizaci FADS v evropské populaci byly zjištěny dva haplotypy pojmenované A a D. Haplotyp D je v populaci 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 FA s dlouhým řetězcem (Simopoulos, 2016). Tento haplotyp u lidí z africké populace (afroameričané) konzumujících „západní dietu“ s vyšším poměrem PUFA n-6/n-3 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 rostoucím věkem (s vyšším věkem se snižuje), přítomností hypertenze či diabetu a snižuje u těchto skupin schopnost přeměny ALA na protektivní EPA a DHA.

V neposlední řadě poměr PUFA n-6/n-3 ovlivňuje i endokannabinoidový systém. Endokannabinoidy jsou molekuly lipidů, jejichž prekurzorem je arachidonová kyselina, a patří mezi ně 2-arachidonoylglycerol (2-AG) a anandamid (AEA). Endokannabinoidový systém ovlivňuje působením na receptory CB1 and CB2, které se nacházejí 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).

Tabulka 2 Odlišné účinky PUFA n-6/PUFA n-3

	PUFA n-6	PUFA n-3
záněť	↑	↓
antioxidační enzymy - SOD, GPx	↓	↑
oxidační stres	↑	↓
endokanabinoidy – AEA, 2-AG, receptory CB1, CB2	↑	↓
endokanabinoidy – DHEA, EPEA		↑
leptinová rezistence	↑	↓
inzulínová rezistence	↑	↓
velikost adipocytů	↑	↓
chuť k jídlu/dietní příjem	↑	↓
biogeneze mitochondrií		↑
exprese UCP-1	↓	↑
NFκB	↑	↓
PPARα	↓	↑

podle (Simopoulos 2020)

Závěr

Mastné kyseliny jsou důležitou součástí patogeneze obezity a jejích komplikací. Jednotlivé třídy mastných kyselin ovlivňují pozitivně i negativně proinflamatorní i antiinflamatorní děje především prostřednictvím regulace syntézy prostaglandinů, cytokinů, adipokinů atd. Analýza složení mastných kyselin v organismu i ovlivnění jejich přísunu v potravě může přispět k diagnostice a léčbě obezity.

Podpořeno MZ ČR – RVO VFN64165 a Cooperatio 11158207034-2 gastroenterology

Literatura

- Alberti KG., Zimmet PZ., Shaw J.** The metabolic syndrome – a new worldwide definition. *Lancet* 2005; 366(9491): 1059-1062.
- 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.
- Arner P., Rydén M.** Fatty Acids, Obesity and Insulin Resistance. *Obes Facts* 2015; 8(2): 147-155.
- Arterburn LM., Hall EB., Oken H.** Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2006; 83(6 Suppl): 1467s-1476s.
- 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.
- Boden G.** Obesity and free fatty acids. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008; 37(3): 635-646.
- Bohl M., Bjørnshave A., Rasmussen KV., et al.** Dairy proteins, dairy lipids, and postprandial lipemia in persons with abdominal obesity (DairyHealth): A 12-wk, randomized, parallel-controlled, double-blinded, diet intervention study. *Am J Clin Nutr* 2015; 101(4): 870-878.

- Briggs MA., Petersen KS., Kris-Etherton PM.** Saturated fatty acids and cardiovascular disease: replacements for saturated fat to reduce cardiovascular risk. *Healthcare (Basel)* 2017; 5(2): 29.
- 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.
- Dehghan M., Mente A., Zhang X., et al.** Associations of fats and carbohydrate intake with cardiovascular disease and mortality in 18 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *Lancet* 2017; 390(10107): 2050-2062.
- Granados N., Amengual J., Ribot J., et al.** Distinct effects of oleic acid and its trans-isomer elaidic acid on the expression of myokines and adipokines in cell models. *Br J Nutr* 2011; 105(8): 1226-1234.
- 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.
- Chen X., Li L., Liu X., et al.** Oleic acid protects saturated fatty acid mediated lipotoxicity in hepatocytes and rat of non-alcoholic steatohepatitis. *Life Sci* 2018; 203: 291-304.
- Itani SI., Ruderman NB., Schmieler F., Boden G.** Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I κ B- α . *Diabetes* 2002; 51(7): 2005-2011.
- Kauppinen A., Suuronen T., Ojala J., et al.** Antagonistic crosstalk between NF-kappaB and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders. *Cell Signal* 2013; 25(10): 1939-1948.
- Keys A.** Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 1970; 41(4Suppl): 186-195.
- Kromhout D., de Goede J.** Update on cardiometabolic health effects of omega-3 fatty acids. *Curr Opin Lipidol* 2014; 25(1): 85-90.
- Li K., Brennan L., Bloomfield JF., et al.** Adiposity associated plasma linoleic acid is related to demographic, metabolic health and haplotypes of FADS1/2 genes in Irish adults. *Mol Nutr Food Res* 2018; 62(7): e1700785.
- 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.
- 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.
- Matualatupauw J., Bohl M., Gregersen S., et al.** Dietary medium-chain saturated fatty acids induce gene expression of energy metabolism-related pathways in adipose tissue of abdominally obese subjects. *Int J Obes* 2017; 41(9): 1348-1354.
- Mika A., Sikorska-Wisniewska M., Malgorzewicz S., et al.** Potential contribution of monounsaturated fatty acids to cardiovascular risk in chronic kidney disease. *Pol Arch Intern Med* 2018; 128(12): 755-763.
- Monnard CR., Dulloo AG.** Polyunsaturated fatty acids as modulators of fat mass and lean mass in human body composition regulation and cardiometabolic health. *Obes Rev* 2021; 22(Suppl.2): e13197.
- Montserrat-de la Paz S., Rodriguez D., Cardelo MP., et al.** The effects of exogenous fatty acids and niacin on human monocyte-macrophage plasticity. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61(8): 1600824.

- Mozaffarian D., Micha R., Wallace S.** Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS Med* 2010; 7(3): e1000252.
- Nettleton JA.** Omega-3 fatty acids: comparison of plant and seafood sources in human nutrition. *J Am Diet Assoc* 1991; 91(3): 331-337.
- Patil R., Mohanty B., Liu B., et al.** A ligand-induced structural change in fatty acid-binding protein 1 is associated with potentiation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonists. *J Biol Chem* 2019; 294(10): 3720-3734.
- 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* 2021; 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. Karger: Basel Switzerland, 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 Nutrigenomics* 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.
- Simopoulos AP.** Omega-6 and omega-3 fatty acids: Endocannabinoids, genetics and obesity. *OCL* 2020; 27: 7.
- Steffen LM., Vessby B., Jacobs DR. Jr., et al.** Serum phospholipid and cholesteryl ester fatty acids and estimated desaturase activities are related to overweight and cardiovascular risk factors in adolescents. *Int J Obes* 2008; 32(8): 1297-1304.
- Trichopoulou A., Katsouyanni K., Gnardellis C.** The traditional Greek diet. *Eur J Clin Nutr* 1993; 47(Suppl.1): S76-S81.
- Toscano R., Millan-Linares MC., Lemus-Conejo A., et al.** Postprandial triglyceride-rich lipoproteins promote M1/M2 microglia polarization in a fatty-acid-dependent manner. *J Nutr Biochem* 2020; 75: 108248.
- Tuttolomondo A., Simonetta I., Daidone M., et al.** Metabolic and Vascular Effect of the Mediterranean Diet. *Int J Mol Sci* 2019; 20(19): 4716.
- 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* 2016; 55(2): 687-697.

Wang Z., Zhao Y. Gut microbiota derived metabolites in cardiovascular health and disease. *Protein Cell* 2018; 9(5): 416-431.

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.

VÝZNAM TKÁŇOVÉHO A SOLUBILNÍHO ENDOGLINU V ENDOTELOVÉ DYSFUNKCI A ONEMOCNĚNÍ JATER

THE IMPORTANCE OF TISSUE AND SOLUBLE ENDOGLIN IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND LIVER DISEASE

P. Nachtigal

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

Abstract

Endoglin is a kDa transmembrane glycoprotein that was demonstrated to be present in two different forms, namely membrane endoglin (Eng) and soluble endoglin (sEng). ApoE-deficient/LDL receptor-deficient mice were used to simulate endothelial dysfunction. C57BL/6 male mice were fed either high-saturated fat, a high-fructose, high-cholesterol (FFC) diet, or 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine (DDC) to induce liver alterations. sEng levels were increased during the development of endothelial dysfunction and in both NASH and DDC-induced liver alteration. High sEng levels aggravated endothelial dysfunction in the aorta. High sEng levels increased hepatic deposition of cholesterol and triglycerides (TAG) and worsened NASH. On the other hand, cholestasis/fibrosis development resulted in reduced Eng liver expression and increased expression of liver sinusoidal endothelial dysfunction biomarkers. We propose that reduced Eng expression in blood vessels might be related to the development of endothelial dysfunction in both large blood vessels and liver sinusoids. Moreover, we propose that sEng can be considered a biomarker and risk factor for the development of vascular dysfunction and liver alteration, suggesting it might be the potential therapeutic target for pharmacological intervention in these cardiometabolic disorders.

Hyperglycemia and hypercholesterolemia are risk factors for the development of endothelial dysfunction and are hallmarks of the so-called metabolic syndrome. Metabolic syndrome represents a cluster of conditions that co-occur and are considered risk factors for cardiometabolic disorders such as atherosclerosis, ischemic heart disease, or type II diabetes mellitus (1). Endoglin is a glycoprotein that is a co-receptor for members of the transforming growth factor β (TGF- β) superfamily (2). There are two different forms of endoglin: i) full-length membrane-bound endoglin (Eng), and ii) soluble endoglin (sEng). The membrane form is expressed predominantly in endothelial cells (3) but also in vascular smooth muscle cells (4), fibroblasts (5), hepatic stellate cells (6), and activated monocytes and macrophages (7). sEng is the cleavage product of the extracellular domain of Eng upon the enzymatic activity of matrix metalloproteinases (MMP-14 and MMP-12) (8, 9). It is released into the circulation in various pathological conditions, such as arterial hypertension, type II diabetes mellitus (10), nonalcoholic steatohepatitis (11), familial hypercholesterolemia (12), and preeclampsia (13).

We performed several *in vivo* experiments where we studied membrane endoglin's expression and soluble endoglin's changes in cardiometabolic disorders.

Two-month-old hypercholesterolemic ApoE/LDLR-deficient (ApoE/LDLR^{-/-}) female mice and wild-type C57BL/6J mice were fed a chow diet. Plasma samples were tested for biochemical profile and Luminex analysis. Vascular reactivity was measured by wire myograph, and expressions of NO-related markers were assessed by Western blot. Three-months-old transgenic male mice overexpressing human sEng and their wild-type littermates

were fed for 6 months either with a NASH diet (high-fat diet enriched with cholesterol and fructose) or a chow diet and underwent *in vivo* study. The liver damage was induced in three-month-old C57BL/6 female mice by the DDC diet (3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine diet inducing cholestasis) while control animals were received a standard chow diet, following by sacrificing the mice after four weeks with subsequent blood collection and molecular analysis of liver samples.

ApoE/LDLR^{-/-} mice demonstrated hypercholesterolemia accompanied by significantly increased levels of sEng, pro-inflammatory P-selectin, and a disruption of NO metabolism. Functional data indicated that ApoE/LDLR^{-/-} mice have reduced relaxation capability of smooth muscle cells and activated compensatory mechanism generating NO from eNOS-independent pathway sources. Western blot analysis showed significantly reduced expression of membrane Eng, eNOS, and its active form p-eNOS as well as phosphorylated Smad2/3 in ApoE/LDLR^{-/-} mice. NASH diet significantly induced obesity and hepatomegaly in both experimental groups. Analysis of liver tissue confirmed NASH with steatosis and fibrosis. NASH-diet significantly increased circulating mouse sEng levels due to increased hepatic expression of Eng and increased MMP14 levels. High levels of human sEng resulted in the increased hepatic deposition of cholesterol via its reduced conversion into BA and redirected the metabolism of TAG to its accumulation in the liver via reduced TAG elimination by β -oxidation combined with reduced hepatic efflux. Significant increase in the level of ALT, ALP, AST, total bilirubin and α -SMA, and CRIP2 expression confirmed the liver impairment and fibrosis in the DDC mice showing the development of cholestasis in these mice. DDC diet significantly increased sEng levels and MMP-14 expression, however there was a significant reduction in the expression of Eng in the liver.

In conclusion, we propose that reduced Eng expression in blood vessels might be related to the development of endothelial dysfunction in both large blood vessels and liver sinusoids. Moreover, we propose that sEng can be considered a biomarker and risk factor for the development of vascular dysfunction and liver alteration, including NASH and cholestasis, suggesting it might be the potential therapeutic target for pharmacological intervention in these cardiometabolic disorders.

References

1. **Vicen M., Igreja Sá IC., Tripská 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.
2. **Alt A., Miguel-Romero L., Donderis J., et al.** Structural and functional insights into endoglin ligand recognition and binding. *PloS one* 2012; 7(2): e29948.
3. **Lopez-Novoa JM., Bernabeu C.** The physiological role of endoglin in the cardiovascular system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299(4): H959-H974.
4. **Bot PTG., Hoefler IE., Sluijter JPG., et al.** Increased Expression of the Transforming Growth Factor- β 2; Signaling Pathway, Endoglin, and Early Growth Response-1 in Stable Plaques. *Stroke* 2009; 40(2): 439-447.
5. **St-Jacques S., Forte M., Lye S. J., 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.
6. **Meurer S., Wimmer AE., van de Leur E., Weiskirchen R.** Endoglin Trafficking/Exosomal Targeting in Liver Cells Depends on N-Glycosylation. *Cells* 2019; 8(9): 997.

7. **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.
8. **Aristorena M., Gallardo-Vara E., Vicen M., et al.** MMP-12, Secreted by Pro-Inflammatory Macrophages, Targets Endoglin in Human Macrophages and Endothelial Cells. *Int J Mol Sci* 2019; 20(12): 3107.
9. **Hawinkels LJ., Kuiper P., Wiercinska E., et al.** Matrix metalloproteinase-14 (MT1-MMP)-mediated endoglin shedding inhibits tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2010; 70(10): 4141-4150.
10. **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.
11. **Igreja Sá IC., Tripska K., Hroch M., et al.** Soluble Endoglin as a Potential Biomarker of Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) Development, Participating in Aggravation of NASH-Related Changes in Mouse Liver. *Int J Mol Sci* 2020; 21(23): 9021.
12. **Blaha M., Cermanova M., Blaha V., et al.** Elevated serum soluble endoglin (sCD105) decreased during extracorporeal elimination therapy for familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2008; 197(1): 264-270.
13. **Leanos-Miranda A., Navarro-Romero CS., Sillas-Pardo LJ., et al.** Soluble Endoglin As a Marker for Preeclampsia, Its Severity, and the Occurrence of Adverse Outcomes. *Hypertension* 2019; 74(4): 991-997.

SENZORICKY VÝZNAMNÉ LÁTKY EXOTICKÝCH DRUHŮ KOŘENÍ**SENSORY RELEVANT SUBSTANCES OF EXOTIC SPECIES****J. Pánek, D. Chrpová *, M. Růžičková ****

*Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha; * Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU Praha, ** IV. interní klinika I. LF UK, Praha*

Kořením rozumíme části rostlin jako kořeny (křen aj.), oddenky (zázvor, kurkuma aj.), kůru (skořice aj.), listy (bobkový list, majoránka, estragon aj.), nat' (petrželová, celerová, tymián aj.), květy (šafrán, hřebíček, kapary aj.), plody, semena nebo jejich části (anýz, fenykl, kmín, nové koření, mletá paprika, pepř, vanilka aj.), v nezbytné míře technologicky zpracované a užívané k ovlivňování chuti a vůně potravin.

Koření nemá prakticky žádnou výživovou hodnotu a jeho význam ve výživě spočívá v povzbuzování čichových (olfaktorické vjemy) a chuťových (gustativní vjemy) smyslů, ve zvyšování chuti k jídlu, podporování vylučování trávicích šťáv a tím k lepšímu využívání potravy. Olfaktorické a gustativní vjemy jsou vyvolány působením aromatických látek s významnou senzorickou aktivitou. Mezi tyto látky patří např. terpenoidní sloučeniny (kyslíkaté a bezkyslíkaté), včetně fenolových terpenů, alifatické a aromatické alkoholy, karbonylové deriváty, karboxylové kyseliny, sirmé sloučeniny a další látky. Přidanou hodnotou u řady koření je přítomnost dalších významných biologicky aktivních látek, např. antioxidantů.

Dvacáté a 21. století jsou charakterizovány mimo jiné velkým rozmachem celosvětového obchodu, velmi se rozvíjejícím cestovním ruchem a u řady lidí i zvýšenou chutí experimentovat a to i v oblasti přípravy pokrmů. Díky tomu se rozvíjí používání různých druhů exotických koření, které mohou velmi výrazně obohatit dosud známé olfaktorické a gustativní vjemy. Je zajímavé, že řadu druhů exotických koření (např. badyán, citronová tráva, curry, různé byliny a další) znali a používali již naši předkové (kupovali je ve formě tzv. koloniálních potravin). Řada z těchto koření je dokonce popisována i ve středověkých herbářích (např. Matthioliho herbář z roku 1562). Ve 20. století ale společnost (z ekonomických a politických důvodů) na řadu z těchto koření zapoměla a v současné době se je učí znovu používat.

Řada druhů koření je ale pro většinu populace prakticky neznámých, a některé z nich obsahují velmi zajímavé aromatické látky. Patří sem např. sumac, galangal, asafoetida, wasabi aj. Je ale třeba poznamenat, že některé z nich (např. asafoetida) s velkou pravděpodobností nebudou vyhovovat našim olfaktorickým preferencím.

Literatura

Peter KV. Handbook of herbs and spices. 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing 2012.

LIPIDY V KLINICKÉ VÝŽIVĚ**LIPIDS IN CLINICAL NUTRITION****M. Růžicková, E. Tvrzická, J. Macášek, J. Pánek***

4th Department of Medicine First Faculty of Medicine Charles University and General University Hospital in Prague

** Department of Food Analysis and Nutrition, UCT Prague*

Lipids belong to the primary metabolites of plants and animals and have significant biological activity. Quantitatively, the most important part of natural lipids are triacylglycerols, while partial glycerol esters are represented in the minority. Significant biological activity is also shown by phospholipids (as the most important component of heterolipids), but also by complex lipids (lipoproteins, etc.).

As a source of lipids for parenteral and enteral nutrition, refined natural oils are always used, usually in combination with MCT fat in the form of lipid emulsions. Free fatty acids cannot be used because of the extreme oxidizability of polyenoic acids and, in the case of sipping, also because of their inappropriate sensory perception.

It is widely known that the usability of fatty acids depends on their position in the triacylglycerol chain due to the specificity of digestive enzymes. However, currently, an ideal balance between the declared content of fatty acids in a product for clinical nutrition and their absorbability in the body cannot be achieved. Therefore, in the future, the preparation of triacylglycerols with a precisely given composition and configuration of fatty acids is expected, which represents another challenge for scientists as well as manufacturers of parenteral and enteral nutrition.

POTENCIÁLNE MOLEKULÁRNE BIOMARKERY RAKOVINY PRSNÍKA A SPÔSOBY ICH ANALÝZY

POTENTIAL MOLECULAR BIOMARKERS OF BREAST CANCER AND METHODS OF THEIR ANALYSIS

Szaboová, D.¹, Beňačka, R.¹, Guľašová, Z.², Hertelyová, Z.², Radoňák, J.³

¹ Department of pathophysiology, Faculty of medicine, UPJŠ, Košice

² Center of Clinical and Preclinical Research MEDIPARK, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice

³ 1st Department of Surgery, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice

Abstract

Breast cancer is the most frequently diagnosed type of cancer in women worldwide. It is a serious heterogeneous disease, in which genetic variability results in a different tumour behavior - different aggressiveness, invasiveness, or resistance to specific types of treatment. Currently, the classical histological analysis of tumours is complemented by monitoring of the molecular biomarkers not only to specify the nature of the tumor but also to ensure the greatest effectiveness of therapy and early identification of disease recurrence. A tumor present in the body leaves behind a trace in the form of various biomolecules that can be observed in body fluids - blood, urine, saliva, and tears. Monitoring changes in the representation of molecular biomarkers can make the fight against the tumour more effective, as changes can indicate different states of the tumor. Currently, candidate biomarkers are being monitored, but it is still necessary to confirm their usability in practice. Among the most promising are dysregulated microRNAs, fragments of tumor genomic DNA (circulating DNA), combined analysis of several serum proteins, apolipoprotein C-I, free circulating tumor cells, and many others.

Úvod

Rakovina prsníka predstavuje závažné heterogénne ochorenie, charakteristické nekontrolovateľným rastom duktálnych alebo lobulárnych buniek, spôsobené viacerými mutáciami v konkrétnych oblastiach DNA [1]. Rakovina prsníka sa v roku 2020 umiestnila ako najdiagnostikovanejší typ rakoviny u žien, s odhadovanou incidenciou 2,3 milióna (11,7 % zo všetkých prípadov diagnózy rakoviny). Mortalita rakoviny prsníka u žien za rok 2020 presiahla hranicu 600 tisíc (6,9 % zo všetkých úmrtí na rakovinu) [2].

Vysoká genetická variabilita nádorov má za následok širokú škálu správania sa nádorov – rôzna agresivnosť, invazivnosť a rezistencia na liečbu a preto je potrebné klasifikovať a zatriediť každý potvrdený nádor pre určenie najvhodnejšej liečebnej stratégie [3].

Prítomnosť nádoru v prsníku sa často prejavuje abnormálnymi nahmatateľnými hrčkami, začervenaním, zmenami bradavky, asymetrickým vzhľadom postihnutého prsníka alebo zväčšením lymfatických uzlín. Tieto zmeny je potrebné podrobiť odbornej prehliadke lekárom [4]. Mamografia a magnetická rezonancia predstavujú neinvazívne diagnostické metódy, vďaka ktorým je možné odlíšiť cysty, abces alebo fibroadenómy od zhubných nádorov [5,6]. Biopsiou sa získavajú vzorky tkaniva nádoru, ktoré je možné podrobiť histologickej analýze na potvrdenie malignity, určenie patomorfologických vlastností a histopatologického fenotypu Okrem vzoriek samotného nádoru, chirurgicky sa odoberajú aj vzorky blízkych lymfatických uzlín pre potvrdenie, respektíve vyvrátenie metastáz. Histologická analýza je v súčasnosti dopĺňaná analýzou špecifických produktov nádorových buniek alebo markerov na bližšie určenie charakteru nádoru [7].

Potencionálne molekulárne biomarkery

Nádor prítomný v tele zanecháva stopu vo forme rôznych biomolekúl, ktoré je možné sledovať. Molekulárne metodiky sledujúce biomarkery slúžia na doplnenie a upresnenie etiologického a histologického obrazu nádoru, získaného tradičnou histologickou analýzou. Molekuly biomarkerov sa získavajú z krvi, čo predstavuje invazívne získavanie telovej tekutiny a z neinvazívne získavaných telových tekutín ako sú moč, sliny, slzy [8].

Rôzne zastúpenie, či abnormálna prítomnosť týchto biomolekúl sa môže meniť v závislosti od štádia rakoviny prsníka kvôli akumulácii nových mutácií. Takéto zmeny môžu napovedať o celkovom charaktere nádoru, respektíve o efektívnosti liečby, prípadnému relapsu ochorenia. Rakovina prsníka je nesmierne heterogénne ochorenie, nielen inter-tumorovo medzi individuálnymi pacientami navzájom, ale aj intra-tumorovo u jedného konkrétneho pacienta. Sledovanie zmien zastúpenia molekulárnych biomarkerov počas liečby pomáha zefektívniť boj s nádorom. Medzi nádorové biomarkery môžeme zaradiť veľké množstvo rôznych typov molekúl – metabolity, voľne cirkulujúce makromolekuly (RNA, DNA, proteíny), nádorové antigény, nádorové bunky a iné [9].

RNA

miRNA sú krátke lineárne nekódujúce jednovláknové molekuly RNA (19 až 24 nt) a v kontexte rakoviny sa študujú kvôli ich zapojeniu do regulácie proliferácie, diferenciácie, migrácie a apoptózy. Množstvo miRNA sa líši v zdravých a malígnych bunkách, preto rôzne typy nádorov môžu byť charakterizované zmeneným zastúpením miRNA. Dysregulácia špecifických onko-miRNA je spájaná s rakovinou prsníka a rezistenciou nádorov na konkrétne liečivá - miR-10b, miR-125b, miR145, miR-21, miR-155, mir-30, let-7, miR - 25-3p [10,11,12]. miR-130a, miR-90b, miR200b a miR-452 regulujú bunkové dráhy súvisiace určitých liečiv a tým umožňujú chemorezistenciu nádoru. miR-221 a miR-222 sú špecificky spojené s chemorezistenciou na fulvestrant, doxorubicín alebo trastuzumab a miR-320a s chemorezistenciou na paklitaxel [13]. Detekcia miRNA je pomerne problematická, keďže ich obsah v telesných tekutinách nie je dostatočne veľký na detekciu, ale pomocou RT-qPCR je možné zistiť množstvo expresie vybraných RNA molekúl vo vzorke v reálnom čase [14].

DNA

Fragmenty nádorovej genómovej DNA, tiež nazývané cirkulujúce nádorové molekuly DNA (ctDNA), obsahujú rovnaké charakteristické génové mutácie ako primárny nádor, preto má ctDNA v periférnej krvi potenciál stať sa biomarkerom prognózy rakoviny prsníka a možno ju použiť na identifikáciu prítomnosti nádoru vo včasnom štádiu [15,16]. Množstvo ctDNA v periférnej krvi je relatívne malé, preto sú kvalitatívne a kvantitatívne metódy detekcie ctDNA založené na sekvenovaní novej generácie (NGS) a RT-qPCR. Zvýšené hladiny ctDNA boli spojené s pokročilým štádiom rakoviny prsníka a metastázami, ako sa ukázalo v dlhodobej štúdiu 21 pacientov. Miera percenta ctDNA vo vzorkách, index molekulárnej nádorovej záťaže (mTBI), bola pozitívne spojená s veľkosťou nádoru a progresiou ochorenia [17].

Proteíny

Sledovanie kombinácií viacerých sérových proteínov sa preukázalo užitočnejšie ako ich individuálna analýza. Kombinovaná analýza štyroch sérových proteínov CEA, CA125, CA15-3 a TAP (transportér spojený so spracovaním antigénu) preukázala vysokú citlivosť a môže byť potenciálne použitá ako pomocný test pri včasnom skríningu. Analýza RAD50, PARD3, SPP1, NY-BR-62 a NY-CO-58 by mohla pomôcť odlíšiť pacientov s rakovinou prsníka od zdravých indivíduí. Nádory s mutáciou BRCA1 možno odlíšiť od nádorov so sporadickými mutáciami karcinómu prsníka a pacientov bez karcinómu s mutáciou BRCA1 analýzou peptidov KNG1K438-R457 a C3fS1304-R1320 [18]. Novým a sľubným proteínovým

biomarkerom je taktiež sérový apolipoproteín C-I (apoC-I), prostredníctvom ktorého možno rozlíšiť triple-negative nádory, keďže expresia apoC-I mRNA a proteínov je v týchto nádoroch upregulovaná [19]. Proteínové biomarkery, ako sú hormonálne receptory, bazálne cytokeratíny a iné sérové markery, možno monitorovať pomocou enzýmového imunosorbentného testu (ELISA), hmotnostnej spektrometrie a imunohistochemie, aby sa porovnali fyziologické a patologické stavy [14].

CTC

CTC (cancer tumour cells) sú zriedkavé rakovinové bunky (jedna nádorová bunka na miliardu normálnych krviniek), ktoré možno zistiť v periférnej krvi [20]. Do krvného obehu sa dostávajú aktívnou intravazáciou alebo pasívnym vylučovaním z nádorov a ich prítomnosť v počiatocnom štádiu zvyšuje riziko recidívy nádoru. CTC možno detegovať a analyzovať imunomagnetickou separáciou a imunofluorescenčnými/enzýmovo spojenými imunosorbentnými testami (na základe ich fyzikálnych vlastností) a RT-PCR. CellSearch® (Janssen Diagnostics) je poloautomatický test na báze protilátok založený na imunofluorescencii a prietokovej cytometrii. Analýza CTC pomocou. Počas analýzy sú CTC obohatené o protilátky EpCAM (epiteliálna bunková adhézna molekula). CTC sú identifikované vďaka pozitívite pre cytokeratíny, pozitívnym jadrovým farbením a negatívnou pre CD45. Ďalším sľubným testom je The AdnaTest® (AdnaGen). AdnaTest® je test založený na RT-PCR a CTC deteguje prostredníctvom GA733-2, MUC1 a HER2 a iných mRNA markerov špecifických pre rakovinu. Počas analýzy sú CTC imunomagneticky obohatené protilátkami MUC1 a EpCAM [16]. Pre ich zriedkavý charakter, nízku citlivosť a reprodukovateľnosť sa CTC neodporúčajú len na diagnostiku karcinómu prsníka, ale môžu pomôcť odlíšiť pacientky so zhubným karcinómom prsníka od pacientiek s benígnymi nádormi [14].

Záver

V súčasnosti je cieľom hľadanie nových molekúl, ktoré môžu slúžiť ako dôveryhodné post diagnostické, terapeutické a udržiavacie biomarkery nádorových ochorení. Vhodný molekulárny biomarker by mal byť stabilný, dostatočne špecifický, ľahko detekovateľný a jeho použitie by malo byť univerzálne použiteľné pre všetkých pacientov. Potencionálnych biomarkerov je veľa, avšak pre mnohé z nich je nutné potvrdiť ich využiteľnosť v praxi.

Táto práca vznikla vďaka podpore projektu VEGA č. 1/0622/20

Literatúra

1. **Patel B.** A review of breast cancer and hormonal therapy. *Int J Pharm Sci Res* 2019; 10(2): 519-27.
2. **Sung H., Ferlay J., Siegel RL., et al.** Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71(3): 209-249.
3. **van 't Veer LJ., Dai H., van de Vijver M.J., et al.** Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415(6871): 530-536.
4. **Coleman C.** Early Detection and Screening for Breast Cancer. *Semin Oncol Nurs* 2017; 33(2): 141-155.
5. **Gøtzsche PC., Jørgensen KJ.** Screening for breast cancer with mammography. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 2013(6): CD001877.
6. **Morrow M., Waters J., Morris E.** MRI for breast cancer screening, diagnosis, and treatment. *Lancet* 2011; 378(9805): 1804-1811.

7. **Pesapane F., Suter MB., Rotili A., et al.** Will traditional biopsy be substituted by radiomics and liquid biopsy for breast cancer diagnosis and characterisation? *Med Oncol* 2020; 37(4): 29.
8. **Najjar S., Allison KH.** Updates on breast biomarkers. *Virchows Arch* 2022; 480(1): 163-176.
9. **Litton JK., Burstein HJ., Turner NC.** Molecular Testing in Breast Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2019; 39: e1-e7.
10. **Zhao T., Meng W., Chin Y., et al.** Identification of miR-25-3p as a tumor biomarker: Regulation of cellular functions via TOB1 in breast cancer. *Mol Med Rep* 2021; 23(6): 406.
11. **Mitchell PS., Parkin RK., Kroh EM., et al.** Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(30): 10513-10518.
12. **Iorio MV., Ferracin M., Liu CG., et al.** MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65(16): 7065-7070.
13. **Jayaraj R., Nayagam GN., Kar A., et al.** Clinical Theragnostic Relationship between Drug-Resistance Specific miRNA Expressions, Chemotherapeutic Resistance, and Sensitivity in Breast Cancer: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Cells* 2019; 8(10): 1250.
14. **He Z., Chen Z., Tan M., et al.** A review on methods for diagnosis of breast cancer cells and tissues. *Cell Prolif* 2020; 53(7): e12822.
15. **Mao XH., Ye Q., Zhang GB., et al.** Identification of differentially methylated genes as diagnostic and prognostic biomarkers of breast cancer. *World J Surg Oncol* 2021; 19(1): 29.
16. **Li J., Guan X., Fan Z., et al.** Non-Invasive Biomarkers for Early Detection of Breast Cancer. *Cancers (Basel)* 2020; 12(10): 2767.
17. **Ma F., Guan Y., Yi Z., et al.** Assessing tumor heterogeneity using ctDNA to predict and monitor therapeutic response in metastatic breast cancer. *Int J Cancer* 2020; 146(5): 1359-1368.
18. **Wu HJ., Chu PY.** Recent Discoveries of Macromolecule- and Cell-Based Biomarkers and Therapeutic Implications in Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2021; 22(2): 636.
19. **Afzal S., Hassan M., Ullah S., et al.** Breast Cancer; Discovery of Novel Diagnostic Biomarkers, Drug Resistance, and Therapeutic Implications. *Front Mol Biosci* 2022; 9: 783450.
20. **Tarighati E., Keivan H., Mahani H.** A review of prognostic and predictive biomarkers in breast cancer. *Clin Exp Med* 2022; Online ahead of print.

PANDEMIE NAFLD – NOVINKY V DIAGNOSTICE A LÉČBĚ**PANDEMY OF NAFLD – NEWS IN DIAGNOSIS AND TREATMENT****V. Šmíd**

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

Abstrakt

Nealkoholové ztukovatění jater (NAFLD) je spektrum potenciálně progresivních onemocnění, které zahrnuje prostou steatózu, nealkoholovou steatohepatitidu (tzv. NASH), různý stupeň fibrózy a cirhózu. NAFLD představuje nejčastější chronické onemocnění jater současnosti s prevalencí v dospělé populaci kolem 25 %. Je považováno za jaterní manifestaci metabolického syndromu a nepochybně souvisí s epidemiemi diabetes mellitus 2. typu a obezity. Celosvětově se NAFLD stává jednou z nejčastějších příčin jaterní cirhózy a též stále častější indikací k jaterní transplantaci. Nalezení neinvazivních nástrojů s dobrou diagnostickou přesností pro screening a účinnou léčbu NAFLD zůstávají jedněmi z hlavních výzev hepatologického výzkumu pro 21. století.

Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a spectrum of potentially progressive liver disease that comprises of simple steatosis, non-alcoholic steatohepatitis, variable degree of fibrosis, and cirrhosis. NAFLD is closely associated with type 2 diabetes and abdominal obesity and is recognized as the hepatic manifestation of the metabolic syndrome. NAFLD has emerged a leading cause of chronic liver diseases worldwide, as its incidence in adult population (~ 25%) parallels the epidemics of type 2 diabetes, obesity and is becoming one of the most frequent causes of cirrhosis and liver transplantation worldwide. Finding a non-invasive tool with good diagnostic accuracy for screening and an effective treatment of NAFLD remain one of main challenges in hepatological research for the 21st century, since there is no such a treatment yet.

Jaterní choroby představují významnou zdravotní i socioekonomickou zátěž a mortalita na jaterní onemocnění trvale stoupá. Nealkoholové ztukovatění jater – NAFLD (z angl. non-alcoholic fatty liver disease) dnes představuje celosvětově nejčastější chronickou jaterní chorobu, kterou trpí více než 20 % dospělé populace. Existují odhady hovořící dokonce o více než 30 % a někteří autoři proto současnou situaci označují jako o pandemii NAFLD, která ve vyspělých zemích probíhá paralelně s pandemií obezity a diabetu 2. typu. NAFLD se tak stává celosvětově jednou z nejčastějších příčin cirhózy a indikací k transplantaci jater. Tito pacienti mají navíc zvýšené riziko vzniku kardiovaskulárních a onkologických onemocnění.

NAFLD začíná jako prostá steatóza. Ta byla dlouhé roky považována za benigní stav, zatímco progresse do fibrózy a pokročilého onemocnění jater souvisí s rozvojem zánětlivého stavu jaterního parenchymu, tzv. NASH (nealkoholové steatohepatitidy). NASH se rozvine přibližně u 20–30 % pacientů s prostou steatózou a následná progresse do fibrózy byla popsána u 40 - 50 % pacientů s NASH. Je zásadní identifikovat ty pacienty s NAFLD, kteří jsou v riziku progresse onemocnění, aby bylo možné zahájit včasnou terapii.

V posledních letech zaznamenáváme překotný vývoj ultrazvukových vyšetřovacích metod, který podporuje trend zavádění minimálně či zcela neinvazivních vyšetřovacích metod v diagnostice interních chorob. Vzhledem k počtu pacientů s NAFLD je kladen velký důraz na rozvoj těchto metod i v oblasti hepatologie, konkrétně v diagnostice jaterní steatózy

a fibrózy umožňující screening tohoto onemocnění i pravidelné sledování a monitoraci vývoje onemocnění v čase. Hlavní metodou v této oblasti je měření tuhosti jaterní tkáně pomocí elastografie umožňující staging jaterní fibrózy, neinvazivní kvantifikaci jaterní steatózy a v poslední době také hodnocení nekroinflatorních 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.

Léčba pacientů s NAFLD vyžaduje těsnou spolupráci mezi lékaři mnoha dalších odborností. V současné době totiž nemáme k dispozici kauzální farmakologickou terapii NAFLD a její nalezení je jedním z hlavních výzkumných úkolů hepatologie v 21. století. Léčba NAFLD by měla vždy zahrnovat režimová opatření vedoucí k redukci tělesné hmotnosti, která jsou ve své podstatě velmi efektivní. V klinické praxi však s jejich pomocí stanovených cílů dosáhne pouze zlomek pacientů. V současnosti se terapie NAFLD opírá o screening a léčbu komponent metabolického syndromu, potřeba je rovněž minimalizovat příjem alkoholu. K nejslibnějším preparátům v právě probíhajících klinických studiích patří semaglutid (GLP-1 agonista) a lanifibranor (PPAR $\alpha+\delta+\gamma$ agonista), u nichž v brzké době očekáváme výsledky fáze 3 klinických testů.

VITAMÍN D U ČESKÝCH ADOLESCENTŮ**VITAMIN D IN CZECH ADOLESCENTS**

R. Taxová Braunerová, M. Vaňková, H. Zamrazilová, I. Aldhoon Hainerová, V. Hainer, M. Kunešová

Institute of Endocrinology, Prague

Abstract**Introduction**

Vitamin D has long been known for its role in calcium phosphate metabolism but its effects are much more extensive. It includes e.g. support of immune function and neuronal development, and its deficiency seems to be associated with a higher risk of cardiovascular disease as well as of different types of oncologic diseases.

Material and Methods

393 adolescents (age 13-17 years) were included in the study, which was a part of COPAT project (Czech Childhood Obesity Prevalence And Treatment). The project is aimed on monitoring of obesity and metabolic syndrome risk factors. We evaluated 25-HydroxyvitaminD (25(OH)D), 1,25-DihydroxyvitaminD (1,25(OH)D) and Parathyroid hormone (PTH) in relation to body composition and cardiometabolic risk factors.

Results

25(OH)D level < 70 nmol/l was found in 83% normal weight adolescents and 75 % adolescents with obesity or overweight. 1,25(OH)D level was in normal range (43-168 pmol/l) in the whole cohort whereas PTH level was above the upper limit (15-65 ng/l) in 9 % of adolescents.

Adolescents with obesity or overweight had lower levels of 1,25(OH)D in comparison with normal weight adolescents (128 vs. 138 nmol/l; $p < 0.001$). There was a significant negative correlation between 1,25(OH)D and BMI z-score ($r = -0.228$; $p < 0.001$), body fat percentage ($r = -0.304$; $p < 0.001$), and waist circumference z-score ($r = -0.219$; $p < 0.001$).

No significant correlation was found between 25(OH)D and monitored cardiovascular risk factors.

Conclusion

Low levels of 25(OH)D were present in most of adolescents regardless of their weight status. A significant negative correlation between 1,25(OH)D and anthropometric parameters was found.

Supported by grants AZV 17-31670A, MZ ČR-DRO (EÚ 00023761)

MOŽNOSTI GENETICKÉHO VYŠETŘENÍ OBEZITY

GENETIC TESTING FOR OBESITY

J. Včelák

Institute of Endocrinology, Prague, Czech Republic

From a genetic point of view, patients can be divided into three basic groups according to the cause of obesity:

Polygenic obesity

This is the largest group of patients, we assume that their susceptibility to obesity is caused by variants in multiple genes. The influence of these genes is quite weak, but is enhanced by the environment and especially by inappropriate lifestyle. This is the so-called polygenic inheritance of obesity. In such a case, genetic testing does not yet have a significant benefit for clinical practice.

Currently, the benefit of genetic testing is significant in the next two types of obesity, which are, however, significantly less widespread in the obese population.

Syndromic obesity

Several genetic syndromes caused by mutations or major chromosomal abnormalities are accompanied by obesity. Typical representatives of these syndromes are Prader-Willi or Bardet-Biedl. In these cases, obesity is often accompanied by mental retardation, reproductive anomalies and other serious health complications.

Monogenic obesity

This is a rare form of obesity caused by a mutation in one specific gene. The best-known causes are mutations in genes encoding hormones and receptors in the melanocortin-4 receptor (MC4R) cascade.

For some types of syndromic/monogenic obesity, synthetic agonist of this receptor is now an option for treatment.

MASTNÉ KYSELINY VE STŘEVĚ – ABSORPCE, METABOLISMUS A VLIV RŮZNÝCH ONEMOCNĚNÍ

FATTY ACIDS IN GUT – ABSORPTION, METABOLISM AND EFFECT OF VARIOUS DISEASES

M. Vecka^{1,2}, M. Zeman¹, B. Staňková^{1,2}, J. Macášek¹, A. Žák¹

¹IV. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze a ²CVL ÚLBLD 1. LF UK a VFN v Praze

Abstract

In humans, fatty acids are absorbed from gut lumen after being released from complex lipid molecules by concerted action of several lipases acting in various parts of gastrointestinal tract. Majority of these fatty acids is absorbed intact; however, the gut microbiota can transform fatty acids into derivatives with clinically important effects.

Many pathophysiological conditions connected with gastrointestinal tract influence metabolism of fatty acids. Malabsorption issues often cause essential fatty acid deficiency, other pathophysiological mechanisms result in changed ratios of principal fatty acid classes in tissues (often evaluated with plasma fatty acid profiles) or altered metabolic pathways of fatty acids and their derivatives. The most often studied states include inflammatory bowel disease (Crohn's disease), the consequences of various nutritional allergies (celiac sprue), the states connected with disturbed lipid absorption (chronic pancreatitis), malignant processes (pancreatic ductal adenocarcinoma, colorectal cancer) or several inherited metabolic disorders (cystic fibrosis).

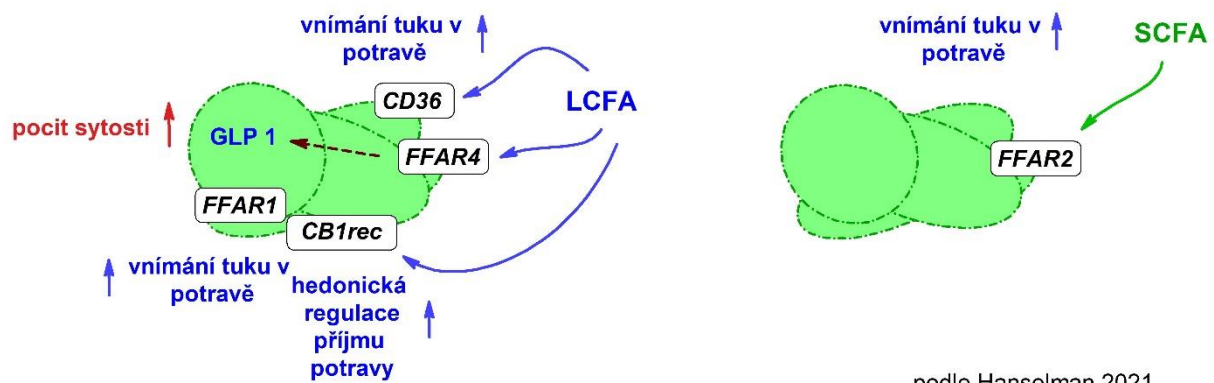
Úvod

Absorpce mastných kyselin

Mastné kyseliny (FA) jako součásti molekul různých lipidových tříd jsou jednou ze základních nutričních složek potravy. Kromě krátkých mastných kyselin (SCFA), které jsou přítomny ve stravě jako volné mastné kyseliny, musí být molekuly lipidů rozloženy na jednodušší části, které jsou postupně absorbovány. Enzymů rozkládajících lipidové molekuly je celá řada, z nichž některé působí i v dutině ústní a žaludku (gastrická lipáza - Salhi 2021; lingvální lipáza - Kulkarni 2014).

Protože většina mastných kyselin je člověkem přijímána ve formě triacylglycerolů (TAG), které nemají schopnost stimulace chuťových receptorů, lingvální lipáza hraje důležitou roli ve vnímání tukové složky potravy. *Mastné kyseliny můžeme vnímat v potravě přímo v dutině ústní* jednak jako dlouhé mastné kyseliny (LCFA) uvolněné lingvální lipázou, které signalizují přítomnost energeticky bohatých TAG, a dále přímo jako volné SCFA, které vznikají fermentací a které mohou nepřímo naznačovat přítomnost probiotických organismů v potravě. Signalizační dráhy pro vnímání LCFA a SCFA v buňkách chuťových pohárků jsou rozdílné, LCFA stimulují několik receptorů FFAR1, FFAR4, CD36 i kanabinoidní receptor CB1, kdežto SCFA působí hlavně na FFAR2 a FFAR3; SCFA působí také na olfaktorální neurony pomocí receptorů OR51E1 a OR51E2 (Hanselman 2021). Zapojení endokanabinoidního systému do percepce tuku je evolučně výhodné, neboť je součástí systému odměňování a dále zvyšuje citlivost čichového i chuťového vnímání; opakovaný příjem tučného jídla vede ale ke snížení citlivosti pro LCFA, tím ke zvýšení příjmu tuků a deregulaci CB1 receptorů (Martinez-Ruiz 2014).

Obr. 1 Vliv mastných kyselin na vnímání potravy v chuťových pohárcích



podle Hanselman 2021

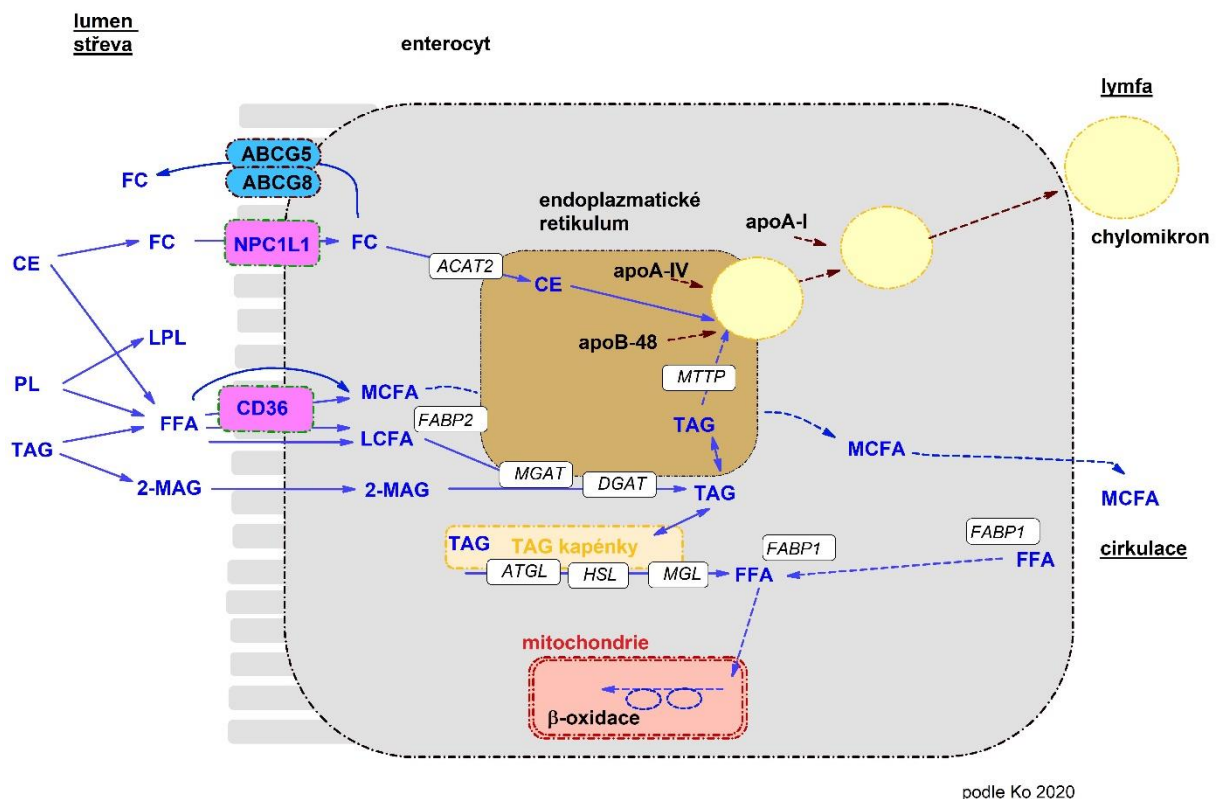
CB1rec – kanabinoidní receptor CB1, *CD36* – receptor pro mastné kyseliny *CD36*, *FFAR* – receptory pro volné mastné kyseliny, *GLP1* – peptid 1 podobný glukagonu, *LCFA* – mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, *SCFA* – mastné kyseliny s krátkým řetězcem

Účinkem lipáz jsou TAG štěpeny na volné mastné kyseliny (FFA) a 2-monoacylglyceroly (2-MAG), které mohou být absorbovány. 2-MAG mohou být dále štěpeny např. karboxyl ester hydrolázou působící i na jiné lipidy (cholesteryl estery nebo fosfolipidy). Účinnost lipolýzy závisí na mnoha faktorech, např. stupni nenasycenosti řetězce mastné kyseliny na pozicích *sn*-1/2/3 nebo koncentraci žlučových kyselin. Mastné kyseliny jsou absorbovány z lumen tenkého střeva buď pasivní difúzí pomocí koncentračního gradientu přes apikální membránu enterocyty, nebo satureovatelným mechanismem závislým na ne zcela přesně identifikovaných proteinech, nejvíce jsou v literatuře zmiňovány *CD36* nebo *FATP4* (Ko 2020). Za fyziologického stavu je organismus schopen absorbovat až 98 % mastných kyselin s dlouhým řetězcem (Carey 1983), ze kterých jsou resyntetizovány TAG, cholesteryl estery, fosfolipidy aj. a nakonec uvolněny ve strukturách lipoproteinů do oběhu (chylomikra nebo HDL). I absorpce nutrientů vykazuje známky cirkadiánní regulace, mezi geny účastníci se absorpce lipidů byl tento typ regulace exprese pozorován u *APOB*, *MTTP*, *APOAIV*, *DGAT2*, *FAS*, *SCD1* (Hussain 2015).

Metabolismus mastných kyselin ve střevě

U člověka jakožto monogastrického savce jsou mastné kyseliny absorbovány většinou bez velkých změn. Metabolický osud mastných kyselin v enterocyty je závislý na způsobu vstupu do buňky, absorpce na apikální části vede vesměs ke tvorbě chylomiker, kdežto mastné kyseliny vstupující do enterocyty z bazolaterální strany (krevního oběhu) jsou směřovány do β -oxidačních drah, případně ke tvorbě fosfolipidů (Ko 2020). Jistou roli ve směrování do různých metabolických drah mohou hrát i izoformy FABP (FABP1 pro oxidační, FABP2 pro syntézu TAG - Lagakos 2011).

Obr. 2 Osud mastných kyselin v enterocyty



podle Ko 2020

ACAT2 – acylcholesterol acyltransferáza 2, ATGL – triacylglycerolová lipáza tukové tkáně. CD36 – receptor pro mastné kyseliny CD36, CE - cholesteryl estery, DGAT - diacylglycerol acyl transferáza, FABP – proteiny vázající mastné kyseliny, FC – volný cholesterol, FFA – volné mastné kyseliny, HSL – hormon senzitivní lipáza, LCFA – mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, MAG – monoacylglyceroly, MCFA – mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem, MGAT - monoacylglycerol acyl transferáza, MGL - monoacylglycerolová lipáza, MTTP – mikrozomální transferový protein pro triacylglyceroly, PL - fosfolipidy, TAG - triacylglyceroly

Střevní mikrobiom je důležitým producentem SCFA ze sacharidových struktur odolávajících trávicím pochodům – rezistentní škroby + pektiny (celulóza není u člověka fermentována mikrobiomem), jež obvykle tvoří 10-20 % ze sacharidů diety (Ramakrishna 2013). Udává se, že molární poměr takto produkovaného acetátu, propionátu a butyrátu je 60:25:15 (Tazoe 2008). Tyto SCFA jsou využívány buňkami střevního epitelu hlavně jako zdroj energie - u kolonocytů je to až 70 % energie nutné pro diferenciaci a proliferaci (Suzuki 2008). Část kyseliny octové a propionové dosáhne jater jako volné mastné kyseliny, kde jsou substráty citrátového cyklu a většinou využity pro produkci glukózy (Schönfeld 2016).

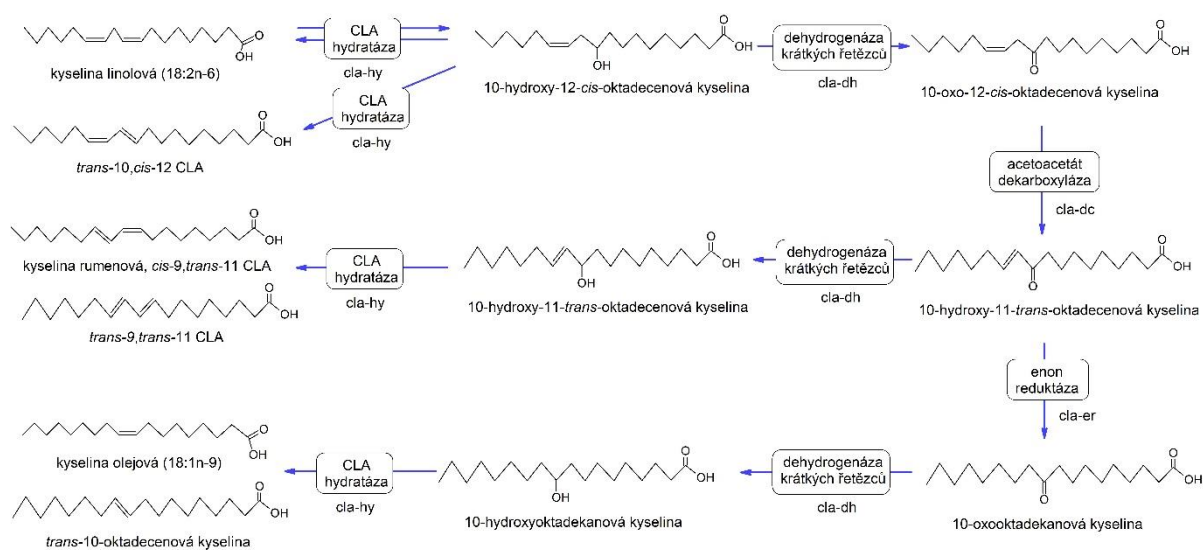
Další důležitou roli hrají SCFA v modulaci příjmu potravy, v patogenezi alergií i autoimunních nebo i neurologických onemocnění (Tan 2014, Nieuwdorp 2014). SCFA patří do skupiny ligandů receptorů pro volné mastné kyseliny, hlavně GPCR receptorů FFAR3, FFAR2 nebo olfaktorického receptoru Olfr78 a v případě butyrátu i GPR109A (Kimura 2020). Butyrát je z SCFA nejsilnější inhibitor histonových deacetyláz, a tak může vstupovat do epigenetických regulací genů u mnoha typů buněk (Chriett 2019).

Triacylglyceroly obsahující MCFA (MCT, medium chain triacylglycerols) nepotřebují během vstřebávání ani žlučové kyseliny, ani pankreatickou lipázu (Bach 1982), jsou absorbovány ve

formě volných MCFA přímo do portálního oběhu a v hepatocytech jsou metabolizovány β -oxidací hlavně na ketonové látky, které dále slouží jako zdroj acetyl-CoA. Navíc vstup MCFA do mitochondrií není závislý na karnitinovém přenašečovém systému, což dále usnadňuje využití MCFA jako rychlého zdroje energie.

Mastné kyseliny jsou metabolizovány v GIT nejenom vlastními buňkami trávicí soustavy po absorpci, ale i mikrobiálními mechanismy, které jsou závislé na dostupnosti substrátu (absorpční účinnosti pro jednotlivé mastné kyseliny nebo rozředění v médiu). Metabolismus lipidů mikrobiomem zahrnuje tvorbu mnoha druhů mastných kyselin. Nejvíce jsou prozkoumány saturační mechanismy, které přeměňují nenasycené řetězce mastných kyselin na struktury s méně dvojnými vazbami. U některých bakterií volné PUFA inhibují růst i adhezi na střevní mukózu (Kankaanpää 2001), kdežto nasycené mastné kyseliny takový efekt nemají (Aziz 2021). Mezi hlavní metabolity patří různé hydroxysubstituované nenasycené struktury a také sloučeniny s konjugovanými dvojnými vazbami (Kishino 2013). Tvorba konjugovaných izomerů kyseliny linolové (CLA) nebo α -linolenové (CLnA) mikrobiomem může ovlivňovat profil i koncentrace těchto sloučenin primárně získávaných z diety; účinky těchto sloučenin na lidský organismus zahrnují metabolické dráhy závislé na aktivaci PPAR α (též PPAR γ ?), kompetici s vazbou na COX1/2, v klinických studiích jsou zmiňovány hlavně inhibice ukládání tuku a antikancerogenní účinky (Kishino 2013). Některé z intermediátů přeměny LA s hydroxylovou skupinou mohou hrát roli v regulaci zánětlivých procesů ve střevě (konverze LA na 10-hydroxy-12-*cis*-oktadecenovou kyselinu, která downreguluje expresi receptoru 2 pro TNF α) (Nagatake 2018).

Obr. 3 Metabolizace kyseliny linolové bakteriemi rodu *Lactobacillus*



podle Kishino 2013

CLA – konjugovaná kyseliny linolová; pod názvem enzymu jsou uvedeny i názvy příslušných genů

Vliv různých onemocnění na střevní absorpci a metabolismus mastných kyselin

Metabolismus mastných kyselin je pozměněn za různých patofyziologických stavů spojených s funkcí gastrointestinálního traktu (GIT). Získání informací o takových změnách probíhajících přímo v lidském střevě je metodologicky obtížné, a proto jsou dostupná hlavně

nepřímá data z analýz plazmy/séra či erytrocytů pacientů. Literární údaje lze nalézt hlavně pro (i) nespecifické střevní záněty (Crohnova choroba nebo ulcerativní kolitis) nebo různé potravinové intolerance (celiakální sprue); (ii) stavy související s poruchami absorpce lipidů (chronická/akutní pankreatitida); (iii) maligní procesy probíhající v GIT (karcinomy pankreatu, tlustého střeva aj.) nebo také (iv) různé dědičné metabolické poruchy spojené s malabsorpcí tuků (cystická fibróza).

Chronické poruchy funkce GIT jsou často spojeny s **deficiencí esenciálních mastných kyselin** (až u 1/3 pacientů) vyznačující se mnoha příznaky (Holman 1998, Žák 2005). V profilu mastných kyselin jsou více zastoupeny nasycené mastné kyseliny (SFA) a mononenasycené mastné kyseliny (MUFA) řad n-7 i n-9, obsah polynenasycených mastných kyselin (PUFA) obou řad n-6 a n-3 bývá snížený (Siguel 1996). Někdy jsou také pozorovány snížené indexy aktivit desaturáz mastných kyselin (Macášek 2012, Thomsen 2011).

Tab. 1 Markery deficience esenciálních mastných kyselin

parametr	popis	známka deficience
poměr trienů/tetraenů	20:3n-9/20:4n-6	více než 0,2
molární zastoupení PUFA n-6	suma PUFA n-6 (mol%)	snížená hodnota
molární zastoupení PUFA n-3	suma PUFA n-3 (mol%)	snížená hodnota

mol% - molární procenta, PUFA - polynenasycené mastné kyseliny; zkrácená notace struktury řetězce mastných kyselin ve tvaru C:Nn-x: C – počet uhlíků v řetězci, N – počet dvojných vazeb, n - pozice 1. dvojných vazeb počítáno od methylového konce

Chronická pankreatitida

Chronická pankreatitida (ChP) je stav charakterizovaný progresivním a ireverzibilním poškozením jak exokrinní, tak i endokrinní funkce pankreatu. Mimo dalších komplikací mají pacienti s ChP zvýšené riziko rozvoje karcinomu pankreatu. Roční incidence ChP se udává mezi 1,8-14/100 000 a prevalence dosahuje hodnot okolo 50/100 000. Okolo 70 % případů ChP je způsobeno nadměrným příjmem alkoholu, ostatní případy jsou spojeny s genetickými poruchami, obstrukční ChP, rekurentní akutní pankreatitidou a autoimunní pankreatitidou (Muniraj 2014).

U pacientů s ChP je často (ne vždy) pozorováno zvýšené zastoupení SFA, hlavně kyselin palmitové (16:0) a stearové (18:0) (Marosvolgyi 2010), obsah SFA s delším řetězcem bývá snížen (Quilliot 2003). Zvýšený obsah mononenasycených mastných kyselin u pacientů s ChP, hlavně palmitolejové (16:1n-7), *cis*-7 hexadecenové (16:1n-9) a olejové (18:1n-9) bývá popisován jako důsledek zvýšené biosyntézy mastných kyselin *de novo* (Zeman 2016). Zvýšená aktivita elongačních drah mastných kyselin může vést k nálezům zvýšeného zastoupení kyseliny gondoové (20:1n-9) (Zeman 2016). Úroveň desaturace nasycených mastných kyselin D9 desaturázou je popisována u ChP jako zvýšená (Quilliot 2003).

Snížené zastoupení PUFA n-3 je u pacientů s ChP spojeno s přítomností DM (Quilliot 2003), nedostatkem selenu, jinými dietními zvyklostmi, které v některých studiích naopak vedly k vyššímu zastoupení PUFA n-3 (Nakamura 1995). Ze zástupců třídy PUFA n-6, jejíž obsah bývá u pacientů s ChP také snížen, jsou ve studiích nejkonzistentněji popisovány snížené hladiny kyseliny linolové (18:2n-6) a arachidonové (20:4n-6) (Marosvolgyi 2010), pravděpodobné mechanismy snížení zahrnují nižší příjem PUFA n-6 v dietě, malabsorpci tuků (Zock 1997), zvýšenou hladinu oxidačního stresu (Kodydková 2013) nebo podporu přeměny kyseliny arachidonové na bioaktivní metabolity pomocí COX-2 (Schlosser 2002). Zastoupení dalších mastných kyselin třídy PUFA n-6 může být dokonce zvýšené důsledkem zvýšené aktivity D6 desaturázy (Zeman 2016).

Crohnova choroba

Crohnova choroba (CD) patří mezi idiopatické střevní záněty, 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 2018). Léčebné postupy jsou u Crohnovy choroby zaměřeny především na ukazatele aktivity zánětu, který je regulován metabolity odvozenými od mastných kyselin. Navíc byl zvýšený přísun živočišných tuků a polynenasycených mastných kyselin třídy n-6 (PUFA n-6) v některých studiích spojován se zvýšenou prevalencí CD (Costea 2014), PUFA n-3 oproti tomu mohou riziko vzniku CD snížit (Scoville 2019).

U dospělých s CD je popisováno vyšší zastoupení PUFA n-3 (hlavně kyseliny α -linolenové, 18:3n-3, a kyseliny dokosaheptaenové, 22:6n-3) v lipidech plazmy (Esteve-Comas 1992). Podobně je tomu i v průběhu inaktivního stadia nemoci (Esteve-Comas 1993). Menší podíl PUFA n-6 byl zaznamenán u dětských pacientů s CD (Socha 2005), kteří již podstoupili léčbu. U neléčených dětí jsme v nedávné studii potvrdili zvýšené zastoupení PUFA n-3 v lipidových třídách plazmy, celkový obsah PUFA n-6 byl beze změny (Schwarz 2021). Podíl zastoupení jednotlivých tříd PUFA (n-3/n-6) může odrážet směřování jednotlivých polynenasycených mastných kyselin do tvorby proti- a pro- zánětlivých metabolitů (Serhan 2014). Vyšší poměr kyselin arachidonové vůči kyselině linonové (20:4n-6/18:2n-6) a nižší zastoupení kyseliny olejové (18:1n-9) byly pozorovány ve vzorcích střevní mukózy a faeces u pacientů s CD (Fernández-Banares 1997, Jansson 2009). Aktivita CD byla v některých studiích (Scoville 2019, Schwarz 2021) spojena s obsahem PUFA n-6 (negativně) nebo PUFA n-3 (pozitivně).

Cystická fibróza

Cystická fibróza (CF) je nejčastější vrozené autosomálně recesivně dědičné onemocnění kavkazské populace. V ČR V se popisuje výskyt CF mezi 1/2 700 a 1/4 000 živě narozených (Fila 2017). Jde o multisystémové onemocnění, postihující zejména plic a pankreas, způsobené mutací chloridového kanálu CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Mutace CFTR vede k proteinopatii, spojené se zvýšeným oxidačním stresem a sníženou autofagií (Luciani 2011). Klinicky dochází ke hromadění viskózních sekretů, chronické infekci dýchacích cest, progresivnímu poškození plicních funkcí, malabsorpci ve střevě i k dalším klinickým manifestacím.

V patogenezi onemocnění se uplatňuje dysregulace mastných kyselin a dalších lipidových struktur. U nemocných s CF se nacházejí zejména změny hladin nenasycených mastných kyselin v plazmě, erytrocytech i v celé krvi. Nejčastěji je prokazován pokles kyseliny linolové a dokosaheptaenové (DHA, 22:6n-3), zatímco hladiny kyseliny palmitolejové a Meadovy kyseliny (20:3n-9) a arachidonové jsou zvýšeny (Seegmiller 2014). Podobné nálezy jsme zaznamenali u dětské populace s léčenou CF, u dospělých nebyly změny v profilu mastných kyselin tak výrazné (Vecka, Kreslová, Sýkora 2022 nepublikovaná data). Profil mastných kyselin u CF je podobný tomu u deficitu esenciálních mastných kyselin (EFAD), což vedlo k názoru, že jejich příčinou je pankreatická insuficience, ale pozdější výzkumy to nepotvrdily (Al-Turkmani 2007). Spíše se tedy bude jednat o výsledek změn v metabolismu mastných kyselin, například ve zvýšené metabolizaci kyseliny linolové (LA, 18:2n-6) [zvýšené hladiny jejího metabolitu, kyseliny arachidonové (20:4n-6), nejsou ovšem pozorovány v plazmě, ale spíše v jiných tkáních]. Ztráta aktivity CFTR je spojena se zvýšenou aktivitou D5 a D6 desaturázy a se zvýšenou přeměnou LA na prozánětlivou AA (Seegmiller 2014). Podobným mechanismem (zvýšenou aktivitou D9 desaturázy a elongázy 6 dochází k elevaci kyselin palmitolejové (POA, 16:1n-7), olejové a kyseliny Meadovy (20:3n-9). Ke zvýšeným hladinám kyseliny arachidonové (20:4n-6) u CF přispívá i zvýšená exprese a aktivita fosfolipázy A₂ (PLA₂), která je rovněž spojena s dysfunkcí CFTR (Phillipe 2018).

Abnormality ve složení PUFA korelují se závažností onemocnění, např. pokles kyseliny linolové (LA, 18:2n-6) a vzestup POA je větší u jedinců s výraznější pankreatickou insuficiencí (Seegmiller 2014), mutace CFTR spojené se závažnější formou onemocnění jsou spojeny s nižšími hladinami LA a DHA (Strandvik 2001). Provedené studie u dětí ukázaly význam LA pro růst, studie ukázaly vztah deficitu LA k CF (van Egmond 1996) a vyšší koncentrace LA ve fosfolipidech byla asociována s lepším růstem, tělesným složením a plicní funkcí (Maqbool 2008). Na rozdíl od LA je příčina poklesu DHA u osob s CF méně jasná, zvažuje se zvýšená přeměna EPA na jiné metabolity než na DHA, zvýšená retrokonverze DHA na EPA a alterace metabolismu fosfolipidů (Seegmiller 2014), např. porucha metylace fosfatidylethanolaminů při syntéze fosfatidylcholinů u osob s CF (Strandvik 2010, Seegmiller 2014). Na změnách profilu nenasycených mastných kyselin u CF se podílí také zvýšená hladina oxidačního stresu (Phillipe 2018). Pokles DHA vede ke snížené tvorbě z ní odvozených specializovaných pro-rezolučních mediátorů (rezolvinů, maresinů a protektinů), zatímco zvýšené hladiny AA jsou spojeny se zvýšenou tvorbou prozánětlivých eikosanoidů. Navíc u CF je pozorován deficit lipoxinu A₄, což je protizánětlivý mediátor, odvozený z AA (Urbach 2013). Nerovnováha mezi prozánětlivými a protizánětlivými mediátory vede k chronickému zánětlivému stavu u CF.

Potravinové intolerance

Některé imunitní procesy ve střevě jsou přímo ovlivňovány mastnými kyselinami. Kyselina palmitová (PA, 16:0) má pozitivní vliv na produkci IgA, 17,18-epoxyeikosatetraenová kyselina [metabolit kyseliny eikosapentaenové (EPA, 20:5n-3)] potlačuje degranulaci mastocytů (Hosomi 2020), vysokotuková dieta i vysoký obsah cholesterolu ve stravě potlačuje aktivaci B-buněk v Peyerových plátech a tím i produkci IgA (následně zvýšenou vnímavost k infekcím např. kmenem *Salmonella*) (Qiu 2022).

Celiakální sprue je geneticky podmíněná intolerance glutenu s prevalencí v ČR cca 1/200-1/300, zprostředkovaná imunitní odpovědí T-lymfocytů v tenkém střevě na peptidy glutenu. Profil mastných kyselin bývá nezměněn nebo jsou nalézány snížené hladiny polynenasycených mastných kyselin, které jsou ovlivněny vedle dietních zvyklostí hlavně stadiem nemoci. U aktivních případů celiakie bezlepková dieta hladiny kyseliny arachidonové (20:4n-6), DPAn-3 (22:5n-3) i dokosahexaenové (DHA, 22:6n-3) zvyšuje (Solakivi 2009), dokonce někdy je při bezlepkové dietě zastoupení DHA v séru vyšší (van Hess 2014) proti kontrolám i přes podobný dietní příjem bez příznaků deprese (častá u celiakie). Hladina DHA je pozitivně asociována s hladinami neurotrofního faktoru BDNF u celiakie (Russo 2017). Navíc DHA příznivě ovlivňuje uvolňování prozánětlivé kyseliny arachidonové (20:4n-6) z epiteliálních buněk střeva, které jsou vystaveny peptidům vzniklým degradací glutenu (Vincentini 2011). U aktivního stadia nemoci neposkytuje obsah mastných kyselin ve fosfolipidech plazmy stejný obraz o zastoupení mastných kyselin fosfolipidů epiteliálních membrán (Steel 2006).

Závěr

Onemocnění gastrointestinálního traktu často způsobují změny v metabolismu mastných kyselin. V lipidových třídách plazmy dochází k posunu zastoupení polynenasycených mastných kyselin (PUFA), pacienti s chronickou pankreatitidou mívají méně PUFA n-3 i PUFA n-6, u Crohnovy choroby je typický profil mastných kyselin se zvýšeným podílem PUFA n-3 a sníženým zastoupením PUFA n-6, rozsáhlá deregulace lipidového metabolismu u cystické fibrózy zahrnuje i pokles PUFA n-3 i PUFA n-6; potravinové alergie hladiny mastných kyselin ovlivňují málo nebo ve smyslu snížení zastoupení PUFA n-6 i PUFA n-3. Tyto změny jsou ovlivněny stadiem nemoci nebo přidruženými komorbiditami.

Poděkování

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

Literatura

- Al-Turkmani MP., Freedman SD., Laposata M.** Fatty acid alterations and n-3 supplementation in cystic fibrosis. *Prostaglandins Leukotr Ess Fatty Acids* 2007; 77: 309-318.
- Aziz T., Sarwar A., ud Din J., et al.** Biotransformation of linoleic acid into different metabolites by food derived *Lactobacillus plantarum* 12-3 and *in silico* characterization of relevant reactions. *Food Res Internat* 2021; 147: 110470.
- Bach AC., Babayan VK.** Medium-chain triglycerides:an update. *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 950-962.
- Carey MC., Small DM., Bliss CM.** Lipid digestion and absorption. *Annu Rev Physiol* 1983; 45: 651-677.
- 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.
- Esteve-Comas M., Nuñez MC., Fernández-Bañarez F., et al.** Abnormal plasma polyunsaturated fatty acid pattern in non-active inflammatory bowel disease. *Gut* 1993; 34: 1370-1373.
- Esteve-Comas M., Ramírez M., Fernández-Bañarez F., et al.** Plasma polyunsaturated fatty acid pattern in active inflammatory bowel disease. *Gut* 1992; 33: 1365-1369.
- Fernández-Bañares F., Esteve-Comas M., Mané J., et al.** Changes in mucosal fatty acid profile in inflammatory bowel disease and experimental inflammation. *Clin Nutr* 1997; 16: 177-183.
- Fila L.** Cystická fibróza dospělých. *Vnitř Léč* 2017; 63: 834-842.
- Hanselman EC., Amado NJ., Breslin PAS.** Oral signals of short and long chain fatty acids: parallel taste pathways to identify microbes and triglycerides. *Curr Opin Physiol* 2021; 20: 126-133.
- Holman RT.** The slow discovery of the importance of w essential fatty acids in human health. *J Nutr* 128; 128: 427S-433S.
- Hosomi K., Kyiono H., Kunisawa J.** Fatty acid metabolism in the host and commensal bacteria for the control of intestinal immune responses and diseases. *Gut Microbes* 2020; 11: 276-284.
- Hussain MM., Pan X.** Circadian regulation of intestinal lipid absorption. *J Lipid Res* 2015; 56: 761-770.
- Chriett S., Dabek A., Wojtala M., et al.** Prominent action of butyrate over b-hydroxybutyrate as histone deacetylase inhibitor, transcriptional modulator and anti-inflammatory molecule. *Sci Rep* 2019; 9: 742.
- Jansson J., Willing B., Lucio M., et al.** Metabolomics reveals metabolic biomarkers of Crohn's disease. *PLoS One* 2009; 4: e 63.
- Kankaanpää PE., Salminen SJ., Isolauri E., Lee YK.** The influence of polyunsaturated fatty acids on probiotic growth and adhesion. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 194: 149-153.
- Kimura I., Ichimura A., Ohue-Kitano R., Igarashi M.** Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease. *Physiol Rev* 2020; 100: 171-210.
- Kishino S., Takeuchi M., Park S-B., et al.** Poluyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition. *PNAS* 2013; 110: 17808-17813.

- Ko C-W., Qu J., Black DD., Tso P.** Regulation of intestinal lipid metabolism: current concepts and relevance to disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020; 17: 169-183.
- Kodydková J., Vávrová L., Staňková B., et al.** Antioxidant status and oxidative stress markers in pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *Pancreas* 2013; 42: 614-621.
- Kulkarni BV., Mattes RD.** Lingual lipase activity in the orosensory detection of fat by humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2014; 306: R879-R885.
- Lagakos WS., Gajda AM., Agellon L., et al.** Different functions of intestinal and liver-type fatty acid-binding proteins in intestine and in whole body energy homeostasis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300, G803–G814.
- Luciani A., Vilella VR., Esposito S., et al.** Cystic fibrosis: a disorder with defective autophagy. *Autophagy* 2011; 7: 104-106.
- Macášek J., Vecka M., Žák A., et al.** Plasma fatty acid composition in patients with pancreatic cancer: correlation to clinical parameters. *Nutr Cancer* 2012; 64: 946-955.
- Maqbool A., Schall JL., Garcia-Espana JF., et al.** Serum Linoleic Acid Status as a Clinical Indicator of Essential Fatty Acid Status in Children With Cystic Fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47: 635-644.
- Marosvolgyi T., Horvath G., Dittrich A., et al.** Fatty acid composition of plasma lipid classes in chronic alcoholic pancreatitis. *Pancreatol* 2010; 10: 580-585.
- Martinez-Ruiz NR., López-Díaz JA., Wall-Medrano AW., et al.** Oral fat perception is related with body mass index, preference and consumption of high-fat foods. *Physiol Behav* 2014; 129: 36-42.
- Mingione A., Ottaviano E., Barcella M., et al.** Cystic Fibrosis Defective Response to Infection Involves Autophagy and Lipid Metabolism. *Cells* 2020; 9: 1845.
- Muniraj T., Aslanian HR., Farrell J., Jamidar PA.** Chronic pancreatitis, a comprehensive review and update. Part I: epidemiology, etiology, risk factors, genetics, pathophysiology, and clinical features. *Dis Mon* 2014; 60: 530-550.
- Nagatake T., Kunisawa J.** Emerging roles of metabolites of w3 and w6 essential fatty acids in the control of intestinal inflammation. *Internat Immunol* 2018; 31: 569-577.
- Nakamura T., Takebe K., Imamura K., et al.** Changes in plasma fatty acid profile in japanese patients with chronic pancreatitis. *J Int Med Res* 1995; 23: 27-36.
- Nieuwdorp M., Gilljamse PW., Pai N., Kaplan LM.** Role of the microbiome in energy regulation and metabolism. *Gastroenterology* 2014; 146: 1525-1533.
- Philippe R., Urbach V.** Specialized Pro-Resolving Lipid Mediators in Cystic Fibrosis. *Int J Mol Sci* 2018; 19: 2865.
- Qiu J., Ma Y., Qiu J.** Regulation of intestinal immunity by dietary fatty acids. *Mucosal Immunol* 2022; 15: 846-856.
- Quilliot Q., Walters E., Böhme P., et al.** Fatty acid abnormalities in chronic pancreatitis: effect of concomitant diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 496-503.
- Ramakrishna R.** Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28(Suppl 4): 9-17.
- Russo F., Chimienti G., Clemente C., et al.** A possible role for ghrelin, leptin, brain-derived neurotrophic factor and docosahexaenoic acid in reducing the quality of life of coeliac disease patients following a gluten-free diet. *Eur J Nutr* 2017; 56: 807-818.
- Salhi A., Carriere F., Grundy M., Aloulou A.** Enzymes involved in lipid digestion. In: Myriam M.-L.Grundy; Peter J. Wilde. *Bioaccessibility and digestibility of lipids from food.* Springer International Publishing 2021, 3-28.

- 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.
- Seegmiller AC.** Abnormal unsaturated fatty acid metabolism in cystic fibrosis: biochemical mechanisms and clinical implications. *Int J Mol Sci.* 2014; 15: 16083-16099.
- Serhan CN.** Systems approach to inflammation resolution: identification of novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. *J Thromb Haemost* 2009; Suppl 1: 44-48.
- Schlosser W., Schlosser S., Ramadi M., et al.** Cyclooxygenase-2 is overexpressed in chronic pancreatitis, *Pancreas* 2002; 25: 26-30.
- Schonfeld P., Wojtzak L.** Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *J Lipid Res* 2016; 57: 943-954.
- Schwarz M., Vecka M., Stožický F., et al.** The Assessment of plasma fatty acid profiles in newly diagnosed treatment-naïve pediatric Crohn's disease. *Phys Res* 2021; 70: 799-805.
- Signorelli P., Pivari F., Barcella M., et al.** Myriocin modulates the altered lipid metabolism and storage in cystic fibrosis. *Cell Signal* 2021; 81: 109928.
- Siguel EN., Lerman RH.** Prevalence of essential fatty acid deficiency in patients with chronic gastrointestinal disorders. *Metabolism* 1996; 45: 12-23.
- 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.
- Solakivi T., Kaukinen K., Kunnas T., et al.** Serum fatty acid profile in celiac disease patients before and after a gluten-free diet. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 826-830.
- Steel DM., Ryd W., Ascher A., Strandvik B.** Abnormal fatty acid pattern in intestinal mucosa of children with celiac disease is not reflected in serum phospholipids. *J Paediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 43: 318-323.
- Strandvik B.** Fatty acid metabolism in cystic fibrosis. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids* 2010; 83: 121-129.
- Strandvik B., Gronowitz E., Enlund F., et al.** Essential fatty acid deficiency in relation to genotype in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2001; 139: 650-655.
- Suzuki T., Yoshida S., Hara H.** Physiological concentrations of short-chain fatty acids immediately suppress colonic epithelial permeability. *Brit J Nutr* 2008; 100: 297-305.
- 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.
- Tan J., McKenzie C., Potamitis M., et al.** The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol* 2014; 121: 91-119.
- Tazoe H., Otomo Y., Kaji I., et al.** Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59(Suppl 2): 251-262.
- Thomsen KF., Laposata M., Njoroge SW., et al.** Increased elongase 6 and D9-desaturase activity are associated with n-7 and n-9 fatty acid changes in cystic fibrosis, *Lipids* 2011; 456: 669-677.
- Urbach V., Higgins G., Buchanan P., Ringholz F.** The role of Lipoxin A4 in Cystic Fibrosis Lung Disease. *Comput Struct Biotechnol J* 2013; 6; e201303018.
- van Egmond AW., Kosorok MR., Koscik R., et al.** Effect of linoleic acid intake on growth of infants with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 746-752.
- van Hees NJ., Giltay EJ., Geleijnse JM., et al.** DHA serum levels were significantly higher in celiac disease patients compared to health controls and were unrelated to depression. *PLOS One* 2011; 9: e97778.

Vincentini O., Quaranta MG., Viora M., et al. Docosahexaenoic acid modulates in vitro the inflammation of celiac disease in intestinal epithelial cells via the inhibition of cPLA₂. Clin Nutr 2011; 30: 541-546.

Zardini Buzatto A., Abdel Jabar M., Nizami I., et al. Lipidome Alterations Induced by Cystic Fibrosis, CFTR Mutation, and Lung Function. J Proteome Res 2021; 20: 549-564.

Zeman M., Macášek M., Burda M., et al. Chronic pancreatitis and the composition of phosphatidylcholine fatty acids. Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids 2016; 108: 38-44.

Zock PL., Mensink RP., Harryvan J., et al. Fatty acids in serum cholesteryl esters as quantitative biomarkers of dietary intake in humans, Am J Epidemiol 1997; 145: 1114-1122.

Žák A., Tvrzická E., Zeman M., Vecka M. Patofysiologie a klinický význam vícenenasycených mastných kyselin řady n-3. Čas Lék čes 2005; 144(Suppl 1): 6-18.

POLYNEENASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY A NEUROPSYCHIATRICKÁ ONEMOCNĚNÍ

POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND NEUROPSYCHIATRIC DISEASES

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

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, IV. interní klinika, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

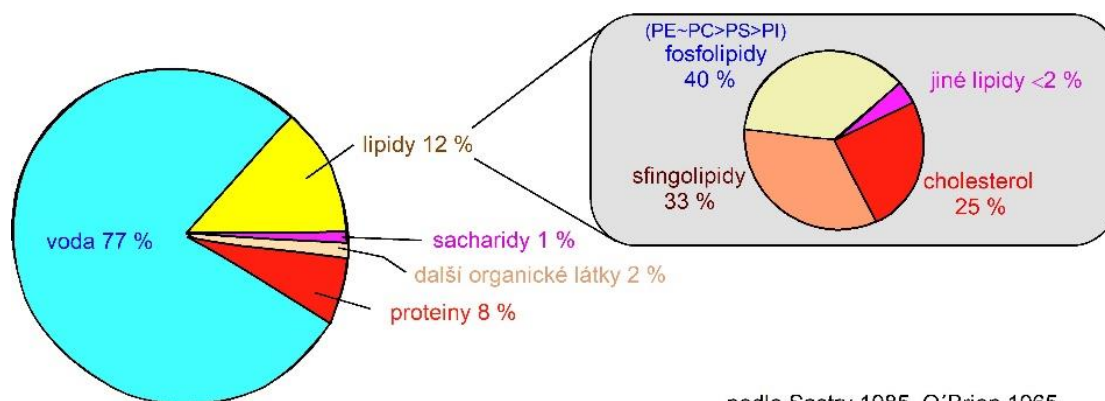
Abstract

It is commonly known that the lipids constitute a substantial portion of the brain mass. Moreover brain is highly enriched with polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and brain contains higher amounts of PUFAs than other tissues. PUFAs in brain are linked to several lipid classes, especially in phospholipids and sphingolipids. LC-PUFA of both n-3 and n-6 family, specifically docosahexaenoic acid (C22:6n-3, DHA) and arachidonic acid (C20:4n-6, AA), are required for proper brain development and function. These two PUFAs represent approximately 25% of the total content of brain fatty acids. DHA and AA have a relevant role in mitochondrial dysfunction, neuroinflammation, and oxidative stress. In this review the role of both these fatty acids in favourable influencing of selected neuropsychiatric pathologies.

Úvod

Lipidy tvoří podstatnou část hmoty mozku (nepočítáme-li vodu, na kterou připadá přibližně 77 % hmotnosti). Jde zejména o cholesterol, mastné kyseliny, hlavně polynenasycené (PUFA) vázané v několika lipidových třídách, zejména ve fosfolipidech a sfingolipidech (obr. 1) (1,2). Lipidy jsou nepostradatelné pro funkci neuronů, účastní se např. regulace membránové fluidity a permeability, tvorby vezikul a jejich transportu, buněčné integrity a neuroplasticity.

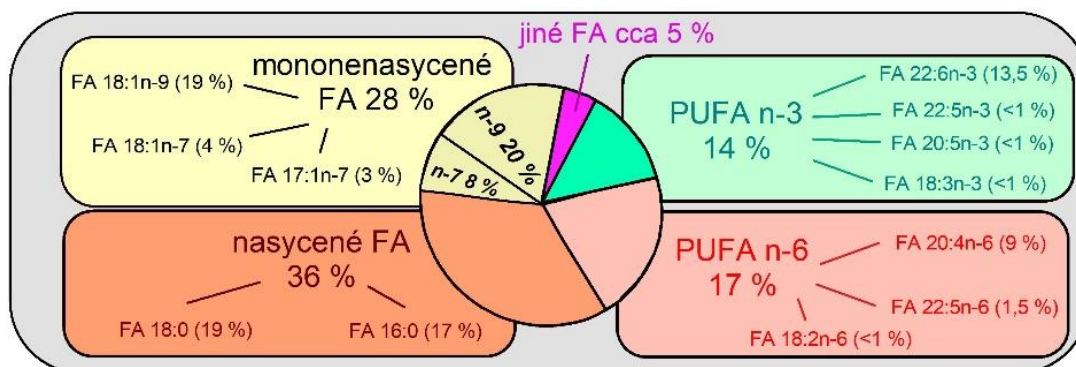
Obrázek 1



Složení mastných kyselin v mozku

Spektrum mastných kyselin, nacházejících v CNS, je rozdílné od složení mastných kyselin v plazmatických lipidech, v adipocytech tukové tkáně i dalších tkání. V membránách mozkových buněk, které jsou na lipidy mimořádně bohaté (50-70 %), se nacházejí především polynenasycené mastné kyseliny, zejména kyselina dokosahexaenová (DHA, FA 22:6 n-3) a arachidonová (AA, FA 20:4 n-6). Tyto mastné kyseliny jsou v mozku obsaženy v mnohonásobně vyšších koncentracích než v jiných tkáních, i když nasycené a mononenasycené mastné kyseliny jsou rovněž přítomny (3), (obr. 2).

Obrázek 2 Zastoupení mastných kyselin v prefrontální mozkové kůře



podle McNamara 2006

FA – mastné kyseliny, PUFA - polynenasycené mastné kyseliny

Buňky v mozku se skládají z neuronů a glií (70 % astrocyty, 10-15 % oligodendroglie a 10-15 % mikroglie) (5). Polynenasycené mastné kyseliny nemohou být syntetizovány v neuronech, ale jsou akumulovány v jejich membránách. V membránách krysích neuronů bylo nalezeno cca 8,2 - 8,3 % DHA, 2,2-2, 8 % n-3 DPA (22:5 n-3), 10,3 -15,1 % AA, 2,2 % n-6 DPA a 1,0 - 2,1 % kyseliny adrenové (22: 4 n-6) a 3,1-6, 9 % LA. Poměr n-3/n-6 je cca 0,46-0,50. (6). V jednotlivých strukturách mozku je zastoupení mastných kyselin různé. Např. u myši kyselina arachidonová představuje 10,2 % v hippocampu, 9,7 % v prefrontální kůře, 8,5 % v hypothalamu, 7,7 % v kortexu, 6,5 % v mozečku a 5,5 % v mozkovém kmeni (7). Poměr AA/DHA činí 0,75 až 0,85 v hypothalamu a hippocampu, zatímco 0,54 v mozečku. Zastoupení mastných kyselin v prefrontální kůře u člověka je znázorněno na obr. 2 (4).

Původ mastných kyselin v mozku

Nasyčené a monoenoové mastné kyseliny mohou být v mozku syntezovány *de novo* nebo mohou být přivedeny krevním oběhem. Převážná část PUFAs v mozku má původ ve stravě a do CNS přichází z krevního oběhu. Jejich desaturace a elongace probíhají převážně v játrech, i když i v mozkové tkáni v astrocytech jsou exprimovány enzymy, potřebné k tvorbě AA i DHA (3). Z jater jsou PUFAs transportovány do nervové tkáně ve formě volných mastných kyselin (8). Všechny PUFAs jsou pak přednostně hromaděny v neuronech jako součásti fosfolipidů (9). Transport je uskutečňován několika způsoby. V krevním oběhu jsou volné MK do mozkových endotelií buď vázány na albumin předpokládá se také možný transport přes LDL-receptor nebo pasivní difuzí po odštěpení MK z TAG lipoproteinovou lipázou. Na přenosu PUFA se podílí několik systémů. Pro transport polynenasycených MK slouží čtyři třídy transportních proteinů: translokáza mastných kyselin FAT/CD 36, proteiny vázající mastné kyseliny (*fatty acid binding proteins, FABPs*), proteiny transportující mastné kyseliny (*fatty acid transportation proteins, FATPs*) a transportér, lokalizovaný na endoteliích hematoencefalické bariéry (HEB) - MFSD2A – *major facilitator superfamily domain-containing protein 2A*. Tento transportér, který transportuje DHA vázanou na lysofosfatidylcholin (lyso-PC-DHA), nikoliv volnou DHA, je z hlediska přísunu DHA do mozku nejvýznamnější (10). Bylo zjištěno, že přítomnost MFSD2A v HEB je nezbytná pro hromadění („accretion“) DHA v mozku a jeho normální růst; deficiencie MFSD2A vede k mikrocefalii. Cestou MFSD2A mohou být do mozku dopravovány také EPA a AA.

Hlavní PUFA v mozku a jejich význam

Nejvíce zastoupenými PUFA v mozku jsou DHA a AA. Mají roli strukturální i funkční. Pro jejich optimální působení je důležitá rovnováha mezi oběma MK. DHA je klíčovou strukturální složkou mozku a je nezbytná pro neurogenezi, syntézu fosfolipidů a vývoj mozku (11). Je distribuována v okřídlech mozkové kůry, v synaptických membránách, v mitochondriích sítnicových buněk a ve fotoreceptorech (12), nejvíce je zastoupena ve fosfolipidech fosfatidyletanoaminech (PE) a fosfatidylserinech (PS). Zvýšený příjem DHA vede ke zvýšené tvorbě PS, které se účastní buněčné signalizace. DHA ovlivňuje fluiditu a asymetrii membrán mozkových buněk, charakteristiky raftů s následným ovlivněním permeability pro malé molekuly a funkce membránových proteinů (13,14). DHA zvyšuje hladinu neurotrofinů, jako je BDNF, zvyšuje expresi GLUT1 a usnadňuje vychytávání glukózy v mozku a podporuje funkci fotoreceptorů v sítnici (13). Po odštěpení z fosfolipidu působením fosfolipázy A2 je volná DHA prekurzorem dokosanoidů a elovanooidů (s 32 nebo 34 uhlíky v molekule), které mají neuroprotektivní účinek a chrání fotoreceptory (15) i dalších významných biologických mediátorů, jako jsou např. specializované pro-rezoluční mediátory (SPMs), epoxidy a větvené estery hydroxy mastných kyselin (16). Za účasti 12- a 15-lipoxygenáz vznikají deriváty, (rezolviny, Rvs, neuroprotektiny, NP a maresiny, Mar) (17).

AA je druhou nejvýznamnější PUFA v mozku, představuje asi 20 % všech MK v neuronech. AA je distribuována v membránách všech mozkových buněk a působí jako druhý posel, signální molekula či prekurzor eikosanoidů, endokanabinoidů, ligand receptorů aktivovaných peroxisomálními proliferátory (PPAR) či aktivátor proteinkinázy C (18). Kyselina arachidonová v mozkových buňkách podobně jako DHA přispívá k flexibilitě, fluiditě a selektivní permeabilitě buněčných membrán. Ovlivňuje funkce iontových kanálů (např. kaliové kanály, modulující kortikální neuronální excitabilitu), synaptickou transmissi, funkční aktivitu receptorů (např. GABA receptory), podobně jako DHA má pozitivní neurotropní efekty (19,20). AA je také prekurzorem kyseliny adrenové (FA 22:4 n-6), která je třetí nejvíce zastoupenou MK v mozku a je nezbytná pro rozvoj myelinu během časného postnatálního období u kojenců. AA může být syntetizována v astrocytech z kyseliny linolové, ovšem vzhledem k velmi nízkému obsahu LA v mozku je významnější její přísun z potravy (vejce, ryby, maso) (19). Po uvolnění z fosfolipidů působením PLA2 je přeměňována na řadu metabolitů, často s prozánětlivými účinky (eikosanoidy, hydroxyeikosatetraeny – HETE, či hydroperoxyeikoisatetraeny – HPETE), ale i s účinky protizánětlivými (lipoxiny). AA má však i různé další funkce, které dosud nejsou objasněny do takové míry, jako v případě DHA. Např. volná AA a její deriváty v mozku hrají roli v regulaci krevního průtoku, excitotoxicity, neurogeneze, účastní se synaptických dějů, mimo jiné usnadňuje exocytózu neuropřenašečů (11).

PUFA u vybraných neuropsychiatrických onemocnění

PUFA a deprese

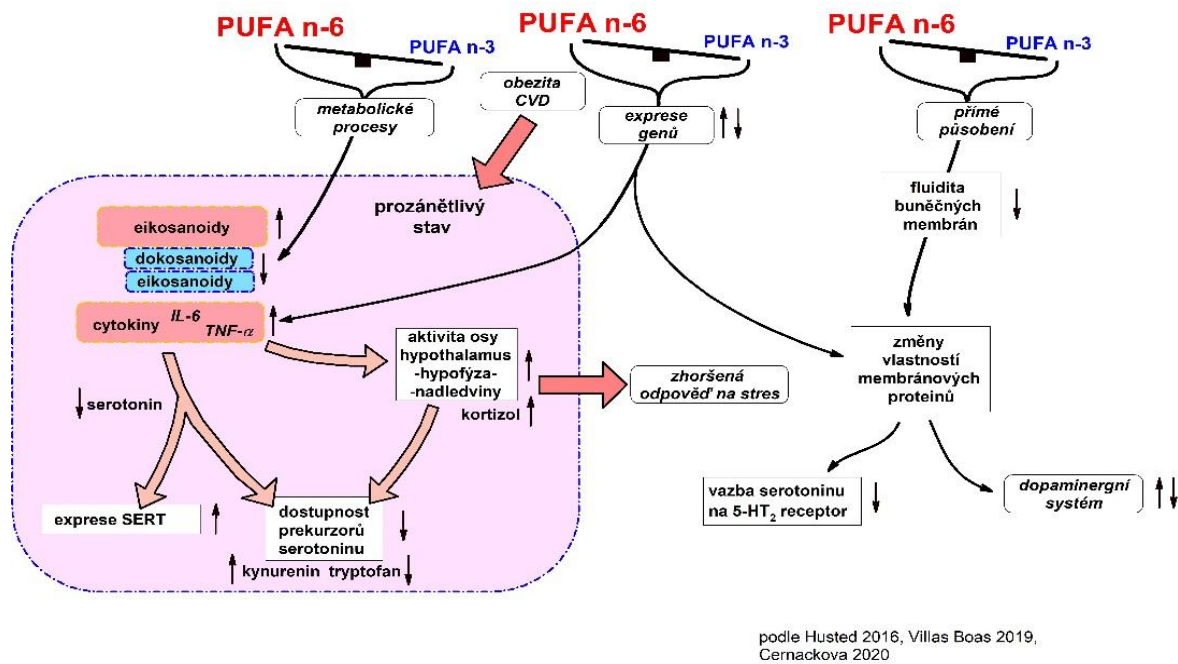
V patogeneze deprese se uplatňuje řada faktorů, mezi nimi zejména zánětlivý stav, oxidační stres, deplece neurotransmitterů jako serotoninu, dopaminu a noradrenalinu a dysfunkce neurotrofických faktorů. Uplatnění některých mechanismů souvisí s nedostatkem PUFA n-3 mastných kyselin, resp. se zvýšeným poměrem PUFA n-6/ PUFA n-3 (obr. 3) (37,38,39). Dysregulace polynenasycených mastných kyselin řadu dějů, zúčastněných v těchto procesech, ovlivňuje fluiditu membrán, aktivitu receptorů, imunitní a zánětové pochody, oxidační stres, i metabolismus neurotransmitterů a syntézu trofických faktorů (21). Dysregulace PUFA je popisována i u inzulinorezistentních stavů (22). Působení inzulínu a také leptinu na příslušné receptory vede k tvorbě CREB (*c-AMP regulated element binding protein*) a mozkového

neurotrofického faktoru BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) (23). Rezistence na inzulin a leptin by mohla být spojena se sníženou tvorbou CREB a BDNF a být tak pojítkem mezi inzulinovou rezistencí a neuropsychiatrickými onemocněními. U nemocných s depresí byly kromě zvýšené hodnoty HOMA indexu inzulinové rezistence a zvýšené koncentrace konjugovaných dienu v částicích LDL zaznamenány některé změny v profilu mastných kyselin v lipidových třídách, typické pro inzulinovou rezistenci, např. zvýšené hladiny palmitolejové a celkových monoenoových kyselin v esterech cholesterolu (CE), snížená hladiny kyseliny linolové v CE a zvýšené hodnoty indexu aktivity delta-6 desaturázy (24) a deprese je asociována se zvýšeným rizikem vzniku diabetes mellitus typu 2 (25). Na protektivní význam omega-3 mastných kyselin v patogenezi deprese nepřímo ukazují epidemiologické údaje. Spotřeba ryb (jako zdroje omega-3 MK) ve stravě různých populací negativně koreluje s výskytem deprese (26). U depresivních osob byly nalezeny snížené hladiny PUFA n-3 v PL různých tělesných tkání (27,28,29,30). Hladiny PUFA n-3 negativně korelují s tíží depresivní symptomatologie (31,32,33,34). Současně s poklesem PUFA n-3 jsou často nalézány zvýšené hodnoty poměru AA/EPA, AA/DHA, či poměru n-6/n-3 mastných kyselin.

Zajímavá jsou i data z experimentálních studií. Omezení příjmu PUFA n-3 u krys zvyšuje skóre v testech deprese i agresivity, přičemž byl u těchto zvířat pozorován pokles centrálního serotonergního a dopaminergního přenosu a snížení počtu hipokampálních neuronů. Naopak při dietní suplementaci krys DHA dochází k zvýšení hladin noradrenalinu, serotoninu, dopaminu i acetylcholinu v mozku (35). Mechanismy působící v důsledky zvýšeného poměru PUFA n-6/ PUFA n-3 ve fosfolipidech membrán mozkových buněk jsou znázorněny na obrázku 3. Převaha prozánětlivých eikosanoidů z AA nad protizánětlivými vede ke zvýšené tvorbě cytokinů, jako IL-6 či TNF α . To stimuluje osu hypothalamus-hypofýza-nadledvina s následným zvýšením hladiny kortisolu. Současně je pozorována dysfunkce zpětné vazby v hypothalamu se zvýšenou hladinou kortikotropin uvolňujícího faktoru (CRF). Chronicky zvýšená hladina kortisolu a CRF je spojena s porušenou odpovědí na stresové situace a s dalšími metabolickými důsledky. Zvýšená hladina prozánětlivých faktorů vede k depleci serotoninu mimo jiné v důsledku zvýšené přeměny jeho prekurzoru tryptofanu působením enzymů - indolamin 2,3-dioxygenázy (IDO), a tryptofan dioxygenázy (TDO) – na kynurenin. Dochází také ke zvýšené expresi transportéru vychytávajícího serotonin (SERT) a v důsledku změn vlastností membránových proteinů je snížena vazba serotoninu na jeho 5-HT $_2A$ receptory. Ke změnám dochází i v dopaminergním systému. Je pozorován pokles zásob dopaminu v presynaptických vezikulách frontálního kortexu v důsledku snížení hladin vezikulárního monoaminového transportéru (VMAT) a pokles density dopaminergních D2-receptorů.

V randomizovaných kontrolovaných studiích byl často zjištěn příznivý účinek podávání PUFA n-3 u depresí. Výsledky nejsou zcela jednoznačné. Výsledky metaanalýzy studií (36) hypotézu o příznivém terapeutickém efektu podpořily, ale současně bylo uzavřeno, že je obtížné tyto výsledky sumarizovat a úplně zhodnotit vzhledem ke značné heterogenitě. Lepší efekt PUFA n-3 byl zjištěn u osob s těžší depresivní symptomatologií, zatímco u osob bez diagnostikovaného depresivního onemocnění byl účinek na náladu menší. V heterogenitě výsledků hraje zřejmě roli řada faktorů, např. různý obsah PUFA n-3 i n-6 řady ve stravě, složení placebo, rozdíl ve věku a mezi pohlavími, v průvodné léčbě, v trvání studie, dávce i typu použité PUFA n-3, nebo způsob hodnocení deprese (36). V nedávno zveřejněné metaanalýze RCT byl prokázán celkově příznivý účinek PUFA n-3 na symptomy deprese. Podrobnější analýza ukázala, že významně účinnější jsou suplementy s převahou EPA (≥ 60 %) nebo čistá EPA ve srovnání se suplementy obsahujícími DHA. V metaanalýze studující účinky přidání PUFA n-3 jako "add-on" k antidepressivní farmakoterapii byl prokázán významně příznivý efekt ve srovnání s placebem (40).

Obrázek 3 Vliv nerovnováhy mezi PUFA n-6 a PUFA n-3 na patofyziologické procesy deprese



PUFA a schizofrenie

Schizofrenie je závažné chronické onemocnění s prevalencí 1 %. Očekávaná doba života schizofrenika je o 20 % kratší než u běžné populace. Celková jednorocní mortalita u nemocných se schizofrenií dosahuje téměř čtyřnásobku ve srovnání s údaji u běžné populace (41). I po odečtení úmrtí způsobených sebevraždami zůstává mortalita schizofreniků dvojnásobná, což je dáno zejména vyšším výskytem diabetes mellitus typu 2 (DM2) a KVO. K tomuto faktu jistě přispívají i negativní faktory behaviorální, jako špatné dietní zvyklosti, kouření cigaret, omezená fyzická aktivita, ke zvýšení kardiovaskulárního rizika může přispívat i léčba atypickými antipsychotiky (42). Dnes je ovšem již známo, že dosud neléčená schizofrenie, podobně jako i velká depresivní porucha jsou asociovány se zvýšeným rizikem MetS a DM2. Uvedená onemocnění se často vyskytují současně. Zjišťují se společně genetické podklady uvedených onemocnění (43). Dalšími společnými patogenetickými faktory schizofrenie a DM2 jsou zánět, oxidační stres a dysfunkce osy hypothalamus-hypofýza-nadledvina (44). V patogenezi schizofrenie se uplatňuje také dysregulace mastných kyselin, zejména vícenenasycených MK s dlouhým řetězcem (LC-PUFA). U schizofreniků byly zjištěny změny ve složení fosfolipidů, zejména koncentrací fosfatidylserinů (PS), fosfatidylcholinů (PC) i fosfatidyletanolaminů (PE) buněčných membrán v důsledku poklesu obsahu PUFA (45). V membránách erytrocytů i v mozcích nemocných schizofrenií byl popsán zejména pokles AA a DHA (46,47). V erytrocytech mladých osob s mimořádným rizikem psychózy ve srovnání se zdravými kontrolami byly prokázány deficity ALA, EPA, ale i PUFA n-6 (48). Je zajímavé, že změny zastoupení mastných kyselin v membránách u schizofrenie významně korelovaly s tzv. negativními příznaky (anhedonie, oploštělé emoce, neschopnost smysluplného jednání) při hodnocení skóre PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) (49). Závažnost negativních příznaků korelovala pozitivně s mononenasycenými mastnými kyselinami eikosenovou (FA 20:1 n-9) a erukovou (FA 22:1 n-9), zatímco negativní korelace byly zaznamenány u dvou nasycených mastných kyselin (myristová, FA 14:0 a margarová, FA 17:0), u kyseliny nervonové (FA 24:1 n-9) a dokosapentaenové (FA 22:5 n-3). Zároveň u nemocných s predominantně negativními

příznaky ve srovnání s pacienty s predominantně pozitivními příznaky (např. halucinace či perzekuční bludy) byly celkový obsah mononenasycených mastných kyselin a poměr PUFA n-6/n-3 významně vyšší, zatímco celkové zastoupení PUFA n-3 bylo významně nižší (49). Na nízké hladině PUFA se může podílet i oxidační stres nebo jiné příčiny degradace PUFA (50). V jedné studii byla v kůře frontálních laloků schizofreniků nalezena zvýšená hladina mRNA delta-6 desaturázy (klíčový enzym, katalyzující přeměnu kyseliny α -linolenové na DHA), což by mohlo ukazovat na to, že mozek se snaží zvýšit tvorbu DHA při poklesu její hladiny (51). V membránových PL, obsahujících PUFA n-3, jsou ukotveny receptory pro neurotransmitery a pokles koncentrací těchto PL by mohl souviset s poruchami funkcí těchto receptorů (52,53). Obsah PUFA v membránách erytrocytů koreloval s některými funkcemi (např. sémantická paměť) schizofreniků (54). Někteří autoři našli za pomoci magnetické rezonanční spektroskopie (MRS) při použití značeného ^{31}P sníženou hladinu fosfomonoesterů a zvýšenou hladinu fosfodiesterů v temporálních a frontálních lalocích schizofreniků (55,56). S cílem příznivého ovlivnění onemocnění schizofrenií bylo zkoušeno léčebné podávání PUFA n-3. Výsledky jsou však značně nekonzistentní, často srovnatelné s placebem (57). Na druhou stranu byly zaznamenány příznivé efekty podávání PUFA n-3 u osob s tzv. s hraniční psychosou (*subthreshold psychosis*). Na druhou stranu byly zaznamenány příznivé efekty podávání PUFA n-3 u osob s tzv. s hraniční psychosou (*subthreshold psychosis*). Podávání PUFA n-3 v denní dávce 1,2 g po dobu 12 týdnů snížilo u 76 mladých jedinců (13 – 25 let) s hraniční psychosou kumulativní riziko progresu do manifestní psychózy během 12 měsíců o 22,6 % ($p = 0,007$) (58). V multicentrické, placebem kontrolované studii NEURAPRO bylo 304 jedincům, vysoce rizikových pro vznik psychózy („ultra-high risk“) podáváno denně 1,4 g PUFA n-3 a nepodařilo se prokázat významný efekt PUFA n-3. Na druhou stranu u 218 účastníků byly vyšetřeny jako biomarkery hladiny EPA, DHA a n-3 index a bylo zjištěno, že vzestupy koncentrací EPA, DHA a n-3 indexu (EPA + DHA v membránách erytrocytů, vyjádřený jako procento celkových mastných kyselin) predikovaly méně závažnou psychopatologii po 6 měsících sledování. Vyšší bazální hladiny a vzestupy n-3 indexu předpovídaly také celkové klinické zlepšení v 6. měsíci sledování (59). Ve velké metaanalýze randomizovaných kontrolovaných studií, zahrnující 1494 nemocných, kde byla sledována úspěšnost augmentační terapie omega-3 MK u pacientů se schizofrenií bylo zjištěno, že tato léčba upravovala obecnou psychopatologii a pozitivní příznaky, zatímco negativní nebyly významně zlepšeny. Významné zlepšení bylo pozorováno zejména u nemocných se závažnějším onemocněním a u těch, kterým byla podávána EPA v dávce větší než 1 g denně (60).

PUFA a Alzheimerova nemoc

Alzheimerova nemoc je neurodegenerativní onemocnění, charakterizované ukládáním amyloidu beta ($A\beta$) v mozku a hromaděním degenerovaného proteinu tau v neuronech a manifestující se klinicky syndromem demence (61). Amyloid beta je ukládán extracelulárně a vzniká z amyloidového prekurzorového proteinu (APP) (62). V patofyziologii AD hrají významnou roli lipidy. Základními stavebními kameny většiny lipidových tříd jsou mastné kyseliny. U nemocných s AD jsou přítomny významné změny ve složení volných mastných kyselin v séru ve smyslu poklesu podílu nenasycených k nasyceným (63). U těchto nemocných kromě poklesu volné DHA je prokazován i významný deficit DHA v mozkové tkáni, např. v hippocampu (64). Hladina volné AA v mozcích osob s AD je vyšší, ovšem koncentrace AA ve fosfolipidech, např. v hippocampu, klesá (66), což koresponduje s nálezem zvýšené aktivity fosfolipázy A2 kůře a v likvoru osob s AD (65). Fosfolipáza A2 odštěpuje z molekuly fosfolipidu acyl v poloze 2. Do patogenetických mechanismů AD zasahují zejména DHA a AA řadou pleiotropních účinků. V některých studiích, i když ne ve všech bylo zjištěno, že diety s vysokým obsahem PUFA n-3 snižují riziko vzniku

kognitivních poruch nebo demence (67,68). U jedinců s koncentracemi DHA ve fosfatidylcholinech plazmy v horním kvartilu, bylo riziko vývoje AD během devítiletého sledování ve srovnání s osobami s DHA v dolním kvartilu významně nižší (69). V membránách mozků nemocných s AD byly hladiny DHA sníženy (66). V metaanalýze studií, srovnávajících hladiny mastných kyselin u pacientů s AD, u osob s tzv. „mírnou kognitivní poruchou“ (MCI), která je považována za předchůdce AD a u osob kontrolních měli jedinci s MCI ve srovnání s kontrolami významně nižší DHA a vyšší hladiny kyseliny vakcénové (FA 18:1n-7). Pacienti s AD měli významně nižší (o 27 %) koncentrace celkových mastných kyselin. DHA byla významně snížena u osob s MCI i AD (70). V autoptickém materiálu frontálních kortexů nemocných s AD byl prokázán významně snížený obsah DHA a také monoenových mastných kyselin (zejména olejové) v „lipid rafts“ (71). U experimentálních zvířat podávání diety bohaté na DHA vedlo k významnému poklesu obsahu amyloidu-beta ($A\beta$) v mozku, hladiny $A\beta_{42}$ i k významné redukci rozsahu amyloidových plaků v mozku, zejména v hippokampu a parietálním kortexu (72). V patogenezi AD i dalších neurodegenerativních onemocnění hrají hlavní roli oxidační stres, zánět a apoptóza neuronů. DHA a její derivát neuroprotectin-1, NPD1 (10R,17S-dihydroxydocosa-4Z, 7Z, 11E, 13E, 15Z, 19Z-hexaenoic acid) působí v nervové buňce protizánětlivě, antioxidačně a antiapoptoticky různými mechanismy. Po uvolnění DHA ze struktury glycerofosfolipidu (zejména fosfatidyletanolaminu) působením PLA2 z ní účinkem 15-lipoxygenázy vzniká NPD1. NPD1 podporuje transkripci faktorů, inhibujících zánět, apoptózu a oxidační stres a snižuje aktivaci prozáněťových mediátorů z kaskády kyseliny arachidonové (73,74,75). Enzym 14-lipoxygenáza v makrofázích přeměňuje DHA na maresin 1 (7,14-dihydroxy DHA), který omezuje přísun leukocytů a stimuluje odstraňování apoptotického materiálu (76), jeho význam u AD ještě není prostudován. DHA aktivuje protein synapsin-1, který podporuje synaptickou plasticitu a kognitivní funkce svým působením na synapse v excitačních glutamatergických neuronech v hippokampu, uvolňování neurotransmitterů a udržování synaptických kontaktů (77). Nedávno byla publikována studie ukazující, že DHA moduluje metabolismus AA a snižuje oxidační stres v mikroglíích stimulovaných oligomerním $A\beta$ s následnou supresí syntézy inducibilní NO syntázy, tvorby ROS, aktivace TNF α upregulací antioxidační dráhy Nrf2/HO-1 (78).

AA je druhou nejvýznamnější mastnou kyselinou v mozku, pro jehož růst je společně s DHA nepostradatelná, má význam pro buněčné dělení i signalizaci. AA i DHA jsou v mozku převážně ve strukturách fosfolipidů a jsou významnými složkami struktur buněčných membrán nervových buněk (79). Z hlediska patogeneze AD má AA v mozku řadu pleiotropních účinků. Ovlivňuje plasticitu hipokampu a aktivací receptorů PPAR γ brání oxidačnímu stresu (80). AA ovlivňuje v mozku synaptické funkce. Volná AA je tvořena v postsynaptickém neuronu a jako retrográdní messenger zvyšuje uvolnění neuropřenašeče presynaptickým neuronem a podílí se na mechanismu dlouhodobé potenciace (*long-term potentiation*, LTP), která patří k mechanismům paměti a učení (81). Kyselina arachidonová působí ještě i dalšími mechanismy příznivě na procesy učení a paměti: volná AA podporuje inhibici voltážově řízených kaliových kanálů na presynaptických membránách a aktivují receptory SNARE (20). Na druhou stranu nadměrné uvolňování neuropřenašečů a udržování LTP má na paměťové funkce negativní vliv, což se může uplatňovat i u nemocných s AD (82). Např. AA uvolňovaná fosfolipázou A₂ z PL ovlivňuje synaptickou transmisí zprostředkovanou glutamát. AA amplifikuje vzestup kalciových iontů v neuronech po stimulaci NMDA (N-methyl-D-aspartát) receptorů (83). NMDA receptory hrají významnou roli v mechanismech LTP, kde ovlivněním synaptické účinnosti ve specifických oblastech mozku, zejména v hippokampu ovlivňuje procesy paměti a učení (84) a na druhé straně nadměrná stimulace NMDA receptorů např. nadbytkem glutamátu vede k poškození neuronů (glutamátová excitotoxicita) (85). U nemocných s AD je prokazována zvýšená aktivita

enzymu fosfolipázy A2 (PLA2), která katalyzuje štěpení mastných kyselin z glycerofosfolipidů v pozici *sn*-2, kde je typicky AA lokalizována. Řada derivátů AA působí jako mediátory neuroinflamace, která je klíčovým pochodem v patogeneze AD (86). Enzymy cyklooxygenáza 1 a 2 (COX-1 a COX-2) mění AA na prostaglandin H2, který je prostaglandin syntázami v různých tkáních přetvářen na specifické prostaglandiny (88). V neuronech mozků nemocných s AD byla prokázána zvýšená exprese COX-2, která v některých studiích korelovala s progresí onemocnění (87). V mikroglíích v okolí amyloidových plaků byla zase prokázána zvýšená exprese COX-1. Neuronální buňky tvoří PGD2, který je v gliích přetvářen na další prostaglandiny, zejména na PGE2 (82). PGE2 zvyšuje expresi genu pro amyloidový prekurzorový protein (APP) *in vitro*, což je spojeno s aktivací receptoru EP2 v mikroglíích (89). Modulace působení mediátorů zánětu by mohla mít potenciálně terapeutické účinky. Několik epidemiologických studií zjistilo, že dlouhodobé užívání nesteroidních protizánětlivých farmak (NSAIDs) může nositele alely ϵ 4 apolipoproteinu E (*APOE* ϵ 4) chránit proti vzniku AD. Biologické mechanismy tohoto jevu nejsou jasné a mohou zahrnovat protizánětlivé účinky NSAIDs nebo jejich schopnost interferovat s kaskádou β -amyloidu (A β). Na druhé straně dlouhodobé, placebem kontrolované klinické studie s neselektivními i COX-2 selektivními inhibitory u nemocných s mírnou až středně těžkou formou AD nepřinesly pozitivní výsledky. Je možné, že podávání NSAIDs může být prospěšné jen u velmi časných stádií (90). Nyní se pozornost obrací k možnosti příznivého ovlivnění AD působením na receptory PGE2 (91).

Podpořeno MZ ČR – RVO VFN64165 a Cooperatio 11158207034-2 gastroenterology

Literatura

1. **Sastry PS.** Lipids of nervous tissue: Composition and metabolism. *Prog Lipid Res* 1985; 24: 69-176.
2. **O'Brien J., Sampson EL.** Lipid composition of the normal human brain gray matter, white matter, and myelin. *J Lipid Res* 1956; 6: 537-544.
3. **Bazinet RP., Layé S.** Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. *Nat Rev Neurosci* 2014; 15(12): 771-785.
4. **McNamara RK., Carlson SE.** Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006; 75(4-5): 329-349.
5. **Renaud J., Thérien HM., Plouffe M., Martinoli MG.** La neuro-inflammation - Dr Jekyll ou Mr Hyde ? [Neuroinflammation: Dr Jekyll or Mr Hyde?]. *Med Sci (Paris)*. 2015; 31(11): 979-988.
6. **Joffre C.** Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism in the Brain and Brain Cells. In: C. Bosch-Bouju, S. Layé, & V. Pallet (Eds.). *Feed Your Mind - How Does Nutrition Modulate Brain Function throughout Life?* IntechOpen 2019.
7. **Joffre C., Grégoire S., De Smedt V., et al.** Modulation of brain PUFA content in different experimental models of mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2016; 114(1): 1-10.
8. **Chen CT., Green JT., Orr SK., Bazinet RP.** Regulation of brain polyunsaturated fatty acid uptake and turnover. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008; 79(3-5): 85-91.
9. **Falomir-Lockhart LJ., Cavazzutti GF., Giménez E., Toscani AM.** Fatty Acid Signaling Mechanisms in Neural Cells: Fatty Acid Receptors. *Front Cell Neurosci* 2019; 13: 162.

10. **Nguyen LN., Ma D., Shui G., et al.** Mfsd2a is a transporter for the essential omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid. *Nature* 2014; 509(7501): 503-506.
11. **Mallick R., Basak S., Duttaroy AK.** Fatty acids and evolving roles of their proteins in neurological, cardiovascular disorders and cancers. *Prog Lipid Res* 2021; 83: 101116.
12. **Zhao Y., Calon F., Julien C., et al.** Docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 induces neuronal survival via secretase- and PPAR γ -mediated mechanisms in Alzheimer's disease models. *PLoS One* 2011; 6(1): e15816.
13. **Palacios-Pelaez R., Lukiw WJ., Bazan NG.** Omega-3 essential fatty acids modulate initiation and progression of neurodegenerative disease. *Mol Neurobiol* 2010; 41(2-3): 367-374.
14. **Díaz M., Mesa-Herrera F., Marín R.** DHA and Its Elaborated Modulation of Antioxidant Defenses of the Brain: Implications in Aging and AD Neurodegeneration. *Antioxidants (Basel)* 2021; 10(6): 907.
15. **Bazan NG.** Docosanoids and elovanoids from omega-3 fatty acids are pro-homeostatic modulators of inflammatory responses, cell damage and neuroprotection. *Mol Aspects Med* 2018; 64: 18-33.
16. **Christie WW., Harwood JL.** Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators. *Essays Biochem* 2020; 64 (3): 401-421.
17. **Serhan CN., Krishnamoorthy S., Recchiuti A., Chiang N.** Novel Anti-Inflammatory -- Pro-Resolving Mediators and Their Receptors. *Curr Top Med Chem* 2011; 11(6): 629-647.
18. **Hindenes JO., Nerdal W., Guo W., et al.** Physical properties of the transmembrane signal molecule, sn-1-stearoyl 2-arachidonoylglycerol. Acyl chain segregation and its biochemical implications. *J Biol Chem* 2000; 275(10): 6857-6867.
19. **Tallima H., El Ridi R.** Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits - A review. *J Adv Res* 2017; 11: 33-41.
20. **Biringer RG.** The Role of Eicosanoids in Alzheimer's Disease. *Int J Environ Res Public Health* 2019; 16(14): 2560.
21. **Alessandri JM., Guesnet P., Vancassel S., et al.** Polyunsaturated fatty acids in the central nervous system: evolution of concepts and nutritional implications throughout life. *Reprod Nutr Dev* 2004; 44(6): 509-538.
22. **Haag M., Dippenaar NG.** Dietary fats, fatty acids and insulin resistance: short review of a multifaceted connection. *Med Sci Monit* 2005; 11(12): RA359-367.
23. **Signore APOD., Zhang F., Weng Z., et al.** Leptin neuroprotection in the CNS: mechanisms and therapeutic potentials. *J Neurochem* 2008; 106(5): 1977-1990.
24. **Vařeka T., Vecka M., Jiráček R., et al.** Plasma fatty acid profile in depressive disorder resembles insulin resistance state. *Neuro Endocrinol Lett* 2012; 33(Suppl.2): 83-86.
25. **Graham EA., Deschênes SS., Khalil MN., et al.** Measures of depression and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord* 2020; 265: 224-232.
26. **Hibbeln JR., Salem N. Jr.** Dietary polyunsaturated fatty acids and depression: when cholesterol does not satisfy. *Am J Clin Nutr* 1995; 62(1): 1-9.
27. **Edwards R., Peet M., Shay J.** Horrobin D.: Omega-3 polyunsaturated fatty acid levels in the diet and red blood cell membranes of depressed patients. *J Affect Disord* 1998; 48:149-155.
28. **Maes M., Christophe A., Delanghe J., et al.** Lowered omega3 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients. *Psychiatry Res* 1999; 85(3): 275-291.

29. **Mamalakis G., Kalogeropoulos N., Andrikopoulos N., et al.** Depression and long chain n-3 fatty acids in adipose tissue in adults from Crete. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60(7): 882-888.
30. **McNamara RK., Hahn CG., Jandacek R., et al.** Selective deficits in the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid in the postmortem orbitofrontal cortex of patients with major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 2007; 62(1): 17-24.
31. **Tiemeier H., van Tuijl HR., Hofman A., et al.** Plasma fatty acid composition and depression are associated in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(1): 40-46.
32. **Conklin SM., Gianaros PJ., Brown SM., et al.** Long-chain omega-3 fatty acid intake is associated positively with corticolimbic gray matter volume in healthy adults. *Neurosci Lett* 2007; 421(3): 209-212.
33. **Féart C., Peuchant E., Letenneur L., et al.** Plasma eicosapentaenoic acid is inversely associated with severity of depressive symptomatology in the elderly: data from the Bordeaux sample of the Three-City Study. *Am J Clin Nutr* 2008; 87(5): 1156-1162.
34. **Mamalakis G., Kiriakakis M., Tsibinos G., et al.** Depression and serum adiponectin and adipose omega-3 and omega-6 fatty acids in adolescents. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 85(2): 474-479.
35. **DeMar Jr. JC., Ma K., Bell JM., et al.** One generation of n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation increases depression and aggression test scores in rats. *J Lipid Res* 2006; 47(1): 172-180.
36. **Appleton KM., Rogers PJ., Ness AR.** Updated systematic review and meta-analysis of the effects of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on depressed mood. *Am J Clin Nutr* 2010; 91(3): 757-770.
37. **Husted KS., Bouzinova EV.** The importance of n-6/n-3 fatty acids ratio in the major depressive disorder. *Medicina (Kaunas)* 2016; 52(3): 139-147.
38. **Villas Boas GR., Boerngen de Lacerda R., Meirelles Paes M., et al.** Molecular aspects of depression: A review from neurobiology to treatment. *Eur J Pharmacol* 2019; 851: 99-121.
39. **Cernackova A., Durackova Z., Trebaticka J., Mravec B.** Neuroinflammation and depressive disorder: The role of the hypothalamus. *J Clin Neurosci* 2020; 75: 5-10.
40. **Sarris J., Murphy J., Mischoulon D., et al.** Adjunctive nutraceuticals for depression: a systematic review and meta-analyses. *Am. J. Psychiatry* 2016; 173(6): 575-587.
41. **Enger C., Weatherby L., Reynolds RF., et al.** Serious cardiovascular events and mortality among patients with schizophrenia. *J Nerv Ment Dis* 2004; 192(1): 19-27.
42. **Zeman M., Jirak R., Vecka M., et al.** N-3 polyunsaturated fatty acids in psychiatric diseases: mechanisms and clinical data. *Neuro Endocrinol Lett* 2012; 33(8): 736-748.
43. **Andreassen OA., Djurovic S., Thompson WK., et al.** Improved detection of common variants associated with schizophrenia by leveraging pleiotropy with cardiovascular-disease risk factors. *Am J Hum Genet* 2013; 92(2): 197-209.
44. **Mizuki Y., Sakamoto S., Okahisa Y., et al.** Mechanisms Underlying the Comorbidity of Schizophrenia and Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Neuropsychopharmacol* 2021; 24(5): 367-382.
45. **Mahalik SP., Evans DR.** Is schizophrenia a metabolic brain disorder? Membrane phospholipid dysregulation and its therapeutic implications. *Psychiatr Clin North Am* 2003; 26(1): 85-102.
46. **Horrobin DF.** The relationship between schizophrenia and essential fatty acid and eicosanoid metabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1992; 46(1): 71-77.
47. **Yao JK., Reddy RD.** Membrane pathology in schizophrenia: implication for arachidonic acid signaling. *ScientificWorldJournal* 2002; 2: 1922-1936.

48. **Rice SM., Schäfer MR., Klier C., et al.** Erythrocyte polyunsaturated fatty acid levels in young people at ultra-high risk for psychotic disorder and healthy adolescent controls. *Psychiatry Res* 2015; 228(1): 174-176.
49. **Kim SW., Jhon M., Kim JM., et al.** Relationship between Erythrocyte Fatty Acid Composition and Psychopathology in the Vienna Omega-3 Study. *PLoS One* 2016; 11(3): e0151417.
50. **McNamara RK., Jandacek R., Rider T., et al.** Abnormalities in the fatty acid composition of the postmortem orbitofrontal cortex of schizophrenic patients: gender differences and partial normalization with antipsychotic medications. *Schizophr Res* 2007; 91(1-3): 37-50.
51. **Liu Y., Jandacek R., Rider T., et al.** Elevated delta-6 desaturase (FADS2) expression in the postmortem prefrontal cortex of schizophrenic patients: relationship with fatty acid composition. *Schizophr Res* 2009; 109(1-3): 113-120.
52. **Horrobin DF.** The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr Res* 1998; 30(3): 193-208.
53. **du Bois TM., Deng C., Huang XF.** Membrane phospholipid composition, alterations in neurotransmitter systems and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29(6): 878-888.
54. **Condray R., Yao JK., Steinhauer SROV., et al.** Semantic memory in schizophrenia: association with cell membrane essential fatty acids. *Schizophr Res* 2008; 106(1): 13-28.
55. **Fukuzako H., Fukuzako T., Hashiguchi S., et al.** Changes in levels of phosphorus metabolites in temporal lobes of drug naive schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 1999; 156(8): 1205-1208.
56. **Keshavan MS., Stanley JA., Pettegrew JW.** Magnetic resonance spectroscopy in schizophrenia: methodological issues and findings--part II. *Biol Psychiatry* 2000; 48(5): 369-380.
57. **Ross BM., Seguin J., Sieswerda LE.** Omega-3 fatty acids as treatments for mental illness: which disorder and which fatty acid? *Lipids Health Dis* 2007; 6: 21.
58. **Amminger GP., Schäfer MR., Papageorgiou K., et al.** Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: a randomized, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry* 2010; 67(2): 146-54.
59. **Amminger GP., Nelson B., Markulev C., et al.** The NEURAPRO Biomarker Analysis: Long-Chain Omega-3 Fatty Acids Improve 6-Month and 12-Month Outcomes in Youths at Ultra-High Risk for Psychosis. *Biol Psychiatry* 2020; 87(3): 243-252.
60. **Goh KK., Chen CY., Chen CH., Lu ML.** Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids supplements on psychopathology and metabolic parameters in schizophrenia: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Psychopharmacol* 2021; 35(3): 221-235.
61. **Jiráček R., Koukolík F.** Demence. *Neurobiologie, klinický obraz, terapie*. 1. vyd. Praha: Galén 2004, 335 s.
62. **Cummings JL.** Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2004; 351(1): 56-67.
63. **Cunnane SC., Schneider JA., Tangney C., et al.** Plasma and brain fatty acid profiles in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2012; 29(3): 691-697.
64. **Fonteh AN., Cipolla M., Chiang AJ., et al.** Polyunsaturated fatty acid composition of cerebrospinal fluid fractions shows their contribution to cognitive resilience of a presymptomatic Alzheimer's disease cohort. *Front Physiol* 2020; 11: 83.
65. **Fonteh AN., Chiang AJ., Arakaki X., et al.** Accumulation of cerebrospinal fluid glycerophospholipids and sphingolipids in cognitively healthy participants with

- alzheimer's biomarkers precedes lipolysis in the dementia stage. *Front Neurosci* 2020; 14: 611393.
66. **Prasad MR., Lovell MA., Yatin M., et al.** Regional membrane phospholipid alterations in Alzheimer's disease. *Neurochem Res* 1998; 23(1): 81-88.
 67. **Johnson EJ., Schaefer EJ.** Potential role of dietary n-3 fatty acids in the prevention of dementia and macular degeneration. *Am J Clin Nutr* 2006; 83(6 Suppl.): 1494S-1498S.
 68. **Sydenham E., Dangour AD., Lim WS.** Omega 3 fatty acid for the prevention of cognitive decline and dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 6: CD005379.
 69. **Schaefer EJ., Bongard V., Beiser AS., et al.** Plasma phosphatidylcholine docosahexaenoic acid content and risk of dementia and Alzheimer disease: the Framingham Heart Study. *Arch Neurol* 2006; 63(11): 1545-1550.
 70. **Hosseini M., Poljak A., Braidy N., et al.** Blood fatty acids in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: A meta-analysis and systematic review. *Ageing Res Rev* 2020; 60: 101043.
 71. **Martín V., Fabelo N., Santpere G., et al.** Lipid alterations in lipid rafts from Alzheimer's disease human brain cortex. *J Alzheimers Dis* 2010; 19(2): 489-502.
 72. **Lim GP., Calon F., Morihara T., et al.** A diet enriched with the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid reduces amyloid burden in an aged Alzheimer mouse model. *J Neurosci* 2005; 25(12): 3032-3040.
 73. **Jicha GA., Markesbery WR.** Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging* 2010; 5: 45-61.
 74. **Palacios-Pelaez R., Lukiw WJ., Bazan NG.** Omega-3 essential fatty acids modulate initiation and progression of neurodegenerative disease. *Mol Neurobiol* 2010; 41(2-3): 367-374.
 75. **Asatryan A., Bazan NG.** Molecular mechanisms of signaling via the docosanoid neuroprotectin D1 for cellular homeostasis and neuroprotection. *J Biol Chem* 2017; 292(30): 12390-12397.
 76. **Serhan CN., Yang R., Martinod K., et al.** Maresins: novel macrophage mediators with potent antiinflammatory and proresolving actions. *J Exp Med* 2009; 206(1): 15-23.
 77. **Sambra V., Echeverria F., Valenzuela A., et al.** Docosahexaenoic and Arachidonic Acids as Neuroprotective Nutrients throughout the Life Cycle. *Nutrients* 2021; 13(3): 986.
 78. **Geng X., Yang B., Li R., et al.** Effects of Docosahexaenoic Acid and Its Peroxidation Product on Amyloid- β Peptide-Stimulated Microglia. *Mol Neurobiol* 2020; 57(2): 1085-1098.
 79. **Hadley KB., Ryan AS., Forsyth S., et al.** The Essentiality of Arachidonic Acid in Infant Development. *Nutrients* 2016; 8(4): 216.
 80. **Wang ZJ., Liang CL., Li GM., et al.** Neuroprotective effects of arachidonic acid against oxidative stress on rat hippocampal slices. *Chem Biol Interact* 2006; 163(3): 207-217.
 81. **Nishizaki T., Nomura T., Matsuoka T., Tsujishita Y.** Arachidonic acid as a messenger for the expression of long-term potentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 254(2): 446-449.
 82. **Thomas MH., Pelleieux P., Vitale N., Olivier JL.** Arachidonic acid in Alzheimer's disease. *J Neurol Neuromed* 2016; 1(9): 1-6.
 83. **Goracci G., Ferrini M., Nardicchi V.** Low molecular weight phospholipases A2 in mammalian brain and neural cells: roles in functions and dysfunctions. *Mol Neurobiol* 2010; 41(2-3): 274-289.
 84. **Bliss TV., Collingridge GL.** A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993; 361(6407): 31-39.

85. **Zhou Q., Sheng M.** NMDA receptors in nervous system diseases. *Neuropharmacology* 2013; 74: 69-75.
86. **Halliday G., Robinson SR., Shepherd C., Kril J.** Alzheimer's disease and inflammation: a review of cellular and therapeutic mechanisms. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27(1-2): 1-8.
87. **Fujimi K., Noda K., Sasaki K., et al.** Altered expression of COX-2 in subdivisions of the hippocampus during aging and in Alzheimer's disease the Hisayama Study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007; 23(6): 423-431.
88. **Moses GS., Jensen MD., Lue LF., et al.** Secretory PLA2-IIA: A new inflammatory factor for Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2006; 3: 28.
89. **Pooler AM., Arjona AA., Lee RK., Wurtman RJ.** Prostaglandin E2 regulates amyloid precursor protein expression via the EP2 receptor in cultured rat microglia. *Neurosci Lett* 2004; 362(2): 127-130.
90. **Imbimbo BP., Solfrizzi V., Panza F.** Are NSAIDs useful to treat Alzheimer's disease or mild cognitive impairment? *Front Aging Neurosci* 2010; 2: 19.
91. **Frisardi V., Panza F., Seripa D., et al.** Glycerophospholipids and glycerophospholipid-derived lipid mediators: a complex meshwork in Alzheimer's disease pathology. *Prog Lipid Res* 2011; 50(4): 313-330.

ÚČAST GENETICKÝCH FAKTORŮ NA FENOTYPICKOU MANIFESTACI ATEROGENNÍ DYSLIPIDÉMIE

PARTICIPATION OF GENETIC FACTORS IN THE PHENOTYPIC MANIFESTATION OF ATHEROGENIC DYSLIPIDEMIA

A. Žák¹, B. Staňková^{1,2}, M. Zeman¹, A. Slabý¹, M. Vecka^{1,2}

¹IV. interní klinika, ²Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN
v Praze

Úvod

Chorobné stavy spojené s inzulinovou rezistencí (IR), jako je abdominální obezita, metabolický syndrom (MetS) či diabetes mellitus 2. typu (DM2T), charakterizuje přítomnost aterogenní dyslipidémie (ADL). Pro označení této poruchy se používají také synonyma jako aterogenní lipoproteinový fenotyp, adipozopatická dyslipidémie, lipidová triáda či non-LDL dyslipidémie. Z hlediska etiologie a patogeneze je ADL totožná s diabetickou dyslipidémií, i když v případě diabetické dyslipidémie je tíže poruchy nápadněji vyjádřena; postižení mají vyšší hladiny triglyceridů (TG) a zastoupení malých denzních LDL (sd-LDL, small dense LDL) spojené s výraznějším poklesem HDL-C (Ramasamy, 2016).

ADL představuje nejvýznamnější rizikový faktor aterosklerotických kardiovaskulárních chorob u osob s abdominální obezitou, MetS a DM2T (Hoogeveen et al., 2014; Taskinen a Borén, 2015). Přítomnost ADL poukazuje též na zvýšené kardiovaskulární riziko pacientů, u nichž standardní algoritmy (jako je např. Framingham Risk Assessment, Reynolds Risk Score, Coronary Artery Calcification Calculator) selhávají a podhodnocují kardiovaskulární riziko (Jellinger, 2018; Lechner et al., 2020). ADL lze prokázat až u 70 % u osob s předčasným infarktem myokardu, u DM2T, nealkoholové steatózy jater, familiární kombinované hyperlipidémie i polygenní HTG. ADL je nejčastějším metabolickým rizikovým faktorem u osob s předčasnou ischemickou chorobou srdeční (Superko, 1996).

ADL charakterizují zvýšené lačné a postprandiální koncentrace TG, pokles HDL-C a normální nebo lehce zvýšené koncentrace LDL-C s převahou sd-LDL. Hypertriglyceridémie (HTG) je důsledkem zvýšené sekrece VLDL-TG z jater a zpomaleného katabolismu lipoproteinů bohatých na TG (TRL, triglyceride rich lipoproteins).

Plazmatické koncentrace lačných TG je surogátním markerem postprandiálních TG a TRL. Postprandiální hodnoty TG, které jsou v průměru o 0,3 mmol/l vyšší než hodnoty lačné, sestávají z TG obsažených v chylomikronech (CM), jejich remnantních částicích (CMR, tj. β -VLDL), lipoproteinech o velmi nízké hustotě (very low density lipoproteins, VLDL) a lipoproteinech o střední hustotě (intermediate density lipoproteins, IDL).

Na základě nových nálezů experimentálního a klinického výzkumu se předpokládá, že TRL mají minimálně stejný aterogenní potenciál jako LDL (Aguilar-Salinas a Chapman, 2020; Lechner et al., 2020; Farnier et al., 2021).

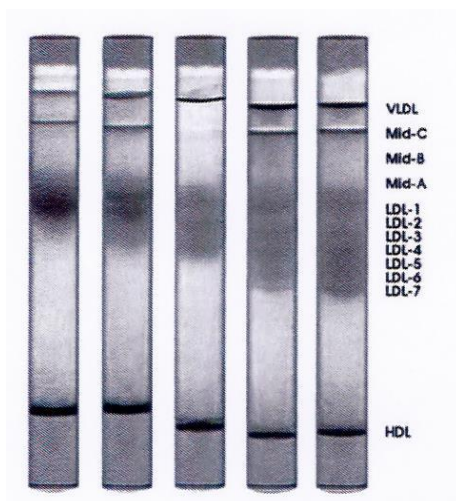
Celková prevalence ADL v běžné populaci není přesně známa. Španělská průřezová studie prokázala přítomnost ADL u 6 % ze 79 000 zdravých respondentů středního věku (Cabrera et al., 2014). Ve studii EURIKA byla u 7600 zdravých osob středního věku s alespoň jedním kardiovaskulárním rizikovým faktorem zjištěna HTG u 21 %, pokles HDL-C u 22 % a HTG s poklesem HDL-C u 10 % vyšetřených (Halcox et al., 2017). Ve Skandinávii se prevalence ADL u diabetiků pohybuje mezi 38 a 58 % (Taskinen a Borén, 2015), rovněž autoři z jižní Asie udávají výskyt ADL u diabetiků mezi 25 a 60 % (Flowers et al., 2013).

Charakteristika poruchy

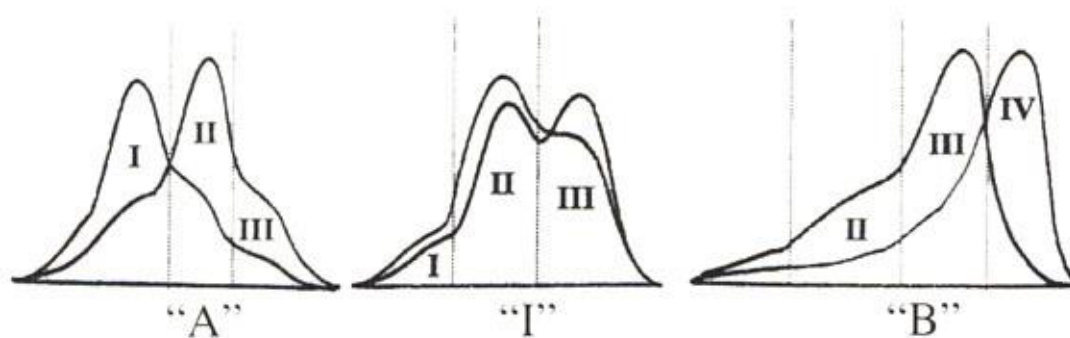
ADL je definována zvýšenou lačnou a postprandiální hypertriglyceridemií, sníženou plazmatickou koncentrací HDL-C a zvýšeným zastoupením sd-LDL (synonymum *fenotyp B* velikosti LDL). Triáda složená z HTG, poklesu HDL-C a převahy sd-LDL je nezbytnou podmínkou pro diagnózu ADL.

Jako hypertriglyceridémie se podle současných kritérií označují plazmatické koncentrace TG nalačno $\geq 1,7$ mmol/l. Za hraniční hodnotu normy pro HDL-C byla stanovena koncentrace 1,3 mmol/l u žen a 1,0 mmol/l u mužů. *Fenotyp B* velikosti LDL charakterizuje převaha subfrakcí III. a IV. třídy LDL s velikostí částic $< 25,5$ nm a hustotou 1,038 - 1,065 g/ml (Ramasamy, 2016). Z laboratorního hlediska pak zvýšení koncentrace cholesterolu v subfrakcích LDL-III a LDL-IV ($> 1,55$ mmol/l), určené diskontinuální gelovou elektroforézou, svědčí pro převahu sd-LDL. Obrázek 1 ukazuje diskontinuální elektroforézu nativních plazmatických lipoproteinů (Lipoprint firmy Quantimetrix). Na základě poměru subfrakcí LDL je vzorku přiřazen jeden ze tří fenotypů velikosti LDL. Na obrázku 2 jsou znázorněny zjednodušeně fenotypy velikosti LDL. *Fenotyp A* velikosti LDL charakterizuje převaha subfrakcí LDL-I a LDL-II a je typický pro zdravé, premenopauzální ženy. *Intermediární fenotyp* velikosti LDL je určen převahou subfrakce LDL-II a LDL-III a je typický pro zdravé muže; *fenotyp B* velikosti LDL je vyznačen predominancí subfrakcí LDL-III a LDL-IV. Tento fenotyp je příznačný pro aterosenní a diabetickou dyslipidémii a další stavy spojené s přítomností sd-LDL (Žák, 2016).

Obrázek 1



Obrázek 2



Etiologie a patogeneza

Klíčovou úlohu v patogenezi ADL má HTG. Druhé dvě komponenty, tj. nízká plazmatická koncentrace HDL-C a převaha sd-LDL, vznikají druhotně, v kauzální souvislosti s HTG. ADL je typickou dyslipidémií smíšené etiologie. Na fenotypické expresi HTG se podílí polygenní dědičnost v interakci s faktory zevního prostředí.

Základní metabolickou poruchou je jaterní nadprodukce „velkých“ VLDL1 (Sf 100-400) při nezměněné sekreci „malých“ VLDL2 (Sf 60–100) a zpomalené odbourávání (clearance) TRL lipolytickým systémem periferních tkání (Björnson et al., 2017). Mnohorozměrná analýza kinetických studií prokázala, že rychlost sekrece VLDL1 je určena obsahem TG v játrech a koncentrací jaterní glukózy (Taskinen a Borén, 2015; Nordestgaard, 2016). Intenzita syntézy jaterních TG a sekrece VLDL1 závisí na těchto faktorech: (i) zvýšeném přítoku volných mastných kyselin (free fatty acids, FFA) do jater v důsledku insulinové rezistence tukové tkáně, (ii) chronické stimulaci lipogeneze *de novo*, (iii) vychytávání remnantních TRL (tj. CMR a IDL) a množství tuku ve stravě (Taskinen a Borén, 2015). U pacientů s nealkoholovou steatózou jater, která je jaterní komponentou MetS, bylo prokázáno, že na celkovém množství TG v játrech, které vysoce koreluje se sekrecí TG z jater, má hlavní podíl lipolýza tukové tkáně (z 60 %) a lipogeneze *de novo* (z 20 - 30 %) a jen 10 - 15 % TG pochází z exogenních tuků transportovaných do jater cestou remnantních TRL (Taskinen a Borén, 2015). Vystupňovaná lipolýza tukové tkáně souvisí kauzálně s insulinovou rezistencí tukové tkáně, lipogeneze *de novo* je určena insulinovou rezistencí jater a hyperglykemií. Příspěvek FFA, uvolněných z viscerální tukové tkáně činí 20 - 30 %, což je 1,5–2násobné množství, než by odpovídalo podílu viscerální tukové tkáně na celkovém obsahu tuku v organismu (Žák, 2016).

Chronická hyperinzulinémie spolu se zvýšenou glykemií jsou hlavními činiteli zodpovědnými za stimulaci lipogeneze *de novo*. Syntéza TG z nelipidových substrátů u zdravých osob přispívá k syntéze jaterních TG z 5 %. Inzulínová rezistence, resp. hyperinzulinémie a hyperglykémie, aktivují signalizační kaskádu, jejíž součástí je ChREBP (carbohydrate response element binding protein), LXR (liver X receptor) a SREBP-1c (sterol regulatory element binding protein 1c), které zvyšují expresi enzymů syntézy TG (syntáza mastných kyselin; stearoyl-CoA desaturáza) a urychlují sekreci VLDL a TG z jater do krve (Ramasamy, 2016; Simon et al., 2016; Hirano, 2018).

V tabulce 1 jsou uvedeny základní mechanismy působení insulinu a dopady insulinové rezistence na metabolismus VLDL a koncentrace plasmatických TG.

Tabulka 1 Působení insulinu a insulinové rezistence na koncentrace VLDL a TG

Metabolická odchylka	Insulin	Insulinová rezistence	Metabolismus VLDL
tok FFA do jater	↓	↑	↑ sekrece → HTG
degradace apoB	↑	↓**	↑ sekrece → HTG
DNL	↑	↑ (nepřímo)*	↑ sekrece → HTG
MTP	↓	↑	↑ sestavení VLDL → ↑ sekrece → HTG
LPL	↑	↓	↓ clearance VLDL → HTG
exprese apoC3	↓	↑	↓ clearance VLDL → HTG

Zkratky: FFA – volné (nesterifikované) mastné kyseliny (free fatty acids); ↓ – inhibice/pokles; ↑ – vzestup/zvýšení; → – následek; apoB – apolipoprotein B; DNL – *de novo* lipogeneze; MTP – mikrozomální TG transferový protein; LPL – lipoproteinová lipáza; apoC3 – apolipoprotein C3; */ stimulace prostřednictvím hyperinzulinémie a hyperglykémie; **/ spoluúčast zvýšených FFA (Hirano, 2018; Žák, 2016)

Dalším patogenetickým mechanismem hypertriglyceridémie je snížený katabolismus TRL. Zejména v postprandiálním období dochází ke zpomalení katabolismu VLDL1 a remnantních chylomikronů, které kompetují o lipoproteinovou lipázu (LPL) tukové tkáně a kosterního svalstva. Za hlavní příčinu snížené aktivity LPL se považuje zvýšená plazmatická koncentrace FFA (Björnson et al., 2017).

Nicméně výslednou plazmatickou koncentraci TG ovlivňuje interakce velkého počtu negenetických činitelů (především metabolických stresorů) s genetickými faktory (polygenní dědičnost).

Mezi nejvýznamnější metabolicky stresory patří zvýšený příjem volných tuků, pozitivní energetická bilance vedoucí k nadváze/obezitě, příjem potravin vyšším glykemickým indexem (GI > 65), zvýšená konzumace alkoholu a jednoduchých cukrů, zejména fruktózy (resp. sacharózy).

Při vzniku HTG se uplatňuje interakce mezi negenetickými činiteli a řadou běžných variant genů/polymorfismů s nízkým účinkem na koncentrace TG a/nebo heterozygotní varianty vzácných genů (mutace) asociovaných s monogenní hypertriglyceridémií (Guardiola et al., 2015; Dron a Hegele, 2016; Rygiel, 2018; Mach et al., 2020; Farnier et al., 2021).

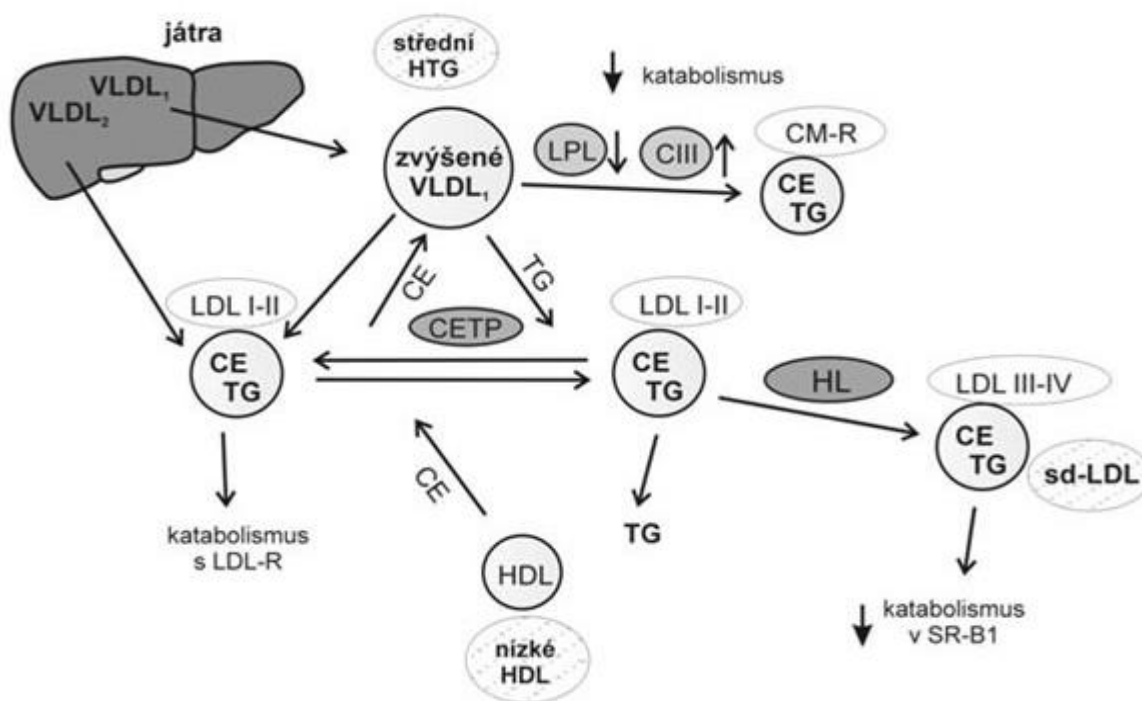
Druhou komponentou ADL je snížení koncentrace HDL-C. Mezi hodnotami plazmatické koncentrace TG (nalačno i postprandiálně) a HDL-C byly zjištěny významné negativní korelace. Epidemiologické studie prokázaly, že nízké koncentrace HDL-C jsou spojeny se zvýšeným rizikem aterosklerotických kardiovaskulárních chorob, přičemž pokles HDL-C o 0,03 mmol/l zvýší kardiovaskulární riziko u mužů dvojnásobně a u žen trojnásobně (Motazacker et al., 2015). Zhruba 80 % případů poklesu HDL-C má spojitost s inzulinovou rezistencí (viscerální obezita, MetS, DM2T). Částice HDL vznikají v játrech (75 %), ve stěně tenkého střeva (20 %) a v periferních tkáních (5 %). Lipoproteiny HDL jsou nezbytné pro zpětný transport cholesterolu (reverse cholesterol transport, RCT), dále mají antioxidační a protizánětlivé účinky a podílejí se na udržování fyziologických funkcí endotelu (především syntéze oxidu dusnatého). Pro ADL je charakteristická vystupňovaná výměna esterů cholesterolu v subfrakci HDL₂ za TG z TRL. Směnu neutrálních lipidů, tj. esterů cholesterolu (CE) za TG zprostředkuje transferový protein pro CE (cholesterylester transfer protein, CETP), jehož aktivita je u stavů spojených s IR rovněž zvýšená. Vznikají tak částice HDL bohaté na TG a ochuzené o CE, což se projeví poklesem plazmatické koncentrace HDL-C, zpomalením RCT i narušením pleiotropních funkcí HDL. U stavů s inzulinovou rezistencí se významně uplatňuje endocytóza celých částic HDL zbařených lipidů a jejich desintegrace v lysozomech (holoparticle HDL uptake). Jedinci s ADL mají ve srovnání se zdravými osobami významně zvýšený katabolismus apolipoproteinu A1 (apoA1). V plazmě přítomné molekuly apoA1, volné nebo spojené s malým množstvím lipidů, přestupují v ledvinách do glomerulárního filtrátu a jsou degradovány tubulárními buňkami (Ramasamy, 2016).

Třetí složkou ADL je *fenotyp B* velikosti LDL, tj. převaha malých denzních LDL (sd-LDL), které jsou obsaženy ve III. a IV. subfrakci LDL. Ve srovnání s částicemi LDL převažujícími u zdravých jedinců (I. a II. subfrakce) mají sd-LDL odlišné fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti: jsou méně odolné vůči oxidaci, snáze prostupují cévní stěnou, vykazují toxické působení na endotel (inhibují syntázu NO a zvyšují expresi cytoadhezních molekul), v subintimálním prostoru vychytávají monocyty a makrofágy a udržují subklinický zánět v cévní stěně. Částice sd-LDL přítomné v cirkulaci mají nižší afinitu k jaterním LDL receptorům a jsou vychytávány především „zametacími“ (scavenger) receptory. Převaha sd-LDL má, obdobně jako pokles HDL-C, přímou kauzální spojitost s HTG.

K hlavním metabolickým prediktorům *fenotypu B* patří kromě HTG (v důsledku vyšší koncentrace VLDL1) zvýšená aktivita jaterní lipázy (HL, hepatic lipase) a vzestup aktivity/koncentrace CETP. Částice VLDL1 dosahují maximální koncentrace v plazmě v pozdním postprandiálním období a delší dobu setrvávají v cirkulaci. Nepřímo úměrně

k plazmatické koncentraci TG se uplatňuje výměna TG pocházejících z VLDL1 nebo z jejich remnantních částic za CE v LDL, kterou zprostředkuje CETP. Částice LDL bohaté na TG jsou preferenčním substrátem jaterní lipázy (HL, hepatic lipase). Po hydrolyze TG obsažených v LDL vznikají sd-LDL, s vysokým poměrem apoB100 k cholesterolu.

Obrázek 3 zjednodušeně ukazuje patogenetický mechanismus vzniku sd-LDL (Žák, 2016).



Genetické faktory a aterogenní dyslipidémie

ADL je typickou dyslipidémií smíšené etiologie, jejích základní složkou je HTG. Další dvě komponenty aterogenní dyslipidemické triády – pokles HDL-C a převaha sd-LDL – vznikají sekundárně v důsledku HTG.

Genetické faktory ovlivňující charakter ADL lze didakticky rozdělit do několika skupin: (i) geny s vazbou na HTG a ovlivňující tíži/stupeň HTG; (ii) geny ovlivňující resorpci mastných kyselin; (iii) geny regulující insulinovou rezistenci tukové tkáně a uvolňování FFA; (iv) geny regulující jaterní lipázu a CETP s vazbou na koncentraci sd-LDL; (vi) geny náhodně asociované s ADL (tj. bez primární vazby na HTG, pokles HDL-C či převahu sd-LDL).

Genetické faktory a hypertriglyceridémie

HTG je komplexní multifaktoriální porucha, s kauzální složkou zevního prostředí a stejně významnou genetickou (v převažujícím počtu případů polygenní) predispoziční komponentou.

Polygenní HTG mají komplexní genetickou příčinu. Fenotypickou expresi, tj. koncentraci TG, v těchto případech ovlivňuje řada běžných variant genů (polymorfismů) s nízkým účinkem na koncentrace TG a/nebo heterozygotní varianty vzácných genů (mutace) asociovaných s monogenní HTG (viz níže).

Nejčastěji byly zjišťovány heterozygotní konstituce genů, které významně ovlivňují rychlost katabolismu CM a VLDL (viz níže). Jde o geny regulující lipoproteinovou lipázu (*LPL*), apolipoproteiny apoCII (*APOC2*), apoAV (*APOA5*), lipázový maturační faktor (*LMF1*), glykofosfoinositol-anchored HDL binding protein 1 (*GPIHBP1*) a glycerol-3 fosfát-

dehydrogenázu typu 1 (*GPD1*) a další (Dron a Hegele, 2016; Rygiel, 2018; Mach et al., 2020).

Běžné varianty genů pro *GCKR*, *APOB*, *TRIB1*, *ANGPT3* a *ChREBP* mají silnou vazbu s HTG. Jako další lokusy kandidátních genů zvyšující náchylnost k HTG byly identifikovány geny pro *LPL*, *APOE2/E2*, *APOC2*, *APOC3*, *APOA5*, *LMF1*, *GPIHBP1*, *GPD1* a genový cluster *APOA1/APOC3/APOA4*, *APOA5* (Sahebkar et al. 2014).

Ve většině případů se jedná o mutace nebo polymorfismy genů spojené se ztrátou funkce (LOF, loss of function). Předpokládá se, že kumulace běžných variant genů regulujících katabolismus TG dosažením kritického počtu alel spojených se ztrátou funkce (LOF, loss of function) predisponuje nositele k manifestaci HTG. Dispozici ke vzniku HTG udává „genetické rizikové skóre“, které vyjadřuje, kolikrát je proband náchylnější ke vzniku HTG ve srovnání s kontrolní populací. Polygenní HTG mají, ve srovnání s osobami s normálními koncentrací TG, zpravidla 2,5 – 3 x vyšší genetické rizikové skóre pro vznik HTG. Fenotypická exprese polygenní HTG není objasněna zhruba u poloviny nemocných. U zbývajících nemocných jí lze vysvětlit stejnou měrou klinickými ukazateli a kumulací běžných variant genů; pouze u malého počtu postižených mutacemi čtyř vzácných genů (Hegele et al., 2014).

Polygenní HTG se vyskytuje ve dvou klinických variantách – jako prostá primární HTG a jako smíšená hyperlipidémie. Prostá primární hypertriglyceridémie je onemocnění, které bylo dříve označováno jako familiární hypertriglyceridémie nebo HLP typu IV. Patofyziologickým podkladem je nadprodukce „velkých“ VLDL, nebo zpomalení jejich katabolismu. Předpokládá se, že dispozice k vzniku je důsledkem akumulace patologických alel, které zvyšují riziko HTG a jsou popsány výše (*APOA5*, *LPL*, *GCKR*, *ChREBP*) (Dron et al., 2019; Dron a Hegele, 2020). Koncentrace TG se pohybují mezi 3 - 10 mmol/l, častý je pokles HDL-C. Primární prostá HTG je často asociována s obezitou/nadváhou (s abdominální distribucí tukové tkáně), poruchami glukózové homeostázy (IFG, IGT, DM2), hypertenzí a hyperurikémií. Postižení mají zvýšené riziko aterosklerotických KVO, insulinové rezistence a poruch glukózové homeostázy. Častým nálezem je nealkoholová (makrovezikulární) steatóza jater. Většina osob s touto poruchou splňuje kritéria MetS i ADL.

Smíšená hyperlipidémie je klinickou jednotkou, která se dříve nazývala HLP V. typu. Charakteristické je zvýšení koncentrace „velkých“ VLDL1 a současná přítomnost chylomikronů a jejich remnantů v plasmě po celonočním lačnění. Porucha manifestuje v dospělosti. Pravděpodobně se jedná o onemocnění totožné s primární prostou HTG, která je zhoršena přítomností metabolických stresorů. Některé práce uvádějí, že HLP fenotypu se liší od prosté primární HTG v důsledku přítomnosti dalších variant genů pro *TRIB1*, *ANGPT3* a *APOE4/E4* (Gotoda et al., 2012; Brahm a Hegele, 2015). Hranice mezi fenotypem HLP IV a V nejsou ostré. Je velmi pravděpodobné, že jeden genotyp se může manifestovat ve dvou fenotypových variantách. Jako vyvolávající příčina přechodu fenotypu IV do fenotypu V se udává pozitivní energetická bilance, přírůstek hmotnosti, konzumace etylalkoholu, léčba estrogény, hypothyreóza nebo dekompenzace DM2T.

V tabulce 2 je uveden přehled genů asociovaných s hypertriglyceridemií a ADL.

Faktory regulující aktivitu jaterní lipázy a transferového proteinu esterů cholesterolu

Centrální úlohu v remodelaci LDL a HDL má jaterní lipáza a (HL) a transferový protein esterů cholesterolu (CETP). Vyšší aktivita HL a CETP je spojena s převahou sd-LDL a nízkou koncentrací HDL₂-C. Aktivita HL a CETP jsou ovlivněny geneticky, dietou, pohlavím (nízké aktivity jsou vlastní pre-menopauzálním ženám), viscerální obezitou a inzulinovou rezistencí. Ukazuje se, že aktivita HL je podmíněná z 30 - 40 % geneticky. V promotoru genu HL byly prokázány čtyři polymorfismy (*-250G/T*, *-514 C/T*, *-710 T/C* a *-763A/G*), které jsou ve vazebné nerovnováze, přičemž alela *-514T* je asociována s nízkou aktivitou HL

Tabulka 2 Přehled genů asociovaných s hypertriglyceridémií a aterogenní dyslipidémií

Gen	Mutace	Mechanismus účinku
<i>LPL</i>	LOF	pokles aktivity LPL
<i>APOC2</i>	LOF	kofaktor aktivující LPL
<i>APOC3</i>	GOF	kofaktor inhibující LPL
<i>APOA5</i>	LOF	faktor aktivující LPL
<i>ANGPTL3</i>	GOF	faktor inhibující LPL
<i>ANGPTL4</i>	GOF	faktor inhibující LPL
<i>LMF1</i>	LOF	faktor nezbytný pro sestavení a maturaci LPL, HL a EL
<i>MTTP</i>	GOF	maturace VLDL, uplatnění pouze za předpokladu IR
<i>TRIB1</i>	GOF	nejasný mechanismus, zapojen do lipogeneze
<i>ANGPLT3/-4</i>	GOF	sekreční proteiny inhibující LPL a EL
<i>GPIHBP1</i>	LOF	protein abluminálně vázající LPL a umožňující její optimální funkci
<i>GPD1</i>	GOF	stimulace lipogeneze
<i>GCKR</i>	GOF	stimulace vede k poklesu glukózy a vzestupu syntézy TG
<i>ChREBP</i>	GOF	indukce DNL
<i>E2/E2</i>		varianta odpovědná za pokles vazby TRL na LDLR a LRP
<i>PPARα</i>	LOF	pokles indukce β -oxidace a ω -oxidace mastných kyselin
<i>E4/E4</i>		varianta odpovědná za dietně indukovanou DLP
<i>FABP-2</i>	GOF	varianty asociované se zvýšenou resorpcí FA, obezitou a DM2T

Zkratky a vysvětlivky: LOF – mutace se ztrátou funkce; GOF – mutace se získáním funkce; TRL – lipoproteiny bohaté na TG; apoC2 – apolipoprotein C2; LMF1 – lipázový maturační faktor typu 1, LPL - lipoproteinová lipáza, HL - jaterní lipáza, EL – endoteliální lipáza; IR – insulinová rezistence; TRIB1 – tribbles homolog 1, ANGPLT3/-4 – Angiopoietin-like protein 3/-4; GPIHBP1 – glykofosfoinositol-anchored HDL binding protein 1; GPD1 – glycerol-3 fosfát-dehydrogenáza typu 1; GCKR – glukokinázový regulátor typu 1; ChREBP – carbohydrate response element binding protein; DNL – de novo lipogeneze; LDLR – LDL-receptor; LRP – LDL receptor related protein; PPAR α – receptor aktivovaný peroxizomálními proliferátory typu α .; FABP-2 – střevní isoforma bílkoviny vázající mastné kyseliny (Doolittle et al., 2010; Smalinskiene et al., 2013, Žák et al., 2007; Žák et al., 2008; Furuhasi et al., 2008, Zahedi et al., 2021)

současně s příznivým metabolickým profilem, tj. s přítomností velkých vzlínavých LDL a vyšší koncentrací HDL₂-C (Deeb et al., 2003; Deeb et al., 2004). Maďarští autoři identifikovali 10 haplotypů v genu *CETP* a 6 haplotypů v genu *HL*, z nichž tři H v *CETP* genu měly vazbu na HDL-C a 3 H v *CETP* a tři v *HL* pak vazbu na koncentraci plazmatických TG (Piko et al., 2020).

Závěr

Aterogenní dyslipidémie je dyslipidémií smíšené etiologie, kterou charakterizuje triáda hypertriglyceridémie, poklesu HDL-C a převahou zastoupení malých denzních LDL. Vyskytuje se u stavu spojených s insulinovou rezistencí, jako je diabetes mellitus 2. typu a metabolický syndrom. Klíčovou úlohu v patogenezi aterogenní dyslipidémie má hypertriglyceridémie, přičemž nízká plazmatická koncentrace HDL-C a převaha malých denzních LDL vznikají druhotně, a to v kauzální souvislosti s hypertriglyceridémií. Základní metabolickou poruchou je jaterní nadprodukce triglyceridů a zpomalené odbourávání lipoproteinů bohatých na triglyceridy lipolytickým systémem periferních tkání. Hypertriglyceridémie má komplexní genetickou příčinu. Fenotypickou expresí, tj. koncentrací

TG, v těchto případech ovlivňuje řada běžných variant genů (polymorfismů) s nízkým účinkem na koncentrace TG a/nebo heterozygotní varianty vzácných genů (mutace) asociovaných s monogenní HTG (*LPL*, *APOC2*, *APOC3*, *APOA5*, *ANGPTL3*, *-4*, a další).

Podpořeno MZ ČR – RVO VFN64165 a Cooperatio 11158207034-2 gastroenterology

Reference

Aguilar-Salinas CA., Chapman MJ. Remnant lipoproteins: Are they equal to or more atherogenic than LDL? *Curr Opin Lipidol* 2020; 31: 132-139.

Björnson E., Adiels M., Taskinen MR., et al. Kinetics of plasma triglycerides in abdominal obesity. *Curr Opin Lipidol* 2017; 28: 11-18.

Brahm AJ., Hegele RA. Chylomicronaemia - current diagnosis and future therapies. *Nat Rev Endocrinol* 2015; 11: 352-362.

Cabrera M., Sánchez-Chaparro MA., Valdivielso P. et al. Prevalence of atherogenic dyslipidemia: Association with risk factors in Spanish working population. ICARIA Study. *Atherosclerosis* 2014; 235: 562-569.

Deeb SS., Zambon A., Carr MC., et al. Hepatic lipase and dyslipidemia: interactions among genetic variants, obesity, gender and diet. *J Lipid Res* 2003; 44: 1279-1286.

Deeb SS., Peng R. The C-514T polymorphisms in human hepatic lipase gene promoter diminishes its activity. *J Lipid Res* 2004; 41: 155-158.

Doolittle MH., Ehrhardt N., Péterfy M. Lipase maturation factor 1 (Lmf1): Structure and role in lipase folding and assembly. *Curr Opin Lipidol* 2010; 21: 198-203.

Dron JS., Hegele RA. Genetics of lipid and lipoprotein disorders and traits. *Curr Genet Med Rep* 2016; 4: 130-141.

Dron JS., Hegele RA. Genetics of Hypertriglyceridemia. *Front Endocrinol* 2020; 11: 455.

Dron JS., Wang J., Cao H., et al. Severe hypertriglyceridemia is primarily polygenic. *J Clin Lipidol* 2019; 13: 80-88.

Farnier M., Zeller M., Masson D., et al. Triglycerides and risk of atherosclerotic cardiovascular disease. An update. *Arch Cardiovasc Dis* 2021; 114: 132-139.

Flowers E., Singh K., Molina C., et al. MicroRNA associated with atherogenic dyslipidemia in South Asian men. *Int J Cardiol* 2013; 168: 4884-4885.

Furuhasi M., Hotamisligil GS. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Discov* 2008; 7: 489.

Gotoda T., Shirai K., Ohta T., et al. Diagnosis and Management of Type I and Type V hyperlipoproteinemia. *J Atheroscler Thromb* 2012; 19: 1-12.

Guardiola M., Cofán M., de Castro-Oros I., et al. APOA5 variants predispose hyperlipidemic patients to atherogenic dyslipidemia and subclinical Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2015; 240: 98-104.

Halcox JP., Banegas JR., Roy C., et al. Prevalence and treatment of atherogenic dyslipidemia in the primary prevention of cardiovascular disease in Europe: EURIKA, a cross-sectional observational study. *BMC Cardiovasc Disord* 2017; 17: 160.

Hegele RA., Ginsberg HN., Chapman MJ. The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: implications for definition, Diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2: 655-666.

Hirano T. Pathophysiology of diabetic dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2018; 25: 771-782.

Hoogeveen RC., Gaubatz JW., Sun W., et al. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34: 1069-1077.

- Jellinger PS.** American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology Management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease clinical practice guidelines. *Diabetes Spectr* 2018; 31: 234-245.
- Lechner K., McKenzie AL., Kränkel N., et al.** High-risk atherosclerosis and metabolic phenotype: The roles of ectopic adiposity, atherogenic dyslipidemia, and inflammation. *Metab Syndr Relat Disord* 2020; 18: 176-185.
- 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: 111-188.
- Motazacker MM., Kastelein J., Kuivenhoven JA.** Impact of rare and common genetic variants on lipoprotein metabolism. In: Ballantyne CM. (ed.). *Clinical Lipidology. A companion to Braunwald's Heart Disease*. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier, 2015; 68-77.
- Nordestgaard BG.** Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease: New insight from epidemiology, genetics, and biology. *Circ Res* 2016; 118: 547-563.
- Piko P., Fiala S., Werissa NA., et al.** The effect of haplotypes in the CETP and LIPC genes on the triglycerides to HDL-C ratio and its components in the Roma and Hungarian general populations. *Genes* 2020; 11: 56.
- Ramasamy I.** Update on the molecular biology of dyslipidemias. *Clin Chim Acta* 2016; 454: 143-185.
- Rygiel K.** Hypertriglyceridemia – Common causes, prevention and treatment strategies. *Curr Cardiol Rev* 2018; 14: 67-76.
- Sahebkar A., Chew GT., Watts GF.** Recent advances in pharmacotherapy for hypertriglyceridemia. *Prog Lipid Res* 2014; 56: 47-66.
- Simon TG., Corey KE., Chung RT., et al.** Cardiovascular risk reduction in patients with nonalcoholic fatty liver disease: The potential role of ezetimibe. *Dig Dis Sci* 2016; 61: 3425-3435.
- Smalinskiene A., Petkeviciena D., Jureniene K., et al.** Association between *APOE*, *SCARB1*, *PPARα* polymorphisms and serum lipids in a population of Lithuanian adults. *Lipids Health Dis* 2013; 12: 120.
- Superko HR.** Beyond LDL cholesterol reduction. *Circulation* 1996; 94: 2351-2354.
- Taskinen MR., Borén J.** New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2015; 239: 483-495.
- Zahedi AS., Akbarzadeh M., Sedaghati-Khayat B., et al.** *GCKR* common functional polymorphism are associated with metabolic syndrome and its components: a 10-year retrospective cohort study in Iranian adults. *Diabetol Metab Syndr* 2021; 13: 20.
- Žák A., Tvrzická E., Vecka M., et al.** Severity of metabolic syndrome unfavorable influences oxidative stress and fatty acid metabolism in men. *Tohoku J Exp Med* 2007; 212: 359-371.
- Žák A., Jáchymová M., Tvrzická E., et al.** The influence of polymorphisms of -493G/T MTP gene promoter and metabolic syndrome on lipids, fatty acids and oxidative stress. *J Nutr Biochem* 2008; 19: 634-641.
- Žák A.** Obezita a poruchy lipidového metabolismu. In: Kunešová M. (ed.) *Základy obezitologie*. Praha: Galén, 2016; 31-47.

RECENTNÍ POZNATKY O VÝZNAMU DESATURÁZ MASTNÝCH KYSELIN (FADS)

RECENT FINDINGS ON THE IMPORTANCE OF FATTY ACID DESATURASES (FADS)

A. Žák¹, A. Slabý¹, J. Macášek¹, M. Vecka^{1,2}, M. Zeman¹, B. Staňková^{1,2}

¹IV. interní klinika, ²Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

Metabolický syndrom (MetS) a další kardio-metabolická onemocnění, jako je obezita, diabetes mellitus 2. typu (DM2T), nealkoholová steatóza jater (NAFLD) a kardiovaskulární onemocnění (KVO) jsou charakterizována sníženou koncentrací vícenenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LC-PUFA) v plasmě a tělesných tkáních (Das, 2010; Lattka et al., 2010; Merino et al., 2011). Předpokládá se, že biologické účinky LC-PUFA jsou zprostředkovány dostupností a působením PUFA s ≥ 20 atomy uhlíku a ≥ 3 dvojnými vazbami v pentadienové uspořádání (Lattka et al., 2009).

LCPUFA vykazují širokou škálu regulačních, autokrinních a parakrinních účinků.

LC-PUFA jsou důležitou součástí buněčných membrán, jejich přítomnost ovlivňuje fluiditu a permeabilitu buněčných membrán i funkci s membránami asociovaných bílkovin. LC-PUFA jsou substrátem pro syntézu eikosanoidů a dokosanoidů, substrátem syntézy specializovaných pro-resolučních mediátorů, čímž řídí prozánětlivé a protizánětlivé pochody, dále působí jako signální molekuly (eikosanoidy, endokanabinoidy) a podílejí se na regulaci genové exprese. Ta je důsledkem působení LC-PUFA jako ligandů transkripčních faktorů - jako jsou peroxizomálními proliferátory aktivované receptory (PPAR α , PPAR γ), nukleární faktor kappa B (NF κ B) a SREBP-1c (sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1), které regulují lipidový a sacharidový metabolismus a ovlivňují zánětlivou reakci (Panda et al., 2022; Glaser et al., 2010; Reynolds et al., 2020).

Předpokládá se, že LC-PUFA hrají důležitou roli při řízení syntézy a oxidace nasycených mastných kyselin (SFA, saturated fatty acids) a monoenoových mastných kyselin (MFA, monoenic fatty acids), dále snižují obsah tuku v játrech a zlepšují nepříznivý lipidový profil plasmu, který je asociován s kardiovaskulárním rizikem (Reynolds et al., 2020; Jump, 2011). Složení mastných kyselin (FA, fatty acids) plasmatických lipidů a buněčných membrán závisí na jejich příjmu potravou a endogenním metabolismu FA, které jsou dále ovlivněny řadou faktorů, jako je věk, pohlaví, zdravotní stav jedince, respektive jeho komorbidit, a genetickými činiteli (Lankinen et al., 2018). LC-PUFA mohou být přijímány v preformované podobě, nebo mohou být syntetizovány endogenně (sledem desaturací a elongací) z prekurzorových esenciálních mastných kyselin (EFA, essential fatty acids) – z kyseliny linolové (LA, 18:2n-6) a z kyseliny α -linolenové (ALA, 18:3n-3). Aktivity desaturáz mastných kyselin (FADS, fatty acid desaturase) – FADS1 a FADS2 – spolu s elongázami mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (ELOVL) významně ovlivňují profil FA v různých tělesných kompartmentech. Delta-5 desaturáza (D5D, FADS1) and delta-6 desaturáza (D6D, FADS2) jsou klíčové enzymy nezbytné pro syntézu LC-PUFA (Nakamura et al., 2004; Lee et al., 2016). D5D a D6D katalyzují konverzi n-6 and n-3 PUFA na FA s delším řetězcem a více dvojnými vazbami. Prostřednictvím série desaturací a elongací, která se uskutečňuje především v játrech, je mateřská n-6 PUFA, LA, konvertována na kyselinu arachidonovou (AA, arachidonic acid, 20:4n-ž), zatímco mateřská n-3 PUFA, ALA, je

konvertována na eikosapentaenovou kyselinu (EPA, 20:5n-3) a dokosahexaenovou kyselinu (DHA, 22:6n-3) (Lattka et al., 2010; Merino et al., 2011; Glaser et al., 2010). Na obrázku 1 je zjednodušeně uvedeno schéma konverze LA a ALA na LC-PUFA.

Aktivity D5D (FADS1) a D6D (FADS2) závisí nejen na genetickém pozadí, ale i na negenetických faktorech. Expresi D5D je zvyšována insulinem a inhibována beztukovou dietou, exogenním (dietním) cholesterolem, *trans*-monoenoovými mastnými kyselinami, n-3 PUFA, glukagonem, adrenalinem a glukokortikoidy. Expresi D6D zvyšuje deficit esenciálních mastných kyselin, tj. LA a ALA, nedostatek Zn, Mg a pyridoxinu. Inhibiční vliv na D6D je vyvolán lačněním, abusem etylalkoholu, příjmem cholesterolu a nasycených tuků potravou, příjmem PUFA (řady n-3 i n-6), glukagonem, glukokortikoidy a tyroxinem (Kremmyda et al., 2011).

Předpokládá se, že polymorfismy *FADS1/FADS2* genů jsou nejvýznamnějším faktorem přispívajícím k rozptylu hladin LC-PUFA fosfolipidů plasmy a buněčných membrán. Rozptyl koncentrací fosfolipidů plasmy a buněčných membrán, který je závislý na genetických faktorech se pohybuje od 28 % pro AA do 10 % pro prekurzorové mastné kyseliny (Glaser et al., 2010). Podrobnější data zveřejnily výsledky Framinghamské studie; koncentrace mastných kyselin ve fosfolipidech erytrocytárních membrán prokázaly silnou asociaci ke genovým oblastem *FADS* a *ELOVL*. Polymorfismy v genech *FADS* a *ELOVL* přispívají z 8 - 14 % k rozptylu koncentrací tří mastných kyselin (AA, LA, a olejové kyseliny, 18:1-9) a z 1 - 4 % k rozptylu dalších čtyř mastných kyselin (ALA; dokosatetraenová kyselina, GLA, gama-linolenová, a kyselina dokosapentaenová, DPA). Polymorfismy *FADS* a *ELOVL* odpovídají za 53% rozptyl koncentrací kyseliny-dihomo- γ -linolenové (DHGLA, 20:3n-6) (Tintle et al., 2015).

D5D a D6D jsou kódovány geny *FADS1* a *FADS2*, které jsou mapovány u lidí na chromosom 11q12.2-13.1 (obrázek 2). Aktivity D5D i D6D jsou těsně asociovány s obsahem LC-PUFA a tyto aktivity mají vztah k výše zmíněným kardiometabolickým chorobám. Studie kandidátních genů i celogenomové asociční studie (GWAS) popsaly asociaci mezi minoritními alelami jedno-nukleotidových polymorfismů (SNPs) v genech *FADS1/FADS2* a nízkou koncentrací LC-PUFA v tělesných kompartmentech. Ve většině případů nosiči minoritních alel vykazují zvýšené koncentrace substrátů desaturace (LA and ALA) a snížené hladiny desaturačních produktů (AA, EPA, and DHA) (Merino et al., 2011; Lankinen et al., 2019). Pouze u polymorfismu *FADS2* rs968567 (C > T) byla minoritní alela asociována s vyšší promotorovou aktivitou D6D (Bokor et al., 2010). GWASs prokázaly přítomnost dvou běžných haplotypů *FADS* (A a D), které odlišně řídí syntézu LC-PUFA syntézu. Zatímco haplotyp D je asociován se zvýšenou schopností syntetizovat LC-PUFA, tj. AA a EPA, haplotyp A má opačné vlastnosti z hlediska kapacity syntézy LC-PUFA. Varianty genů *FADS1/FADS2* (a jejich rekonstruovaných haplotypů) vykazovaly silnou asociaci nejen s koncentracemi AA, ale i LA, ALA, eikosadienové kyseliny (20:2n-6), dihomo-gama-linolenové kyseliny (DGLA, 20:3n-6), dokosapentaenové kyseliny (DPA, 20:5n-3) a dokosahexaenové kyseliny (DHA, 22:6n-3) (Ameur et al., 2012; Malerba et al., 2008; Schaeffer et al., 2006).

Polymorfismy genů *FADS1/FADS2* jsou silně asociovány s řadou fenotypů, znaků a chorobných jednotek jako je obezita, dyslipidémie, MetS, DM2T, koronární choroba srdeční, cévní onemocnění mozku a NAFLD (Lankinen et al., 2018; Czumaj et al., 2020; Brayner et al., 2018; Yang et al., 2015).

Některé studie prokázaly signifikantní asociace mezi genotypem a fenotypem při studiu variant genů *FADS1/FADS2* (rs174547, rs174575) s aterogenní dyslipidémií (zvýšení

koncentrace plasmatických triglyceridů a pokles HDL-cholesterolu) (Kathiresan et al., 2009; Nakyama et al., 2010; Standl et al., 2012; Park et al., 2019; Marklund et al. 2018; Ching et al., 2019). Varianta *FADS1* genu (rs174547) je asociována se zvýšeným rizikem rozvoje MetS (Park et al., 2019). Čínští autoři našli signifikantní asociace mezi variantou *FADS1* rs174547 a MetS, a jednotlivými komponentami MetS (obvod pasu, TK, nízká koncentrace HDL-C) (Ching et al., 2019).

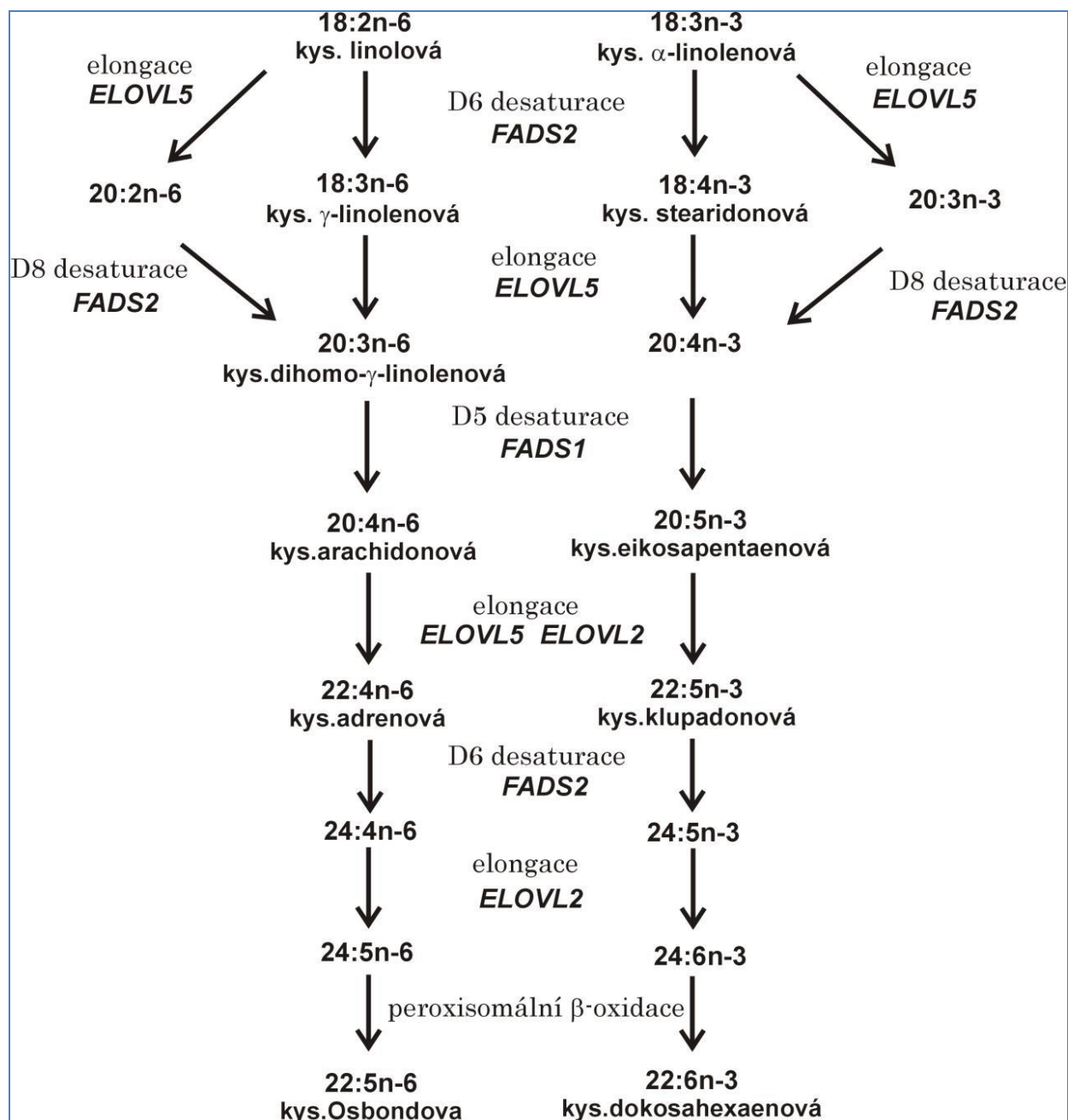
U diabetiků byly minoritní alely variant genu *FADS2* (rs174575) spojeny s vyšší koncentrací plasmatického celkového - a LDL-C, i vyššími hladinami triglyceridů (Shetty et al., 2021). Dále některé studie popsaly vazbu řady polymorfismů *FADS* (rs174537, rs174575, rs174547, rs174576, rs174616, and rs174550) s velikostí lipoproteinů LDL, obezitou, abdominální distribucí tukové tkáně a subklinickým zánětem (Stančáková et al., 2011; Kwak et al., 2011; Roke et al., 2013; Vaitinen et al., 2016; Rifkin et al., 2021; Meuronen et al., 2022). Varianty genů *FADS1/FADS2* (rs174537, rs174575) jsou také spojeny s vyšší intenzitou oxidačního stresu (Lankinen et al., 2019; Kwak et al., 2011; Rifkin et al., 2021; Meuronen et al., 2022). Jiné studie prokázaly asociaci mezi variantami genů *FADS1/FADS2* (rs174546, rs174550, rs174537, rs174575, a rs174570) a insulinovou sensitivitou, hladinami krevní glukózy a rizikem DM2T (Kröger et al., 2012; Mansouri et al., 2018; Chen et al., 2019).

Spojení mezi polymorfismy *FADS1/FADS2* (rs1535, rs174547, rs174546, rs174537, rs174549, a rs9957425) a zvýšeným krevním tlakem, (respektive arteriální hypertenzí) a obezitou byla popsána dalšími autory (Dumont et al., 2018; Khamlaoui et al., 2020; Maguolo et al., 2021; Metelcová et al., 2021; de la Garza Puentes et al., 2017). Rovněž asociace mezi polymorfismy *FADS1/FADS2* a komplexními chorobami (MetS, ICHS, cévní onemocnění mozku) byly předmětem zkoumání řady autorů. Minoritní alela *FADS1* rs174537 byla spojena s DM2T v iránské populaci (Mansouri et al., 2018), zatímco varianty *FADS1* rs174556 a *FADS2* rs174617 měly vazbu s akutními koronárním syndromem (Song et al., 2013).

Genotyp GG varianty *FADS1* (rs174537) zvyšoval riziko rozvoje DM2T a koronární choroby srdeční (Li et al., 2016). T alely a TT genotyp variant *FADS1/FADS2* byl asociován s koronární chorobou srdeční a ischemickým cévním onemocněním mozku. Nositelé minoritní alely varianty rs174547 vykazovali nižší riziko ischemické příhody mozkové (Yang et al., 2015; Yuan et al., 2019). Varianta *FADS1* (rs174537), která je spojena s vyšší frekvencí GG genotypu u Afro-Američanů, je charakterizována vyššími hladinami AA, které vedou ke zvýšené úrovni subklinického zánětu a zvyšují riziko rozvoje DM2T (Sergeant et al., 2012).

Předpokládá se, že vyšší obsah ALA tukové tkáně v kombinaci s variantou *FADS2* (rs3834458 T/-) se uplatňuje v rozvoji MetS v důsledku snížené konverze ALA na EPA (Truong et al., 2009). Konečně, elevace agregovaných delta desaturáz představují nezávislý rizikový faktor ischemické choroby srdeční. Agregované desaturázové aktivity jsou asociovány s rizikovými alelami *FADS1/FADS2*, prozánětlivým profilem PUFA a korelují s hladinami hs-CRP (Martinelli et al., 2008).

Obrázek 1 Elongace a desaturace vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 a n-6



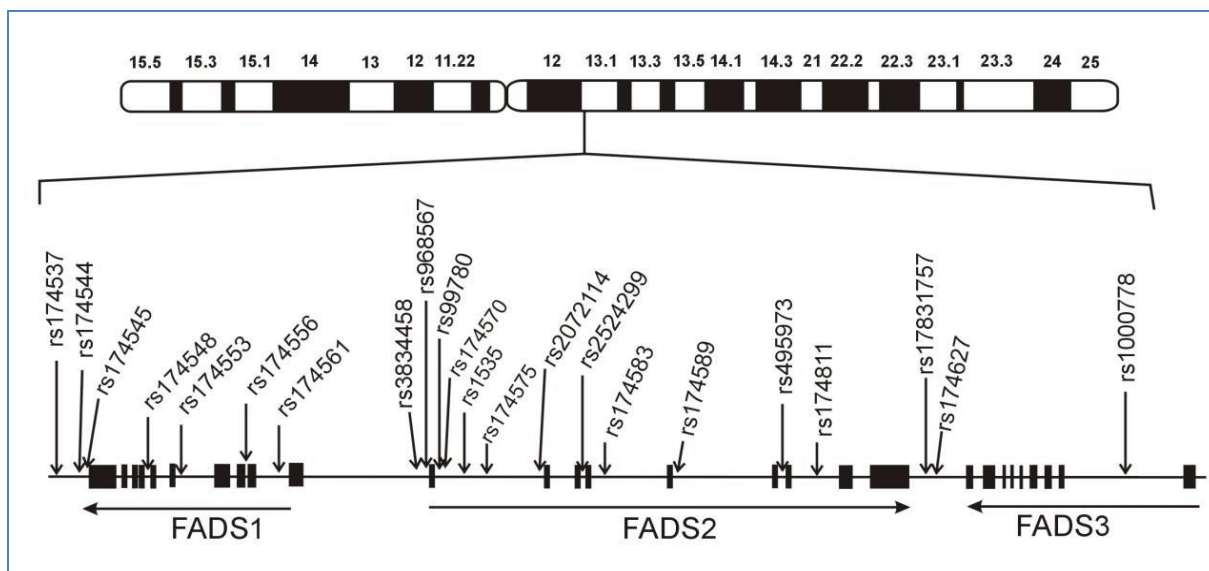
Legenda a zkratky k obrázku:

Označení mastné kyseliny – počet atomů uhlíků: počet dvojných vazeb, n – počet atomů uhlíku od metylového konce mastné kyseliny k nejbližší dvojně vazbě.

FADS1 – desaturáza mastných kyselin 1 (Fatty acid desaturase 1)

FADS2 – desaturáza mastných kyselin 2 (Fatty acid desaturase 2)

Obrázek 2 Schéma genového clusteru desaturáz mastných kyselin a některých klinicky relevantních polymorfismů



Legenda a zkratky k obrázku:

Obrázek znázorňuje lidský cluster genů *FADS* s umístěním některých studovaných polymorfismů, které jsou asociovány s hladinami mastných kyselin a fosfolipidů. Volně podle 7.

Zkratky: *FADS* – desaturáza mastných kyselin (Fatty acid desaturase); *rs* číslo – číslo označující konkrétní jednonukleotidový polymorfismus (SNP) uvedený v příslušných databázích

Podpořeno MZ ČR – RVO VFN64165 a Cooperatio 11158207034-2 gastroenterology

Reference

- Ameur A., Enroth S., Johansson A., et al.** Genetic adaptation of fatty-acid metabolism: A human-specific haplotype increasing the biosynthesis of long-chain omega-3 and omega-6 fatty acids. *Am J Hum Genet* 2012; 90: 809-820.
- Bokor S., Dumont J., Spinneker A., et al.** Single nucleotide polymorphisms in the *FADS* gene cluster are associated with delta-5 and delta-6 desaturase activities estimated by serum fatty acid ratios. *J Lipid Res* 2010; 51: 2325-2333.
- Brayner B., Kaur G., Keske MA., Livingstone KM.** *FADS* Polymorphism, Omega-3 Fatty Acids and Diabetes Risk: A Systematic Review. *Nutrients* 2018; 10: 758.
- Czumaj A., Sledzinski T.** Biological Role of Unsaturated Fatty Acid Desaturases in Health and Disease. *Nutrients* 2020; 12: 356.
- Das UN.** *Metabolic Syndrome Pathophysiology: The Role of Essential Fatty Acids*, 1st ed. Ames IA USA: Wiley-Blackwell, 2010; 268 s.
- Dumont J., Goumidi L., Grenier-Boley B., et al.** Dietary linoleic acid interacts with *FADS1* genetic variability to modulate HDL-Cholesterol and obesity-related traits. *Clin Nutr* 2018; 37: 1683-1689.

- de la Garza Puentes A., Montes Goyanes R., Chisaguano Tonato AM., et al.** Association of maternal weight with FADS and ELOVL genetic variants and fatty acid levels - The PREOBE follow-up. *PLoS ONE* 2017; 12: e0179135.
- Glaser C., Heinrich J., Koletzko B.** Role of FADS1 and FADS2 polymorphisms in polyunsaturated fatty acid metabolism. *Metabolism* 2010; 59: 993-999.
- Chen Y., Estampador AC., Keller M., et al.** The combined effects of FADS gene variation and dietary fats in obesity-related traits in a population from the far north of Sweden: The GLACIER Study. *Int J Obes* 2019; 43: 808-820.
- Ching YK., Chin YS., Appukutty M., et al.** Interaction of Dietary Linoleic Acid and - Linolenic Acids with rs174547 in FADS1 Gene on Metabolic Syndrome Components among Vegetarians. *Nutrients* 2019; 11: 1686.
- Jump DB.** Fatty acid regulation of hepatic lipid metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2011; 14: 115-120.
- Kathiresan S., Willer CJ., Peloso GM., et al.** Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet* 2009; 41: 56-65.
- Khamlaoui W., Mehri S., Hammami S., et al.** Association Between Genetic Variants in FADS1-FADS2 and ELOVL2 and Obesity, Lipid Traits, and Fatty Acids in Tunisian Population. *Clin Appl Thromb Hemost* 2020; 26: 1-9.
- Kremmyda LS., Tvrzická E., Staňková B., Žák A.** Fatty acids as biocompounds: Their role in human metabolism, health and disease: A review. Part 2: Fatty acid physiological roles and applications in human health and disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2011; 155: 195-218.
- Kröger J., Schulze MB.** Recent insights into the relation of 5 desaturase and 6 desaturase activity to the development of type 2 diabetes. *Curr Opin Lipidol* 2012; 23: 4-10.
- Kwak JH., Paik JK., Kim OY., et al.** FADS gene polymorphisms in Koreans: Association with ω 6 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids, lipid peroxides, and coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2011; 214: 94-100.
- Lankinen M., Uusitupa M., Schwab U.** Genes and Dietary Fatty Acids in Regulation of Fatty Acid Composition of Plasma and Erythrocyte Membranes. *Nutrients* 2018; 10: 1785.
- Lankinen MA., Fauland A., Shimizu, B-I., et al.** Inflammatory response to dietary linoleic acid depends on FADS1 genotype. *Am J Clin Nutr* 2019; 109: 165-175.
- Lattka E., Illig T., Heinrich J., Koletzko B.** FADS Gene Cluster Polymorphisms: Important Modulators of Fatty Acid Levels and Their Impact on Atopic Diseases. *J Nutrigenet Nutr* 2009; 2: 119-128.
- Lattka E., Illig T., Koletzko B., Heinrich J.** Genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster as related to essential fatty acid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2010; 21: 64-69.
- Lee JM., Lee H., Kang S., Park WJ.** Fatty Acid Desaturases, Polyunsaturated Fatty Acid Regulation, and Biotechnological Advances. *Nutrients* 2016; 8: 23.
- Li S-W., Wang J., Yang Y., et al.** Polymorphisms in FADS1 and FADS2 alter plasma fatty acids and desaturase levels in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *J Transl Med* 2016; 14: 79.

- Malerba G., Schaeffer L., Xumerle L., et al.** SNPs of the FADS gene cluster are associated with polyunsaturated fatty acids in a cohort of patients with cardiovascular disease. *Lipids* 2008; 43: 289-299.
- Maguolo A., Zusi C., Giontella A., et al.** Influence of genetic variants in FADS2 and ELOVL2 genes on BMI and PUFAs homeostasis in children and adolescents with obesity. *Int J Obes* 2021; 45: 56-65.
- Mansouri V., Javanmard SH., Mahdavi M. Tajedini MH.** Association of polymorphism in Fatty Acid Desaturase Gene with the Risk of Type 2 Diabetes in Iranian Population. *Adv Biomed Res* 2018; 7: 98.
- Marklund M., Morris AP., Mahajan A., et al.** Genome-Wide Association Studies of Estimated Fatty Acid Desaturase Activity in Serum and Adipose Tissue in Elderly Individuals: Associations with Insulin Sensitivity. *Nutrients* 2018; 10: 1791.
- Martinelli N., Girelli D., Malerba G., et al.** FADS genotypes and desaturase activity estimated by the ratio of arachidonic acid to linoleic acid are associated with inflammation and coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 941-949.
- Merino DM., Johnston H., Clarke S., et al.** Polymorphisms in FADS1 and FADS2 alter desaturase activity in young Caucasian and Asian adults. *Mol Genet Metab* 2011; 103: 171-178.
- Metelcová T., Vaňková M., Zamrazilová H., et al.** FADS1 gene polymorphism(s) and fatty acid composition of serum lipids in adolescents. *Lipids* 2021; 56: 499-508.
- Meuronen T., Lankinen MA., Kärkkäinen O., et al.** FADS1 rs174550 genotype and high linoleic acid diet modify plasma PUFA phospholipids in a dietary intervention study. *Eur J Nutr* 2022; 61: 1109-1120.
- Nakamura MT., Nara TY.** Structure, function, and dietary regulation of delta6, delta5, and delta9 desaturases. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 345-376.
- Nakayama K., Bayasgalan T., Tazoe F., et al.** A single nucleotide polymorphism in the FADS1/FADS2 gene is associated with plasma lipid profiles in two genetically similar Asian ethnic groups with distinctive differences in lifestyle. *Hum Genet* 2010; 127: 685-690.
- Panda C., Varadharaj S., Voruganti VS.** PUFA, genotypes and risk for cardiovascular disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids* 2022; 176: 102377.
- Park S., Kim DS., Kang S.** Carrying minor allele of FADS1 and haplotype of FADS1 and FADS2 increased the risk of metabolic syndrome and moderate but not low fat diets lowered the risk in two Korean cohorts. *Eur J Nutr* 2019; 58: 831-842.
- Reynolds LM., Dutta R., Seeds MC., et al.** FADS genetic and metabolomic analyses identify the D5 desaturase (FADS1) step as a critical control point in the formation of biologically important lipids. *Sci Rep* 2020; 10: 15873.
- Rifkin SB., Shrubsole MJ., Cai Q., et al.** Differences in erythrocyte phospholipid membrane long-chain polyunsaturated fatty acids and the prevalence of fatty acid desaturase genotype among African Americans and European Americans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2021; 164: 102216.
- 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 Leukot Essent Fatty Acids* 2013; 89: 257-263.

- 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/Metabolic Syndrome. *Br J Nutr* 2012; 107: 547-555.
- Shetty SS., Kumari NS.** Fatty acid desaturase 2 (FADS 2) rs174575 (C/G) polymorphism, circulating lipid levels and susceptibility to type-2 diabetes mellitus. *Sci Rep* 2021; 11: 13151.
- Schaeffer L., Gohlke H., Müller M., et al.** Common genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster and their reconstructed haplotypes are associated with the fatty acid composition in phospholipids. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 1745-1756.
- Song Z., Cao H., Qin L., Jiang Y.** A Case-Control Study between Gene Polymorphisms of Polyunsaturated Fatty Acid Metabolic Rate-Limiting Enzymes and Acute Coronary Syndrome in Chinese Han Population. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 928178.
- Stančáková A., Paananen J., Soininen P., et al.** Effects of 34 risk loci for type 2 diabetes or hyperglycemia on lipoprotein subclasses and their composition in 6,580 nondiabetic Finish men. *Diabetes* 2011; 60: 1608-1616.
- Standl M., Lattka E., Stach B., et al.** FADS1 FADS2 Gene Cluster, PUFA Intake and Blood Lipids in Children: Results from the GINIplus and LISApplus Studies. *PLoS ONE* 2012; 7: e37780.
- Tintle NL., Pottala JV., Lacey S., et al.** A genome-wide association study of saturated, mono- and polyunsaturated red blood cell fatty acids in the Framingham Heart offspring study. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2015; 94: 65-72.
- Truong H., DiBello JR., Ruiz-Narvaez E., et al.** Does genetic variation in the D6-desaturase promoter modify the association between α -linolenic acid and the prevalence of metabolic syndrome? *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 920-925.
- Vaittinen M., Walle P., Kuosmanen E., et al.** FADS2 genotype regulates delta-6 desaturase activity and inflammation in human adipose tissue. *J Lipid Res* 2016; 57: 56-65.
- Yang Q., Yin RX., Cao XL., et al.** Association of two polymorphisms in the FADS1/FADS2 gene cluster and the risk of coronary artery disease and ischemic stroke. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 7318-7331.
- Yuan S., Bäck M., Bruzelius M., et al.** Plasma Phospholipid Fatty Acids, FADS1 and Risk of 15 Cardiovascular Diseases: A Mendelian Randomisation Study. *Nutrients* 2019; 11: 3001.